

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILME EMULSIONADO PRODUZIDO A PARTIR DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA E GORDURA DE COCO

D. CARPINÉ¹, S. M. B. SLOBODZIAN², J. L. A. DAGOSTIN¹, L. C. BERTAN³, M. R. MAFRA¹

¹ Universidade Federal do Paraná, Departamento de Engenharia Química

² Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química

³ Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul

E-mail para contato: daniellecarpine@gmail.com

RESUMO – Pesquisas envolvendo biofilmes comestíveis surgiram nos últimos tempos com o objetivo de suprir questões ambientais, como a minimização da poluição ocasionada pelas embalagens sintéticas utilizadas em alimentos. Biofilmes são revestimentos produzidos a partir da substituição completa ou parcial dos derivados de petróleo por matérias-primas renováveis e biodegradáveis, como proteínas, lipídeos, polissacarídeos ou uma combinação destes. Pesquisas com proteínas, como da soja, demonstraram que essas matrizes possuem características adequadas para formar a estrutura destes revestimentos. Entretanto, devido às características inerentes das proteínas, os biofilmes produzidos somente a partir de proteínas, exibem baixa barreira à umidade. A adição de componentes hidrofóbicos, como óleos ou gorduras, pode melhorar a barreira ao vapor d'água desses biofilmes. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da adição de gordura de coco e lecitina de soja em biofilmes de proteína de soja nas suas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor d'água. Os biofilmes foram elaborados pelo método “*casting*”. A adição de gordura de coco reduziu a permeabilidade ao vapor d'água dos biofilmes emulsionados quando comparados ao filme sem adição dos componentes hidrofóbicos. A elongação exibiu uma tendência linear crescente com a adição de gordura de coco, mas resultou em efeito oposto na resistência dos biofilmes.

1. INTRODUÇÃO

Embalagens produzidas a partir de biopolímeros, como proteínas, polissacarídeos e lipídios tornaram-se alvo de pesquisas nos últimos anos (Haq *et al.*, 2014; Chinma *et al.*, 2012; Cho *et al.*, 2007; Bertan *et al.*, 2005) e se mostram como alternativas sustentáveis de substituição parcial ou completa dos derivados do petróleo (Kokoszka *et al.*, 2010). A proteína de soja tem sido utilizada como matriz devido a sua capacidade de formar biofilmes flexíveis, transparentes e com boa barreira ao oxigênio (Denavi *et al.*, 2009; Cho *et al.*, 2007). Entretanto esses biofilmes apresentam limitações de aplicação devido à elevada afinidade da proteína pela umidade do ambiente (Guerrero *et al.*, 2011). A adição de lipídios pode melhorar a propriedade de permeabilidade ao vapor d'água dos biofilmes produzidos a partir de proteínas (Wang *et al.*, 2014; Zahedi *et al.*, 2010).

A proteína de soja é o principal componente do grão de soja (~ 40%) (Nishinari *et al.*, 2014), sendo um polímero abundante, renovável e biodegradável. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2014), o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, com uma produção estimada em 81,5 milhões de toneladas na safra de 2013/2014. A proteína isolada de soja é obtida por precipitação ácida (pH 4,5-4,8) após a extração do óleo de soja em baixas temperaturas (Nishinari *et al.*, 2014).

Decorrente da produção expressiva da proteína de soja no Brasil e da habilidade relatada por pesquisadores em formar biofilmes, a proteína de soja foi escolhida como matriz principal neste trabalho. A gordura de coco foi incorporada à estrutura do filme a fim de verificar se há uma melhora na barreira ao vapor d'água e nas propriedades mecânicas dos biofilmes de proteína de soja. A lecitina de soja foi escolhida como agente emulsificante, visto que é um subproduto da produção de óleo de soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As matérias-primas utilizadas na elaboração dos biofilmes foram: Proteína isolada de soja adquirida comercialmente (PIS) (>90% proteína), óleo de coco extra virgem (GC) (Cupra Indústria Alimentícia, Maceió), lecitina de soja (LS) (Imcopa, Araucária), glicerol (Panreac), álcool Etílico (96%, Panreac) e água osmolisada.

