

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE GELATINA REFORÇADOS COM NANOCRISTAIS DE CELULOSE COM POTENCIAL APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS

Luan dos S. B. de Souza¹; Indira S. C. Esteves¹; Isabel C. Rigoli¹.

¹ Departamento de Físico-Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Palavras-Chave: filmes biodegradáveis, whiskers de celulose, nanocompósito.

Introdução

Atualmente, as principais matérias-primas para embalagens de alimentos ainda são predominantemente dominadas por plásticos à base de petróleo, como polipropileno, polietileno e poliestireno, devido à sua leveza, boa resistência mecânica, propriedades de barreira apreciáveis e baixo custo. No entanto, o uso massivo de materiais não biodegradáveis à base de petróleo contribuiu para um tipo de poluição atribuída ao consumo excessivo e descarte inapropriado de produtos plásticos, *poluição branca*, e emissões excessivas de carbono, o que vem ameaçando o ambiente ecológico e a saúde humana. Portanto, o desenvolvimento de materiais oriundas de fontes biodegradáveis e ecologicamente corretos é altamente encorajado e crescente. (LI *et al.*, 2023).

Embalagens biodegradáveis são materiais que podem ser degradados pela ação enzimática de organismos vivos, como bactérias, leveduras e fungos. O uso de biopolímeros é uma abordagem de desenvolvimento sustentável que auxilia na preservação ambiental e tem atraído considerável atenção nas últimas décadas. Isso se deve às suas diversas vantagens, incluindo sua não toxicidade, a biodegradabilidade, a ampla disponibilidade e a biocompatibilidade, especialmente quando comparados com suas contrapartes sintéticas. (OYEOKA *et al.*, 2021)

Nas últimas décadas, vários biopolímeros naturais, como proteínas, polissacarídeos e lipídios foram amplamente aplicados para preparar embalagens biodegradáveis especialmente para alimentos. Filmes à base de proteínas são os mais atraentes por sua excelente barreira de gás e propriedades mecânicas em comparação com aqueles preparados por lipídios ou polissacarídeos (LI *et al.*, 2023).

Dentre os biopolímeros proteicos, a gelatina é uma proteína natural produzida por meio da hidrólise parcial do colágeno de animais, como o couro, a pele de porco e tecidos ósseos. Geralmente, 46% das gelatinas vêm da pele suína, 29,4% e 23,1% de couro e ossos bovinos, respectivamente e cerca de 1,5% de peixes. A gelatina é reconhecida como segura pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA) e tem um longo histórico de uso em várias áreas de aplicação. Devido ao baixo custo, abundância, biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades funcionais, a gelatina é um dos biomateriais mais utilizados nas indústrias alimentícias, cosméticas, farmacêuticas e médicas. As aplicações alimentares da gelatina envolvem principalmente seu uso como emulsificantes, como estabilizantes, como materiais para embalagens bioativos, como agentes espumantes e como agentes de encapsulamento (TAN *et al.*, 2023).

No entanto, os filmes de gelatina ainda possuem algumas propriedades que restringem sua aplicação no setor alimentício. De acordo com vários estudos, algumas dessas limitações incluem alta solubilidade em água, estabilidade térmica, baixas qualidades mecânicas e de barreira e muito sensível à umidade devido à sua natureza hidrofílica. Portanto, o desenvolvimento de estudos para a modificação desta proteína de base biológica criou uma nova conscientização no setor da indústria de embalagens de alimentos (ONYEAKA *et al.*, 2023).

Uma das estratégias de aumento de resistência mecânica mais usuais inclui o reforço da matriz da gelatina (biopolímero) a partir de nano-preenchedores funcionais. Os nanocristais de celulose (CNCs) são materiais à base do polissacarídeo celulose que são utilizados em diversas aplicações, incluindo embalagens e preservação de alimentos. Como um nanomaterial, os CNCs exibem uma série de propriedades, como alta cristalinidade, elevada área superficial, biodegradabilidade e elevada razão de aspecto (relação comprimento/diâmetro) (MURALIDHARAN *et al.*, 2023).

Assim sendo, o presente trabalho consiste na preparação e caracterização de filmes biodegradáveis utilizando como matriz polimérica o biopolímero gelatina, reforçados com nanocristais de celulose extraídos a partir da fibra de algodão comercial (NCCA), avaliando o potencial de aplicação como embalagens para alimentos.

