

CARACTERIZAÇÃO DE FILME A BASE DE AMIDO, BIOSSURFACTANTE E CELULOSE BACTERIANA

Bianca Alves Teixeira¹, Cristiano Luis Peron¹, Rosilene Aparecida Prestes¹, Luis Antonio Pinheiro², Denise Milleo Almeida^{1*}

¹Departamento Acadêmico de Alimentos - UTFPR – PR (milleo@utfpr.edu.br)*

²Departamento de Engenharia de Materiais, UEPG-PR

Resumo– O objetivo deste trabalho foi caracterizar filme a base de amido, celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol. Foi utilizado como matriz a fécula de batata (3 g) e pelo método de Mistura Ternária as concentrações de celulose bacteriana (40, 50, 60, 70%), biossurfactante (4,45, 9,80, 14,25, 19,95%), glicerol (25,55, 30,20, 35,75, 40,05%), produzidos pela técnica de *casting*. Filmes com maiores concentrações de celulose bacteriana tiveram baixa solubilidade e alto índice de intumescimento e taxa de permeabilidade ao vapor de água. O aumento no teor de biossurfactante e glicerol produziram filmes com maior solubilidade em água. No entanto, há indicativo que o biossurfactante tenha contribuído em diminuir a capacidade de absorção de água pela celulose bacteriana. De modo geral, os filmes formaram uma matriz coesa mas com reduzida capacidade de manutenção da integridade a água.

Palavras-chave: Filme, Biossurfactante, Celulose Bacteriana, Glicerol, Amido.

Introdução

A busca por polímeros biodegradáveis para compor as embalagens vem como alternativa para minimizar o acúmulo de resíduos sólidos provocada pelos materiais sintéticos. O interesse nestes materiais biodegradáveis na área de alimentos está na conscientização dos consumidores ao dano ambiental causada pelas embalagens não biodegradáveis [5].

A utilização de matérias-primas como polissacarídeos obtidos a partir de fontes agrícolas e microbianas surge como uma oportunidade de materiais na área de filmes biodegradáveis e tem chamado a atenção do seguimento de embalagens na criação de novos mercados para o setor [1, 6, 15].

O amido combina abundância, preço, comportamento termoplástico, além de biodegradabilidade, no entanto, os filmes oriundos destes possuem baixa resistência mecânica e alta hidrofobicidade [7]. Os polissacarídeos de origem microbiana apresentam como novas perspectivas para auxiliar as propriedades de barreira e mecânica dos filmes. A celulose bacteriana, produzida por *Acetobacter xylinum*, tem como propriedades e características a permeabilidade para líquidos e gases, alta pureza química, cristalinidade, alta força de tensão, elasticidade, durabilidade, biodegradabilidade, sendo também atóxica e não alérgica [12].

A principal dificuldade da produção de filmes de amido e polímeros sintéticos está na baixa compatibilidade entre eles, pois o amido se apresenta altamente hidrofílico e os sintéticos são na maioria hidrofóbicos, resultando em misturas com baixas propriedades mecânicas [10]. A incorporação de algum aditivo, como plastificantes ou compatibilizantes, se torna essencial para junção entre os componentes da mistura dos filmes [14].

Os biossurfactantes atuam como dispersantes e/ou solubilizantes de compostos orgânicos, apresentando baixa solubilidade em água, promovendo redução superficial e interfacial, conferindo capacidade de detergência, emulsificação, lubrificação, solubilização e dispersão de fases em soluções [4].

Os plastificantes devem ser compatíveis com o biopolímero e, os mais estudados em combinação com os filmes de amido são os polióis, como o glicerol e o sorbitol, materiais que interagem com as cadeias de amido, aumentando a mobilidade molecular e, conseqüentemente, a flexibilidade dos seus filmes. Outro efeito é o aumento da hidrofobicidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes plastificados, já que a maioria dos plastificantes empregados em filmes de amido tem caráter hidrofílico [11].

Uma alternativa para melhorar as propriedades físicas dos filmes está na preparação de blendas poliméricas, mediante o uso combinado de polímeros. A mistura frequentemente exibe propriedades superiores quando comparadas às propriedades de cada componente polimérico individualmente [9]. Considerando estes aspectos o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar biofilme a base de amido, biossurfactante e celulose bacteriana.