2.2 Métodos

Elaboração dos biofilmes produzidos com Proteína Isolada de Soja, Lecitina de Soja e Gordura de coco: Três formulações foram produzidas para avaliar o efeito da adição da gordura de coco no biofilme de soja, conforme listado na Tabela 1.

Tabela 1 – Formulações utilizadas nos biofilmes

Amostra	PIS (g/100 g de solução)	Glicerol (g/100 g de PIS)	Lecitina (g/100 g de glicerol)	Gordura de coco (g/100 g de PIS)
Controle	6,5	25	0	0
Ponto A	6,5	25	20	4
Ponto B	6,5	25	20	7

PIS: Proteína isolada de soja

Os biofilmes foram elaborados pelo método “*casting*”. A solução formadora do biofilme foi obtida pela dissolução da PIS em água osmolisada. O pH da solução foi ajustado em $9,00 \pm 0,05$ utilizando NaOH (5N) e mantida em agitação por 60 minutos. Paralelamente a LS foi dissolvida em etanol com agitação magnética por 90 minutos. Posteriormente, o glicerol foi adicionado à proteína, juntamente com a GC e a solução de etanólica de LS. A solução foi mantida em aquecimento até a temperatura de 70 ± 3 °C em banho Dubnoff com agitação mecânica de 100 RPM (Ethik Technology). Após o aquecimento, a solução formadora foi homogeneizada (Polytron, PT 3100D) a 13500 RPM por 1 min, seguido de 20500 RPM por 2 min. Volumes pré-determinados de solução foram vertidos em placas de acrílico (14 cm x 14 cm) e secos a

temperatura ambiente (25 °C) por 24 horas. Os biofilmes foram acondicionados em dessecador contendo a solução saturada de $Mg(NO_3)_2$ por pelo menos 48 horas antes das análises.

Os biofilmes foram caracterizados quanto sua espessura, cor e opacidade, barreira ao vapor d'água e propriedades mecânicas (resistência a tração e porcentagem de alongação).

Espessura: A espessura do biofilme foi determinada por meio um micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Mitutoyo, Japão). A espessura foi obtida a partir da média aritmética de cinco medidas localizadas nas extremidades e no centro dos filmes.

Cor e Opacidade: A cor dos biofilmes foi determinada por meio da escala CIELab, o qual L^* indica a variação do preto (0) para o branco (100), a^* indica a cromatocidade do verde (-) para o vermelho (+) e b^* a cromatocidade do azul (-) para o amarelo (+) (Hunterlab, 2014). As análises foram realizadas em colorímetro portátil (Hunterlab, modelo Miniscan XE Plus), sobre fundo padrão branco e parâmetro iluminante D65 (Sivaroban *et al.*, 2008). A opacidade (%) foi determinada a partir da divisão da opacidade do filme sobreposto em fundo preto (O_{PN}) pela opacidade do filme sobreposto em fundo branco (O_B), multiplicada por 100 (Fakhoury *et al.*, 2012; Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2009; Bertan *et al.*, 2005).

Permeabilidade ao vapor d'água: A permeabilidade ao vapor d'água (PVA) foi determinada gravimetricamente de acordo com o método modificado E96/96M-13 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM, 2013). Os biofilmes foram fixados em células de permeação de alumínio, com 6 cm de diâmetro interno contendo cloreto de cálcio ($20,00 \pm 0,10g$) no seu interior. O conjunto completo foi pesado e acondicionado em dessecadores contendo solução salina saturada de NaCl a 25 °C (75% UR). A PVA foi calculada de acordo com a Equação 1. Os testes foram realizados em triplicata.

$$PVA = \frac{e}{A(\Delta P)} M \quad (1)$$

onde, PVA é a permeabilidade ao vapor d'água ($g \text{ mm/m}^2 \text{ dia kPa}$), e é a espessura média do biofilme (mm), A é a área de permeação (m^2), Δp é a diferença de pressão parcial do vapor de água através do filme (kPa) e M é a taxa de umidade absorvida (g/tempo).

