

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E DA PERMEABILIDADE AO VAPOR D'ÁGUA DE BIOFILMES À BASE DE GELATINA USANDO GLICEROL COMO PLASTIFICANTE

P. B. RIBEIRO^{1*}, R. C. ALVES¹, L. P. RICARDO¹, M. M. MORAIS¹ e G. S. ROSA¹

¹ Universidade Federal do Pampa, Curso de Engenharia Química

*e-mail: pri.baruffi@gmail.com

RESUMO

A maior parte dos alimentos está sujeita a deterioração oxidativa e microbiológica, além do desgaste mecânico. A função das embalagens alimentares é, portanto, proporcionar barreiras físicas, químicas e microbiológicas, aumentando seu tempo de prateleira. A maioria das embalagens comumente utilizadas são sintéticas, derivadas de origem petroquímica e apresentam alta estabilidade estrutural. Do ponto de vista ambiental tornam-se um problema, devido à poluição gerada por seu descarte. Dessa forma, os biofilmes surgem como alternativa às embalagens tradicionais, podendo ser compostos por biopolímeros como, por exemplo, proteínas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar as propriedades físico-químicas de biofilmes de gelatina e glicerol a partir de análises de espessura, permeabilidade ao vapor d'água (PVA) e de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) por meio da técnica de Refletância Total Atenuada (ATR). Os resultados de análise de espessura demonstraram que a metodologia de elaboração dos filmes foi adequada e os de PVA, que os biofilmes de gelatina apresentam baixa permeabilidade ao vapor d'água. Os resultados de FTIR evidenciaram que não ocorrem interações químicas entre o biopolímero e o plastificante na formação dos biofilmes.

1 INTRODUÇÃO

O tempo de prateleira é uma importante característica de todos os alimentos e engloba o período desde sua produção e embalagem até o momento em que se tornam inaceitáveis para consumo (FORSYTHE, 2002).

Embalagens alimentares têm como principal função proteger os alimentos da deterioração, principalmente microbiológica e oxidativa, aumentando seu tempo de prateleira. As embalagens plásticas de origem petroquímica são as mais utilizadas para esse fim. Isto deve-se ao fato de estarem disponíveis em larga escala e a baixo custo,

além de aliarem propriedades como resistência mecânica e barreira a gases e aromas (THARANATHAN, 2003).

Por causa da grande estabilidade estrutural, resistência química, física, à deterioração microbiológica e ainda as dificuldades relacionadas à reciclagem de materiais sintéticos, o grande volume de lixo produzido após o descarte destas embalagens pode tornar-se um grande problema ambiental. Assim tem sido despertado o interesse em pesquisas que apliquem materiais biodegradáveis que desempenhem a função de embalagens (MALI, GROSSMANN, YAMASHITA, 2010;

SCHLEMMER, 2011). Surgem como alternativa, então, os biofilmes.

Biofilmes são materiais biodegradáveis produzidos basicamente a partir de biopolímeros capazes de formar uma matriz contínua. Sua aplicação em embalagens está diretamente relacionada com suas características e as possíveis interações com o produto e o ambiente (CARVALHO, 1997).

A aplicação deste tipo de embalagens para alimentos é, contudo, restrita, por causa de suas propriedades mecânicas e de barreira inferiores (SORRENTINO, GORRASI, VITTORIA, 2007), sendo o grande desafio em sua implementação a escolha da matriz polimérica utilizada, de acordo com as propriedades que se deseja conferir ao alimento.

Os principais componentes de nossa alimentação atual, como proteínas, carboidratos e lipídeos, preenchem os requisitos para preparação de biofilmes e podem ser utilizados individualmente ou combinados para formar filmes que não alterem o sabor do alimento (PAVLATH, ORTS, 2009).

No caso das proteínas, ambas, de origem animal ou vegetal, podem ser utilizadas na formação de filmes e coberturas, a partir de soluções contendo três principais componentes, nomeadamente: proteína, plastificante e solvente (DANGARAN, TOMASULA, QI, 2009).

O colágeno é uma proteína fibrosa encontrada em todo o reino animal. Contém cadeias peptídicas dos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina. Essas cadeias são organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura presente (SILVA, PENNA, 2012).