Material e Métodos

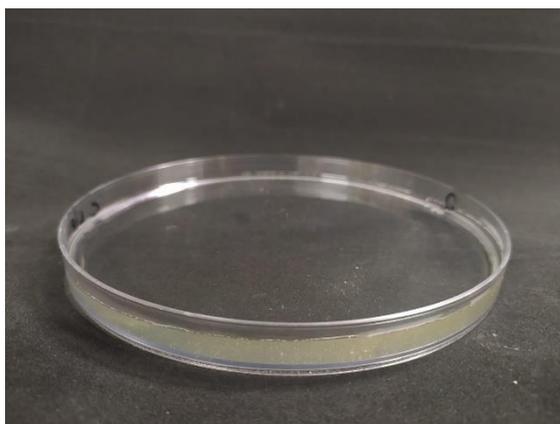
Extração dos Nanocristais de Celulose a Partir do Algodão (NCCA)

Aproximadamente 3,0 g de algodão comercial foi submetido à hidrólise ácida em 200 mL de solução de ácido Sulfúrico 56%(m/v) por 90 minutos sob agitação constante, entre 68 e 70°C. A suspensão obtida foi diluída em água destilada e centrifugada 16 vezes a 3600 rotações por minuto (rpm), até a presença dos nanocristais de celulose ser observada.

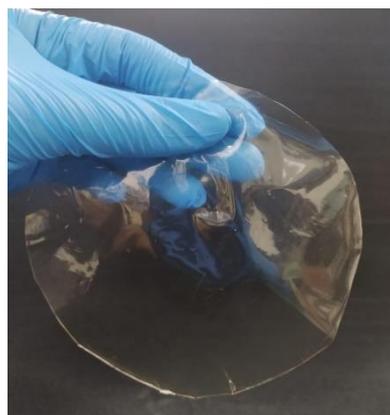
Preparação dos Filmes de Gelatina

No preparo dos filmes de gelatina, utilizou-se 10,0 g de gelatina comercial, dissolvidos em 100 mL de água destilada a aproximadamente 40°C por 15 minutos, sob agitação constante. Em seguida, adicionou-se 2,5 g de sorbitol (plastificante) à solução, solubilizando-os por 5 minutos. Dessa forma, preparou-se 5 formulações filmogênicas, uma na ausência e 4 na presença de 5, 10, 15, 20% de NCCA. Cada formulação foi separada em 4 placas de Petri, colocadas em estufa a uma temperatura de 40°C por 24 horas, conforme a técnica de *Casting*. Na Figura 01, ilustra-se a disposição da solução nas placas bem como do filme destacado.

FIGURA 01. Solução filmogênica em placa de Petri (a), filme preparado (b).



(a)



(b)

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Para análise dos NCCA e dos filmes empregou-se um espectrofotômetro FT-IR MB100 Bomem. As análises foram realizadas entre 4000 e 400 cm^{-1} números de onda. A obtenção dos espectros deu-se por meio de Reflectância Total Atenuada (ATR).

Difratometria de Raio X (DRX)

Os difratogramas de raios X foram obtidos em um difratômetro de Raios X (XRD) BRUKER AXS, modelo D2 PHASER do Laboratório de Tecnologia Mineral - Raios X do Instituto de Geociências da Universidade Federal da Bahia (UFBA), utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ com comprimento de onda $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$. Os ensaios foram realizados em um intervalo angular de varredura em 2θ de 5° - 80° . As medições foram realizadas à temperatura ambiente em modo contínuo de varredura, com passo angular de $0,014^\circ$ e tempo de contagem de 0,350 segundos. Um porta amostra de PMMA do tipo spinner foi empregado para minimizar o efeito de direção preferencial. A tensão e corrente utilizadas nos ensaios foram 30 kV e 10 mA, respectivamente. O ângulo de abertura da janela do feixe incidente (Div slit fixed) foi de 0,6mm para todos os casos.