Propriedades Mecânicas: A resistência à tração (RT) e a porcentagem de alongação na ruptura (ELO) foram determinadas em texturômetro Brookfield CT3, de acordo com o “Método de teste padrão para propriedades de tração em plásticos” designado por D882-12 (ASTM, 2012). Para o teste, os biofilmes foram recortados em tiras de 25 mm de largura e 60 mm de altura. A distância inicial de separação foi ajustada em 20 mm e a velocidade da probe em 1 mm/s. As análises foram conduzidas a 25 °C. Foram realizadas 12 repetições para cada tipo de formulação. A RT (MPa) foi determinada pela divisão da força máxima no momento de ruptura do biofilme (N) pela área da seção transversal do mesmo (m^2). A ELO foi dada pela equação 2.

$$ELO (\%) = 100 \times \frac{(d_{ruptura} - d_{inicial})}{d_{inicial}} \quad (2)$$

onde, $d_{ruptura}$ é a distância percorrida pela probe no momento de ruptura e $d_{inicial}$ é a distância inicial de separação (20 mm).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise Visual: Todos os biofilmes emulsionados elaborados apresentaram-se maleáveis e homogêneos. O filme controle (sem adição de lecitina e gordura) apresentou presença de partículas insolúveis, o que não foi verificado nos biofilmes emulsionados. A diferença na superfície dos biofilmes pode ter ocorrido por dois fatores: a baixa solubilidade de uma parcela das proteínas e a ausência de homogeneização no filme controle. O processo comercial de obtenção da proteína isolada de soja pode ter levado a agregação e desnaturação de algumas frações das proteínas (Wagner *et al.*, 2000), diminuindo assim a solubilidade do nitrogênio da mesma. Em meio alcalino aquoso, a adição de hidróxido de sódio aumentou a solubilidade da proteína, quando comparado ao pH 7,0. Desta forma, em pH 9,0, a proteína se apresentou mais solúvel, entretanto partículas insolúveis ainda estiveram presentes nos filmes, como verificado também por Cho e colaboradores (2007).

Espessura: O controle da espessura dos biofilmes é requerido para a validação das comparações de propriedades entre variados tipos de filmes. O volume de solução necessário para manter a espessura nos biofilmes após o etapa de secagem foi baseada no teor de sólidos de cada formulação. A espessura dos biofilmes foi de $72,0 \pm 2,4 \mu\text{m}$, $69,0 \pm 2,6 \mu\text{m}$ e $69,0 \pm 2,5 \mu\text{m}$, para o controle, Ponto A e Ponto B, respectivamente.

Cor e Opacidade: A característica mais significativa dos biofilmes produzidos com relação à cor foi à predominância da coloração amarelada (valor positivo para $*b$), tonalidade típica de biofilmes produzidos a partir de proteínas de soja. Comportamento semelhante foi verificado por Denavi *et al.*, (2009) e Cho *et al.*, (2007).

A opacidade dos biofilmes em função da concentração de gordura das formulações é apresentada na Figura 1. O filme controle, sem a adição de gordura foi menos opaco que as demais formulações. Essa opacidade observada no filme controle pode ter sido atribuída à dispersão não homogênea de partículas insolúveis no filme. A adição de componentes hidrofóbicos resultou em um pequeno aumento (de 53% para 59%, para o controle e Ponto B, respectivamente) da opacidade dos filmes, provavelmente devido ao estado sólido da gordura em temperatura ambiente. A gordura de coco apresenta características acentuadas de fusão, a $21 \text{ }^\circ\text{C}$ é dura e quebradiça, comportamento esse típico de óleos ou gorduras onde o ácido láurico é predominante (45,9 a 50,3% de um total de 90% de ácidos graxos saturados) (O'Brien, 2004). O aumento da opacidade devido a adição de componentes hidrofóbicos foi verificado também por Wang *et al.*, (2014) ao adicionarem ácido oleico e esteárico em biofilmes de proteína isolada de soja e por Bertan e colaboradores (2005) na de adição de triacetina e blenda de substâncias hidrofóbicas em biofilmes de gelatina. A opacidade é desejada em alimentos com alto teor de gordura e em alimentos com pigmentos fotossensíveis, visto que essa embalagem reduz parte da luz que aceleram as reações de rancidez e degradação.