A gelatina é o produto da desnaturação do colágeno de origem animal, como bovina, suína ou de peixes, e tem sido mundialmente utilizada para produção de alimentos,

materiais médicos e meios de cultura de microorganismos (YOSHIMURA et al., 2000). Contém aminoácidos unidos por ligações peptídicas e consiste, predominantemente, dos seguintes: glicina (33 %), prolina e hidroxiprolina (20 %), além de alanina (11%) (ROGERS, 2001).

Há que se levar em conta que filmes elaborados a partir de proteínas apresentam boas propriedades mecânicas, ópticas e sensoriais, embora sejam sensíveis à umidade e apresentem elevada permeabilidade a vapor de água (FAKHOURI et al., 2007). Apesar disto, a gelatina apresenta-se como uma interessante alternativa para a produção de filmes para aplicações alimentares.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar biofilmes à base de gelatina e avaliar sua espessura média, bem como permeabilidade ao vapor de água, associando-as às características químicas de sua estrutura molecular, através de espectros FTIR-ATR.

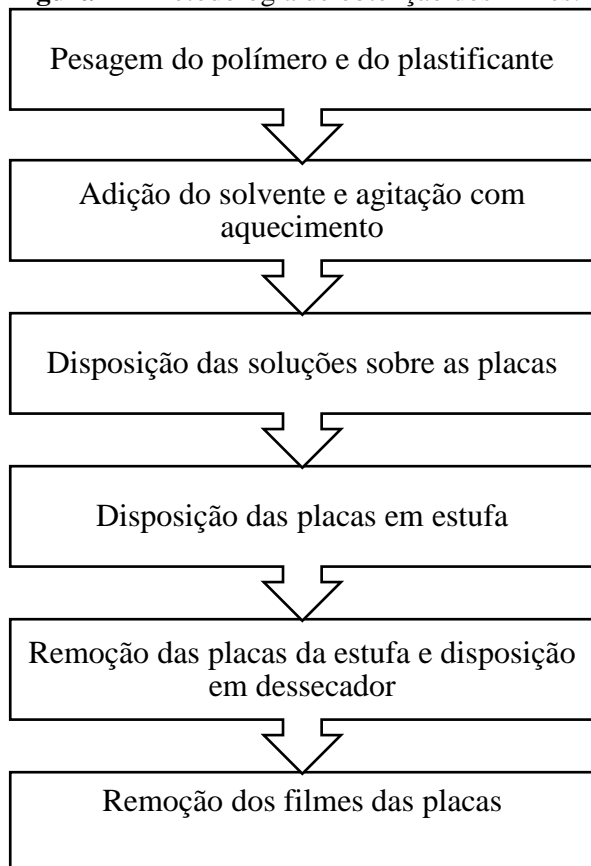
2 MATERIAIS E MÉTODOS

Na preparação das soluções filmogênicas foram utilizados: gelatina comercial como matriz polimérica, glicerol como plastificante e água como solvente. Esta escolha deveu-se ao fato de que Ricardo (2014), em análises preliminares de biofilmes produzidos com diferentes biopolímeros, obteve resultados que apontaram aqueles à base de gelatina e glicerol como os com melhores propriedades para fins de aplicação em alimentos.

As soluções foram preparadas adicionando-se gelatina na proporção de 1 g de sólido seco, 0,3 g de plastificante e 100 mL de solvente.

Os filmes foram obtidos pela metodologia de *casting* em triplicatas. A Figura 1 apresenta a metodologia empregada na obtenção dos filmes.

Figura 1 – Metodologia de obtenção dos filmes.



Fonte: Autor (2015).

Após a pesagem do polímero e do plastificante, adicionou-se o solvente e submeteu-se, então, a mistura a agitação em agitador magnético com aquecimento, à temperatura de 70 °C e 1100 rpm até que ocorresse a gelatinização do polímero e formação das soluções filmogênicas.