Teste de Permeabilidade ao Vapor de Água (TPVA)

Para o teste de permeabilidade foram montados 45 sistemas, chamados “células” e ilustrados na Figura 02, compostos por recipientes de vidro, com tampas vazadas, nos quais foram depositados aproximadamente 15 gramas de sílica gel desidratada. Todas as células foram expostas à atmosfera úmida em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio por 48 horas. Após esse período, as células foram pesadas em balança analítica a cada 30 minutos por um período de 7 horas ininterruptas. Este teste foi repetido três vezes para que, por meio de tratamento estatístico, fosse determinada a reprodutibilidade do mesmo.

FIGURA 02. Célula de permeabilidade com sílica gel (a e b).



(a)



(b)

Resultados e Discussão

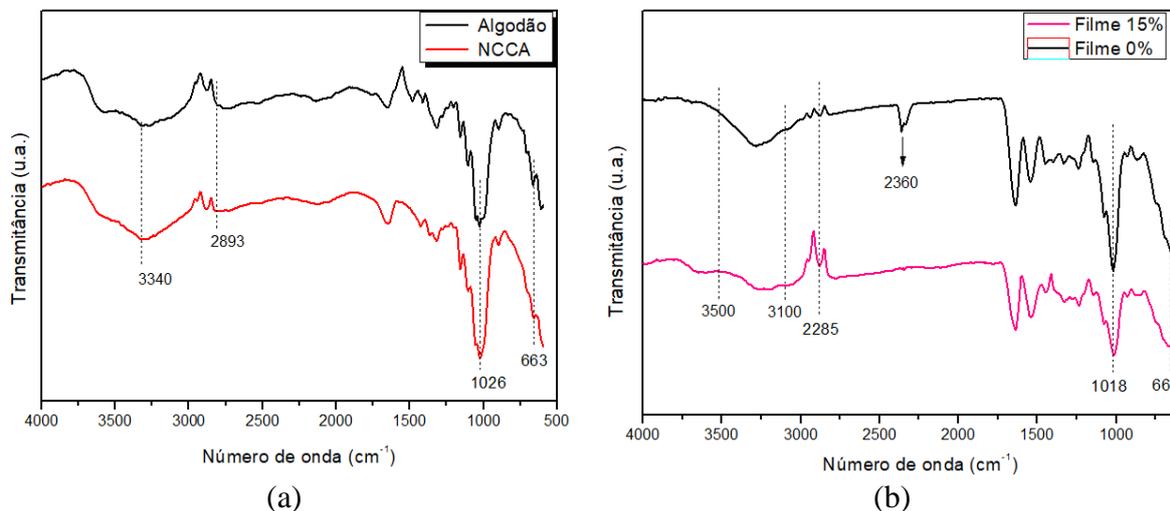
Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Analisando o espectro de infravermelho da fibra de algodão e dos nanocristais de celulose (NCCs) extraídos da mesma, observa-se algumas bandas características da celulose tais como a associada a 3340 cm^{-1} que corresponde ao grupo OH de ácido carboxílico presente na celulose; a de 2893 cm^{-1} , associada ao grupo CH_2 alquil ou alifático da celulose. Há ainda a banda de 1026 cm^{-1} associada ao grupo C-O-C do anel piranose ou do composto aril-álquil-éter. Além das bandas associadas a celulose, tem-se também a banda de 663 cm^{-1} que está associada aos grupos sulfato, SO_4^{2-} , enxertados na superfície dos nanocristais por meio da hidrólise ácida. Verifica-se que o espectro dos NCCA é mais intenso em comparação com o da fibra de algodão comercial, indicando que as condições de hidrólise ácida foram adequadas na remoção da fase amorfa, uma vez que os grupos característicos da celulose estão mais expostos à radiação no infravermelho.

Para os espectros dos filmes na ausência e com 15% de NCCA, observa-se uma banda em 2893 cm^{-1} relacionada ao estiramento do grupo C-H, associado ao grupo CH_2 alquil ou alifático da celulose; e a banda em 1036 cm^{-1} , associada ao alongamento simétrico relacionado aos grupos O-H do plastificante sorbitol. Além dessas, observou-se ainda uma banda associada a 2360 cm^{-1} relacionada à presença de CO_2 na atmosfera no momento da análise. O intervalo entre as bandas $3500 - 3100\text{ cm}^{-1}$ denota vibrações de estiramento de O-H e N-H associadas a amida I (ONYEAKA et al., 2023). Observa-se ainda uma diminuição de intensidade entre os espectros no intervalo entre as bandas $3500 - 3100\text{ cm}^{-1}$, que segundo Onyeaka e et al., está relacionada à formação de ligações de hidrogênio entre a estrutura dos NCCs e o biopolímero gelatina. Isto implica que as moléculas de gelatina podem interagir facilmente com a celulose através de ligações de hidrogênio. Além disso, existe a possibilidade de fortalecimento de ligações de hidrogênio já existentes formadas entre O - H e N - H em nível intermolecular ou intramolecular da gelatina. Ainda é relatado que a quantidade de NCCs incorporados no filme influencia a formação dessas ligações, de modo que o número das mesmas aumenta com o