Permeabilidade ao vapor d'água: O resultado da permeabilidade ao vapor d'água (PVA) para as três formulações está representado na Figura 2. Pode-se observar que os pontos emulsionados com lecitina e gordura apresentaram uma melhor barreira ao vapor d'água quando comparado ao controle (redução de aproximadamente 12%). Entretanto, a variação de gordura de

4 para 7 (g de gordura de coco/100 g de PIS) nos biofilmes emulsionados (20 g de lecitina/100 g de glicerol) não apresentou diferença significativa entre os mesmos. Zahedi *et al.*, (2010) verificou que a adição de ácidos graxos (palmítico e esteárico) reduziu a PVA dos biofilmes de pistache em aproximadamente 37-43%. Entretanto, os mesmos autores observam que dentre os biofilmes emulsionados com concentrações crescentes desses ácidos (2 a 6%) a redução não foi significativa. Era esperado que a adição crescente de ácidos graxos gerasse uma redução na PVA, contudo esse comportamento não foi observado. Tal comportamento pode ser explicado por dois possíveis motivos: a proporção de lecitina:gordura aplicada no ponto máximo (Ponto B) não foi suficiente para dispersar de forma homogênea o componente hidrofóbico ou a adição de gordura acima de um ponto crítico gerou a desestabilização parcial da matriz proteica.

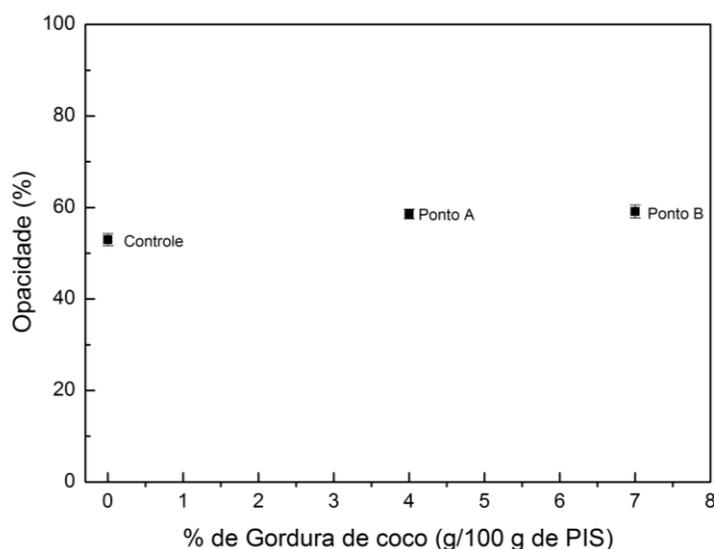


Figura 1 – Opacidade do biofilme controle e dos biofilmes emulsionados.

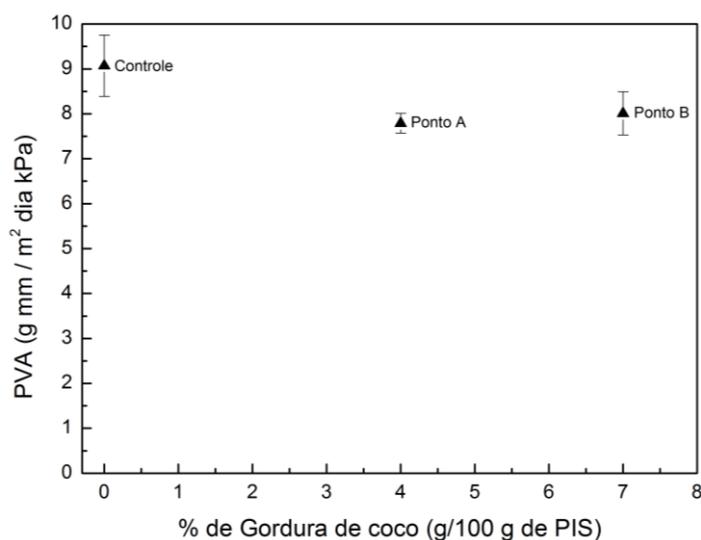


Figura 2 – Permeabilidade ao vapor d'água (PVA) do biofilme controle e dos biofilmes emulsionados.