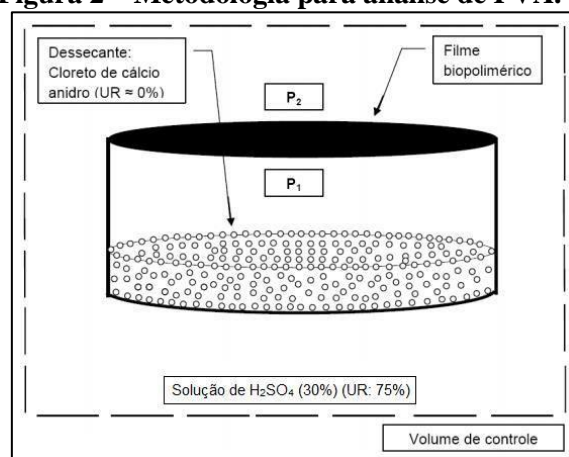
Em seguida, as soluções foram vertidas em placas de acrílico de 15 cm de diâmetro e levadas à estufa, a 40 °C, por 24 h, para evaporação do solvente. Após este período, as placas foram removidas e dispostas em dessecador por 24 h. A seguir, retiraram-se os filmes das placas, submetendo-os às análises propostas.

Para caracterizar a espessura média de cada filme foram realizadas 10 medidas em

pontos distintos e aleatórios utilizando um paquímetro digital.

A análise de permeabilidade ao vapor de água foi conduzida segundo o método utilizado por Moura (2012), método padrão E0096-00 (ASTM, 2000). As amostras foram cortadas em forma de discos de diâmetro 50 mm, fixadas em células de permeação de alumínio contendo cloreto de cálcio anidro (CaCl_2) granulado, e por fim, acondicionadas em dessecador a 25 °C e 75 % de umidade relativa. A partir do ganho de massa do CaCl_2 granulado, mensurado em intervalos de 24 h durante 7 dias, foi possível determinar o vapor de água transferido através do filme. A Figura 2 mostra, esquematicamente, o método empregado para esta análise.

Figura 2 – Metodologia para análise de PVA.



Fonte: Souza (2009).

A Equação 1 foi utilizada para quantificar a permeabilidade ao vapor de água dos filmes.

$$PVA = \frac{m_{ab}}{t} \frac{L}{A \Delta P} \quad (1)$$

Em que PVA é a permeabilidade ao vapor de água ($\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{kPa}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$), m_{ab} a massa de umidade absorvida (g), t o tempo total do teste (dias), L a espessura do filme (mm), A a área da superfície exposta do filme (m^2) e ΔP a diferença de pressão parcial através do filme (Pa).

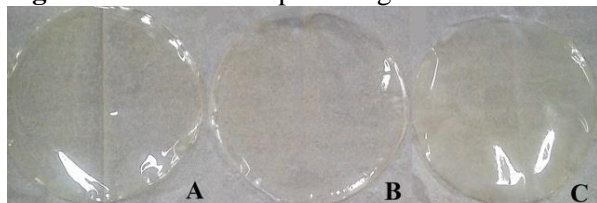
A fim de saber informações sobre as estruturas químicas da amostra e se ocorrem mudanças moleculares causadas pela adição de plastificante, através das vibrações e estiramentos das moléculas constituintes do biofilme, foi realizada análise de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) dos filmes de gelatina e do biopolímero utilizado em sua composição.

Para tanto, utilizou-se espectrômetro Perkin-Elmer através da técnica de Refletância Total Atenuada (ATR) no intervalo de 500 a 4000 cm^{-1} , com 16 varreduras por espectro e resolução de 4 cm^{-1} . As amostras de cada filme foram cortadas em pequenos quadrados enquanto que as de gelatina pura foram maceradas e, então, inseridas no porta amostras do aparelho FTIR-ATR, para obtenção dos espectros a serem analisados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3 apresenta os biofilmes obtidos após a remoção das placas de acrílico.

Figura 3 – Biofilmes após secagem do solvente.



Fonte: Autor (2015).

Davanço (2007) relata que filmes e coberturas proporcionam aos alimentos naturais um aspecto mais atrativo e aumentam sua vida útil. Assim, da Figura 3, observa-se que os filmes obtidos, transparentes e brilhantes, possuem potencial de valorizar a aparência do produto recoberto.