aumento de NCCs incorporados ao filme. Essa informação corrobora com os resultados obtidos a partir do teste de permeabilidade ao vapor de água, pois a PVA está intrinsecamente relacionada à cristalinidade dos filmes.

FIGURA 03. Espectros de infravermelho da fibra de algodão e seus NCCs (a) e dos filmes na ausência e presença de 15% de NCCA.



Difratometria de Raio X (DRX)

Nos difratogramas da fibra de algodão e os NCCA, ilustrados na Figura 04.(a), constatou-se que a estrutura da celulose tipo 1 foi preservada, evidenciada pelos picos em $2\theta = 14,6, 16,7$ e $22,5^\circ$. A formação de celulose tipo 2, também foi evidenciada pelo pico em $2\theta = 29,4^\circ$. A análise dos difratogramas permitiu que os cálculos de índice de cristalinidade (IC) do algodão e seus NCCs bem como dos filmes, dispostos na Tabela 01, fossem realizados. Por meio da análise do IC constatou-se que as condições da hidrólise ácida foram adequadas para a extração dos NCCA, uma vez que o IC dos mesmos aumentou em comparação com o do algodão, corroborando com a informação obtida a partir dos espectros de infravermelho do algodão e seus NCCs. Além disso, a cristalinidade dos filmes na presença de 10 e 15% de NCCA aumentou em comparação com o filme na ausência.

FIGURA 04. Difratogramas do algodão e seus NCCs (a), da gelatina e dos filmes na ausência e presença de 10 e 15% de NCCA.

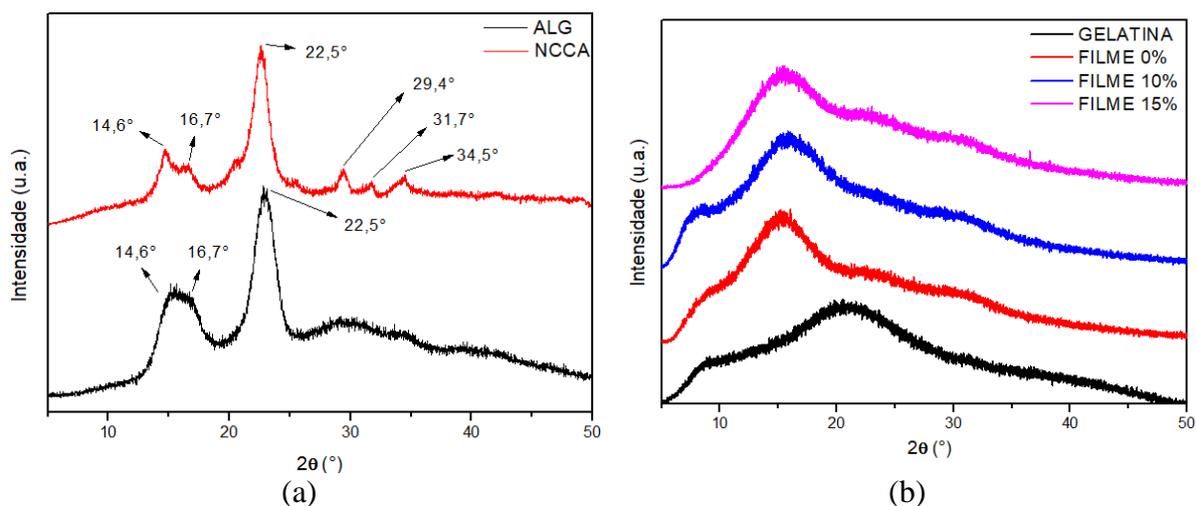


Tabela 01. Índice de cristalinidade (I.C.) do algodão, seus NCCs e dos filmes na ausência e presença de 10 e 15% de NCCA.