Propriedades mecânicas: As propriedades mecânicas dos biofilmes, resistência à tração (RT) e a porcentagem de alongação na ruptura (ELO), dependem principalmente da composição da matriz, como pode ser observado na Figura 3. A adição de gordura de coco e lecitina nos biofilmes de proteína de soja provocou um efeito expressivo na alongação dos biofilmes emulsionados, onde os biofilmes com 4 e 7(g de gordura de coco/100 g de PIS) alongaram aproximadamente 58% e 103% a mais que o controle. Observa-se uma tendência linear de aumento de alongação com a adição de gordura de coco nos filmes. Já a resistência à tração apresentou comportamento oposto, ou seja, a adição crescente de gordura de coco enfraqueceu a força dos filmes, como observado também por Valenzuela *et al.*, (2013). De acordo com Zahedi e colaboradores (2010), a incorporação dos ácidos graxos provavelmente leva a redução das forças intermoleculares e consequentemente, a redução de RT, como verificado no seu trabalho.

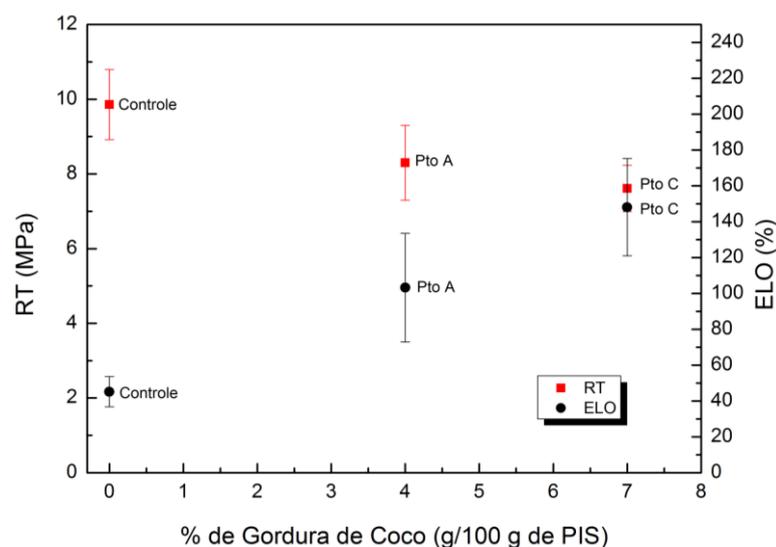


Figura 3 – Propriedades mecânicas, resistência à tração (RT) e alongação (ELO) do biofilme controle e dos biofilmes emulsionados.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi avaliada a influência da adição de gordura de coco nas propriedades de barreira ao vapor d'água e mecânica de biofilmes produzidos a partir de proteína isolada de soja. Os biofilmes emulsionados com gordura de coco e lecitina de soja apresentaram-se maleáveis e visualmente homogêneos em todas as concentrações de gordura de coco adicionadas. Os biofilmes obtidos apresentaram coloração amarelada, independente da concentração dos componentes hidrofóbicos e com elevada opacidade. A adição de gordura de coco e lecitina reduziram a permeabilidade ao vapor d'água (aproximadamente 12%) quando comparado aos biofilmes isentos destes componentes, mas não apresentou diferença entre os biofilmes emulsionados. Os biofilmes emulsionados foram mais flexíveis que o controle, apresentando uma tendência linear crescente com a adição de gordura de coco, entretanto a adição destes componentes reduziu a força dos filmes. De acordo com os resultados obtidos, a adição de gordura de coco melhorou as características dos biofilmes de proteína de soja, tornando-os adequados para serem utilizados em alimentos em combinação ou substituição parcial das embalagens convencionais.