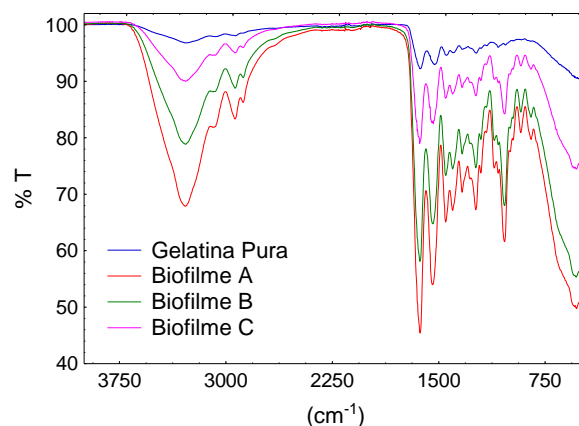
O resultado para a análise de espessura foi de $0,04 \pm 0,01$ mm. Este valor mostra que a metodologia de elaboração dos filmes foi

adequada, pois obteve-se valores de espessura semelhantes aos de autores que também analisaram filmes biodegradáveis, como Oliveira e Cavalcanti (2007) que encontraram $0,09 \pm 0,01$ mm e Fakhouri et al. (2007), $0,063 \pm 0,002$ mm.

O resultado para a análise da permeabilidade ao vapor d'água (PVA) foi de $2,41 \pm 0,37$ $\text{g.mm.kPa}^{-1}.\text{dia}^{-1}.\text{m}^{-2}$. Santos (2012) encontrou valores semelhantes: $2,21 \pm 0,3$ $\text{g.mm.kPa}^{-1}.\text{dia}^{-1}.\text{m}^{-2}$ para biofilmes de gelatina preparados com água destilada e sem adição de plastificante. Moura et al. (2012), produziram biofilmes de quitosana e glicerol, na proporção 75:25 e encontraram uma permeabilidade de $7,84 \pm 0,08$ $\text{g.mm.kPa}^{-1}.\text{dia}^{-1}.\text{m}^{-2}$, maior que a permeabilidade encontrada neste trabalho.

A Figura 4 apresenta os espectros das bandas características da gelatina pura e dos biofilmes estudados.

Figura 4 – Espectro FTIR-ATR dos biofilmes.



Fonte: Autor (2015).

O espectro infravermelho de uma proteína é decorrente das absorções do grupo peptídico (bandas de amida I, II, III), sendo que a amida I é responsável pela maior quantidade de informações sobre as estruturas secundárias das proteínas.

A partir da Figura 4 observa-se que ambas as amostras apresentam picos na banda de aproximadamente 3300 cm^{-1} ; a banda

intensa, larga e centrada é devida principalmente ao estiramento do grupo N-H característico de uma amida (OSIRO, FRANCO, CONALGO, 2000). Também nesta faixa encontram-se bandas características de hidroxila presentes na molécula de glicerol (MATTOS, 2014).

Segundo Reis et al. (2011), o glicerol é uma molécula pequena, de baixa volatilidade, que causa o aumento de flexibilidade, extensibilidade e distensibilidade, seguidas por diminuição na resistência mecânica e temperatura de transição vítrea do biopolímero, quando utilizado como plastificante.

Os picos entre, aproximadamente, 1633 cm^{-1} e 1525 cm^{-1} são característicos das amidas I e II, respectivamente. Para a amida I, tem-se estiramento da carbonila ($\text{C}=\text{O}$) e para a amida II vibrações no plano da ligação N-H e estiramento C-N, característicos da glicina (PEDROSO, 2009). Segundo D'Avila (2010), como tanto o grupo carbonila quanto o grupo amino, estão envolvidos em ligações de hidrogênio responsáveis pela manutenção de estruturas secundárias, as posições de ambas as regiões da amida I e amida II são sensíveis às alterações estruturais das moléculas proteicas.

Segundo Lacerda, Pleipis e Goissis (1998) e Bet, Goissis e Lacerda (2001), a banda em 1236 cm^{-1} , tem as vibrações no plano da amida III devido ao estiramento C-N e a deformação N-H, que é sensível às alterações na estrutura secundária da hélice tríplice, enquanto a banda 1446 cm^{-1} corresponde às vibrações dos anéis pirrolidínicos de prolina e hidroxiprolina, que ao contrário do pico da amida III, tem sua intensidade independente das variações estruturais da matriz do colágeno. A hidroxiprolina é um dos aminoácidos responsáveis pela manutenção da estabilidade da hélice tríplice. Uma menor quantidade desta faz com que o colágeno perca a conformação de hélice tríplice quando

submetida à elevação da temperatura, o que prejudica a propriedade de gelificação (GÓMEZ-GUILLEN et al., 2002).