Amostras	I.C.(%)
Algodão	80,3
NCCA	86,0
Filme 0%	42,0
Filme 10%	56,0
Filme 15%	60,0

Teste de Permeabilidade ao Vapor de Água (TPVA)

A finalidade do teste de permeabilidade ao vapor de água é entender como a concentração de nanocristais interfere em tal fenômeno. A seguir, na Tabela 02, são apresentados os resultados dos tratamentos dos dados obtidos a partir do teste de permeabilidade.

Tabela 02 - PVA

Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância ($p > 0,05$), pelo teste de Tukey.

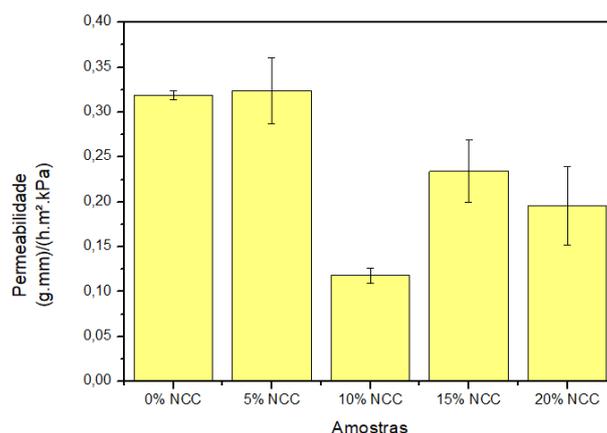
Conc. de NCCA (% g/g de gelatina)	Conc. de NCCA (% mL/ mL de solução)	PVA (g.mm/ h.m ² kPa)	Espessura
0	0	0,318899 ± 0,004846 ^a	0,127 ± 0,0317
0,05	5	0,324025 ± 0,036597 ^a	0,119 ± 0,0423
0,10	10	0,118141 ± 0,008454 ^c	0,131 ± 0,0399
0,15	15	0,234162 ± 0,034563 ^b	0,127 ± 0,0328

0,20	20	$0,195780 \pm 0,043657^{bc}$	$0,123 \pm 0,0402$
------	----	------------------------------	--------------------

Na Figura 05, é possível observar o comportamento dos filmes, na ausência e na presença de NCCA, em relação à permeabilidade ao vapor de água (PVA). Para os nanocompósitos preparados com 10, 15 e 20% de NCCA em relação ao volume de solução filmogênica houve diminuição da permeabilidade ao vapor de água em comparação com o biofilme na ausência de NCCA, de modo que o nanocompósito com 10% de NCCA apresentou o menor valor de PVA.

Foi também para aqueles que houve diferença significativa, de acordo com teste de Tukey, dos valores de PVA em comparação com o biofilme na ausência de NCCA. Não houve diferença significativa entre os valores de PVA do nanocompósito com 20% de NCCA comparado com os nanocompósitos com 10 e 15% de NCCA.

FIGURA 05. Gráfico de PVA dos filmes de gelatina na ausência (0%) e presença (5%, 10%, 15% e 20%) de nanocristais.



O teste de permeabilidade ao vapor de água é uma medida muito importante para a análise de filmes, principalmente para aqueles que se destinam ao uso como embalagens de alimentos. A PVA é uma propriedade de barreira que está intrinsecamente associada à estrutura da matriz polimérica utilizada na formulação do filme (gelatina) e de sua interação com o plastificante (sorbitol) e com o reforço utilizado (nanocristais de celulose). A influência do sorbitol sobre a matriz polimérica está associada a um aumento da PVA, devido ao distanciamento entre as cadeias poliméricas provocada pelo mesmo. No entanto, o plastificante promove uma maior flexibilidade e elasticidade aos filmes, características importantes para os mesmos.