5. REFERÊNCIAS

- ASTM. D882-12: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, 2012.
- ASTM. E96/E96M-13: Standard test methods for water vapor transmission of materials, 2013.
- BERTAN, L.C.; TANADA-PALMU, P.S.; SIANI, A.C.; GROSSO, C.R.F. Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. *Food Hydrocolloid*, v. 19, p. 73-82, 2005.
- CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; SOUZA, M. P. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale L.*, *J. Food Eng.*, v. 95, p. 379-385, 2009.
- CHINMA, C. E.; ARIAHU, C. C.; ABU, J. O. Development and characterization of cassava starch and soy protein concentrate based edible films. *Int. J. Food Sci. Tech.*, v. 47, p. 383-389, 2012.
- CHO, S. Y.; PARK, J-W.; BATT, H.; THOMAS, R. L. Edible films made from membrane processed soy protein concentrates. *Food Sci. Technol-Leb.*, v. 40, p. 418-423, 2007.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. 1º Levantamento Grãos Safra 2013/2014 - Out/2013. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em: 02/04/2014.
- DENAVI, G.; TAPIA-BLÁCIDO, D.R.; AÑÓN, M. C.; SOBRAL, P. J. A.; MAURI, A.N.; MENEGALLI, F. C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. *J. Food Eng.*, v. 90, p. 341-349, 2009.
- FAKHOURY, F. M.; MARTELLI, S. M.; BERTAN, L. C.; YAMASHITA, F.; MEI, I. L. H.; QUEIROZ, F. P. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin – Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. *Food Sci. Technol-Leb.*, v. 49, p. 149-154, 2012.
- GUERRERO, P.; STEFANI, P.M.; RUSECKAITE, R. A.; de la CABA, K. Functional properties of films based on soy protein isolate and gelatin processes by compression molding. *J. Food Eng.*, v. 105, p. 65-72, 2011.
- HAQ, M. A.; HASNAIN, A.; AZAM, M. Characterization of edible gum cordia film: Effect of plasticizers. *Food Sci. Technol-Leb.*, v. 55, p. 163-169, 2014.
- HUNTERLAB. Hunter L, a e B vs CIE L*, a*, b* (AN 1005.00). Disponível em: <http://www.hunterlab.com>. Acesso em: 09/04/2014.
- KOKOSZKA, S.; DEBEAUFORT, F.; HAMBLETON, A.; LENART, A. VOILLEY, A. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. *Innov. Food Sci. Emerg.*, v. 11, p. 503-510, 2010.

- NISHINARI, K.; FANG, Y.; PHILIPS, G. O. Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloid*, v. 39, p. 301-318, 2014.
- O'BRIEN, R. D. *Fats and oils: Formulating and processing for applications*. New York: CRC Press, 2004.
- SIVAROOBAN, T.; HETTIARACHCHY, N. S.; JOHNSON, M. G. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Res. Int.*, v. 41, p.781-78, 2008.
- VALENZUELA, C.; ABUGOCH, L.; TAPIA, C. Quinoa protein-chitosan-sunflower oil edible film: Mechanical, barrier and structural properties. *Food Sci. and Tech.*, v. 50, p. 531-537, 2013.
- WAGNER, J. R.; SORGENTINI, D. A.; ANON, M. C. Relation between solubility and surface hydrophobicity as an indicator of modifications during preparation processes of commercial and laboratory-prepared soy protein isolates. *J. Agric. Food. Chem.*, v. 48, p. 3159-3165, 2000.
- WANG, Z.; ZHOU, J.; WANG, X-X.; ZHANG, N.; SUN, X-X, MA, Z-S. The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the water vapor barrier properties of soybean protein isolate-based oleic acid/stearic acid blend edible films. *Food Hydrocolloid*, v. 35, p. 51-58, 2014.
- ZAHEDI, Y.; GHANBARZADEH, B.; SEDAGHAT, N. Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. *Food Eng.*, v. 100, p. 102-108, 2010.