Os espectros demonstraram que não houve interação química entre a gelatina e o plastificante. Isto pode ser visto uma vez que a ocorrência dos picos nos espectros da gelatina pura e dos biofilmes se mantiveram, apenas alterando sua intensidade. Andreuccetti (2010) analisou formulações de biofilmes de gelatina com diferentes plastificantes e conclui que as análises de FTIR não mostraram evidências de interações adicionais entre o plastificante e o polímero. Ou seja, o plastificante interagiu fisicamente com a matriz polimérica concedendo-lhe flexibilidade, possibilitando o aumento da vibração e estiramento molecular e implicando em picos mais intensos.

Tendo em vista que os picos característicos da glicina (1525 cm^{-1}) foram observados nos três filmes, bem como na gelatina pura, e que ela está associada à resistência e elasticidade da estrutura proteica, constatou-se que não houve mudanças na estrutura da gelatina após a formação dos biofilmes.

Conforme Prestes et al. (2013) a hidroxiprolina está ligada à propriedade de gelificação da gelatina. O fato de seu pico característico (1446 cm^{-1}) aparecer após a formação dos biofilmes, justifica a utilização da gelatina na produção dos mesmos.

4 CONCLUSÃO

Os filmes obtidos apresentaram aspecto visual atrativo para recobrimento de alimentos. A espessura média dos biofilmes foi de $0,04 \pm 0,01\text{ mm}$, demonstrando que a metodologia de preparo foi adequada.

As análises de PVA resultaram em uma permeabilidade de $2,41 \pm 0,37\text{ g.mm.kPa-1.dia-1.m-2}$, comprovando que a gelatina é uma boa opção quando se deseja

obter filmes com baixa permeabilidade a vapor d'água.

Os resultados obtidos para as análises de espectros demonstraram que não houve interação química entre as moléculas do polímero e do plastificante. Constatou-se, todavia, que eles interagiram fisicamente resultando em uma maior mobilidade da cadeia polimérica sem que ocorressem alterações na estrutura química da mesma.

Por tudo isso, a gelatina é um biopolímero adequado a ser utilizado na formação de biofilmes, principalmente quando se deseja revestimentos flexíveis e que forneçam propriedades de barreira a vapor d'água.

REFERÊNCIAS

- ANDREUCETTI, C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis a base de gelatina, plastificantes hidrofóbicos e surfactantes naturais**. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). 2010. 241 p. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2010.
- ASTM. Standard methods of water vapor transmission of materials. Método: E00996-00. In: **ASTM manual book of ASTM standards**, p. 907-914. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.
- ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. Filmes comestíveis de quitosana: ação biofúngica sob frutas fatiadas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.6, n. 30, p. 33-38, 2003.
- BET, M. R.; GOISSIS, G.; LACERDA, C. A. Characterization of Polyanionic collagen prepared by selective hydrolysis of asparagine and glutamine carboxamide side chains. **Biomacromolecules**, v.2, p. 1074-1079, 2001.
- CARVALHO, R. A. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes à base de gelatina**. 1997. 143 p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.
- DANGARAN, K.; TOMASULA, P. M.; QI, P. Structure and Function of Protein-Based Edible Films and Coatings. In: **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York: Springer Science and Business Media, 2009.
- DAVANÇO, T. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes à base de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou ácido capróico e surfactantes**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). 2006. 155 p. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- D'AVILA, V. D. L. **Biofilmes à base de gelatina, aplicados na conservação de frutos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade)**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). 2010. 117 p. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 369-375, abr./jun. 2007.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Artmed: Porto Alegre, 2002. Tradução: Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt.

GOMES-GUILLÉN, M. C.; TURNAY, J.; FERNANDEZ-DIAS, M. D.; ULMO, N.; LIZARBE, M. A.; MONTERO, P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.25-34, 2002.