Na literatura, encontra-se que os NCC de celulose interferem na PVA de filmes de modo a reduzi-la (FARIAS *et al.*, 2012; PILLAI *et al.*, 2009; BARROS e BRANCIFORTI, 2018). Esta diminuição está relacionada com três fatores. O primeiro deles é a quantidade de domínios cristalinos da estrutura do filme. É conhecido que a água possui dificuldade em penetrar domínios cristalinos da celulose. O segundo, é a inserção dos NCC entre os espaços vazios das cadeias poliméricas da gelatina. Isso promove a diminuição desses espaços dificultando a

permeação do filme pelas moléculas de água. Essa informação está de acordo com a fornecida pelos espectros de FTIR dos filmes, relacionada com a mudança estrutural das cadeias da gelatina. Esses dois fatores corroboram no entendimento do porquê a PVA de todos os filmes na presença de NCC diminuiu em comparação com o filme na ausência. O terceiro fator é a quantidade adequada de NCC incorporados na formulação dos filmes. Apesar do aumento da quantidade de NCCs inseridos em uma dada formulação filmogênica estar relacionado com a diminuição da PVA, os NCC tendem a se agregar. Esta tendência dificulta a escolha da concentração mais adequada de NCC a serem incorporados nos filmes, o que contribui para explicar o porquê da PVA dos filmes com 15 e 20% de NCC aumentou.

Conclusões

Os resultados evidenciam que filmes de gelatina reforçados com nanocristais de celulose têm potencial para serem utilizados como embalagens para alimentos. Os filmes de gelatina foram preparados e apresentaram elasticidade, maleabilidade e transparência apreciáveis. As análises de DRX mostraram que a estrutura da celulose tipo 1 foi mantida após o processo de hidrólise ácida e que o índice de cristalinidade dos NCCA aumentou em comparação com o do algodão comercial, indicando que a hidrólise ácida foi efetiva na remoção da fase amorfa da fibra do algodão. Os espectros de infravermelho indicaram a preservação dos grupos funcionais da celulose, o que também contribui para entendimento de que a hidrólise ácida foi efetiva. Ficou evidente que os NCCA atuaram na diminuição da PVA dos filmes de gelatina. Tal diminuição originou-se a partir da mudança estrutural das cadeias poliméricas da gelatina com a inserção dos NCCA à solução filmogênica, evidenciada pelas análises dos espectros de infravermelho. Apesar de ser uma das propriedades de filme mais importantes, a PVA não é a única que deve ser avaliada. Mas o fato de os filmes apresentarem redução da PVA indica uma possível aplicação para embalagens de alimentos que retardem a taxa de desidratação dos alimentos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à UFBA pela bolsa de iniciação científica, ao Laboratório de Preparação e Análise de Amostras (LAPAG) pelas medidas de difração de Raio X (DRX) e à Central Analítica da Escola Politécnica da UFBA pelas medidas de FTIR.

Referências

- BARROS, Raimundo Mesquita; BRANCIFORTI, Marcia Cristina. Correlação entre orientação molecular, cristalinidade e permeabilidade de filmes biaxialmente orientados de polietileno linear de baixa densidade. *Matéria* (rio de Janeiro), v. 23, n. 1, p. e-11954, 2018.
- FARIAS, Mônica Guimarães et al. O efeito da permeabilidade ao vapor de água, atividade de água, molhabilidade e solubilidade em água em filmes de amido e polpa de acerola.
- LI, Yongshi et al. Fabrication and characterization of waste fish scale-derived gelatin/sodium alginate/carvacrol loaded ZIF-8 nanoparticles composite films with sustained antibacterial activity for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 230, p. 123192, 2023.
- MURALIDHARAN, Vimudha et al. Influence of preparation techniques of cellulose II nanocrystals as reinforcement for tannery solid waste-based gelatin composite films. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 30, n. 6, p. 14284-14303, 2023.
- ONYEAKA, Perpetual Ogechi et al. Effect of different types of nanocellulose on the structure and properties of gelatin films. *Food Hydrocolloids*, v. 144, p. 108972, 2023.



OYEOKA, Henry C. et al. Packaging and degradability properties of polyvinyl alcohol/gelatin nanocomposite films filled water hyacinth cellulose nanocrystals. **Journal of Bioresources and Bioproducts**, v. 6, n. 2, p. 168-185, 2021.

PILLAI, Chennakkattu KS; PAUL, Willi; SHARMA, Chandra P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in polymer science**, v. 34, n. 7, p. 641-678, 2009.

TAN, Yang et al. Gelatin as a bioactive nanodelivery system for functional food applications. **Food Chemistry**, v. 423, p. 136265, 2023.