LACERDA, C.; PLEIPIS, A. M. G.; GOISSIS, G. Hidrólise seletiva de carboxiamidas de resíduos de asparagina e glutamina em colágeno: preparação e caracterização de matrizes aniônicas para uso como biomateriais. **Química Nova**, v.21, n.3, p. 267-271, 1998.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, jan./mar. 2010.

MATTOS, A. P. **Caracterização termoquímica do glicerol bruto e aproveitamento energético da queima do glicerol em uma planta de médio porte de produção de biodiesel**. 2014. 184 p. Tese (Mestrado em Engenharia Mecânica), Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2014.

MOURA, C. M. **Estudo do processo de produção de quitosana e seu uso na obtenção de filmes biopoliméricos**. 2012. 153 p. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2012.

MOURA, C. M.; MOURA, J. M.; SANTOS, J. P.; KOSINSKI, R. C.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Evaluation of Mechanical Properties and Water Vapor Permeability in Chitosan Biofilms Using Sorbitol and

Glycerol. **Macromolecular Symposia**, v. 319, p. 240-245, 2012.

OLIVEIRA, F. M.; CAVALCANTI, O. A. Pré-Bióticos na Formação de Filmes Isolados de Eudragit® RS 30 D. Avaliação das Propriedades de Intumescimento e Permeabilidade. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 325-331, 2007.

OSIRO, D.; FRANCO, R.W. A.; COLNAGO, L. A.; Spectroscopic Characterization of the Exopolysaccharide of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Cu²⁺ Resistance Mechanism. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 22, n.7, 2011.

PAVLATH, A. E.; ORTS, W. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In: EMBUSCADO, M. E.; HUBER, K. C. **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York: Springer Science and Business Media, 2009.

PEDROSO, M. G. V. **Estudo Comparativo de Colágeno hidrolisado e comercial com adição de PVA**. 2009. 71p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

PRESTES, R. C.; GOLUNSKI, S. M.; TONIAZZO, G.; KEMPKA, A. P.; LUCCIO, M. CARACTERIZACAO DA FIBRA DE COLAGENO, GELATINA E COLAGENO HIDROLISADO. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.4, p.375-382, 2013.

REIS, L. C. B.; BARCELLOS, A. D.; MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. FILME BIODEGRADÁVEL INCORPORADO COM GLICEROL E ADITIVOS NATURAIS. **Cadernos de Prospecção - ISSN 1983-1358**, vol. 4, n. 4, p.23-32, 2011.

RICARDO, L. P. **Elaboração e análise de filmes biopoliméricos à base de gelatina e amido para produtos naturais.** 2014. 42p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química). Universidade Federal do Pampa, Bagé, 2014.

ROGERS, M. D. H. **Rheological properties of gelatin/starch composite gels.** 2001. 90 p. Tesis (Master of Science). University of Guelph, Canada, 2001.

SANTOS, J. P.; HOFFMANN, H. P.; BANDEIRA, S. F.; MOURA, C. M.; PINTO, A. A. Avaliação das propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água em filmes biopoliméricos de gelatina incorporando quitosana. In: Química dos Alimentos, 2012, Recife. **Anais do 52º Congresso Brasileiro de Química**, Recife, 14-18 out. 2012.

SCHLEMMER, D. **Estudo das propriedades de nanocompósitos amido montmorilonita, utilizando óleos vegetais como plastificantes.** 2011. 160 p. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Brasília, Brasília, 2011.

SILVA, T.F.; PENNA, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.71, n. 3, p. 530-539, 2012.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging and applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, p. 84-95, 2007.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, presente and future. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, p. 71-78, 2003.

YOSHIMURA, K. ; TERASHIMA, M. ; HOZAN, D. ; EBATO, T. ; NOMURA,

Y. ;ISHII, Y. ;SHIRAI, K. Physical Properties of Shark Gelatin Compared with Pig Gelatin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2023-2027, 2000.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Unipampa – Universidade Federal do Pampa, pelo espaço cedido para realização deste trabalho. Ao CNPq e à FAPERGS pela concessão das bolsas de Iniciação Científica. Ao Dr. Flávio André Pavan, pelo auxílio nas análises de FTIR-ATR.