Parte Experimental

Materiais

Os principais materiais utilizados neste trabalho foram celulose bacteriana produzida por *Acetobacter xylinum* ATCC 23769, biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* (UPEDA 761), glicerol (Merck) e fécula de batata (Yoki).

12º Congresso Brasileiro de Polímeros (12ºCBPol)

Processo de produção, purificação e obtenção de fibras celulose bacteriana

A produção de celulose bacteriana foi desenvolvida em meio de cultivo Alaban (100 g.L⁻¹ de sacarose; 5 g.L⁻¹ de fosfato ácido de potássio; 2,5 g.L⁻¹ de extrato de levedura; 0,6 g.L⁻¹ de sulfato de amônia; 0,2 g.L⁻¹ de sulfato de magnésio heptahidratado) previamente esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos e inoculado de 5% (v/v) do microrganismo, em ambiente asséptico, sendo incubado em estufa bacteriológica (QUIMIS) a 30°C ± 2°C, por 120 horas, com cultivo estático. Decorrido esse tempo a celulose bacteriana foi retirada do caldo de fermentação e aquecida até a fervura por 10 minutos, para destruição do microrganismo.

No processo de purificação as películas foram submetidas a sucessivas lavagens com água deionizada, com posterior tratamento com NaOH 0,1N a 90°C por 30 minutos, e novamente lavagens com água deionizada.

Para obtenção de fibras de celulose houve a submersão da celulose bacteriana em solução de ácido oxálico a 15% e autoclavada a 121°C a 15 libras de pressão por 20 minutos, processo repetido até formação de fibras isoladas. As fibras de celulose foram submetidas a várias lavagens para a retirada do ácido oxálico e conduzidas à secagem em estufa com circulação de ar (QUIMIS – modelo Q317B) 50°C ± 2°C por uma hora.

Produção e purificação de Biosurfactante

Para produção de biosurfactante foram adicionados 2 % (v/v) do inóculo, *Pseudomona aeruginosa* (UPEDA 761), em 100 mL de meio de cultivo Luria Bertani (LB) (triptona 10 g.L⁻¹, NaCl 10 g.L⁻¹, extrato de levedura 5 g.L⁻¹), e incubados sob agitação a 150 rpm (Incubadora TE -420, São Paulo, Brasil) a temperatura de 37°C ± 2°C por 96 horas.

Para a purificação do biosurfactante o caldo foi acidificado em pH 2 com solução de ácido clorídrico 6N (HCl 6N), resfriado a 4°C por 24 horas. Decorrido este tempo, o caldo acidificado foi centrifugado a 3900 rpm por 45 minutos, realizada lavagem com água destilada e submetido a uma nova centrifugação.

Produção dos filmes poliméricos

Foram produzidos soluções filmogênica com 3 g de fécula de batata em 100 mL de água destilada sob agitação de 50 rpm, durante 25 minutos a 60°C. Outros componentes como celulose bacteriana, biosurfactante e glicerol foram adicionados posteriormente, seguindo planejamento experimental por Modelo de Mistura Ternária (Tabela 1), com peso total de 2 gramas.

Tabela 1 – Planejamento experimental por modelo de mistura ternária utilizado na elaboração dos filmes

| Tratamentos | Componentes da Mistura (%) | | |
|-------------|----------------------------|---------------------|---------------|
| | Celulose Bacteriana (CB) | Biosurfactante (BS) | Glicerol (GL) |
| 1 | 70,00 | 4,45 | 25,55 |
| 2 | 60,00 | 9,80 | 30,20 |
| 3 | 50,00 | 14,25 | 35,75 |
| 4 | 40,00 | 19,95 | 40,05 |

Após resfriamento, os filmes foram produzidos pela técnica de *casting* [16], ou seja, colocadas em placas de vidro com área de 170 x 170 x 30 mm e secas em estufa com circulação de ar (QUIMIS – modelo Q317B) 30°C ± 2°C por 24 horas.

Os filmes foram mantidos em frascos hermético contendo solução ácido sulfúrico (Vetec) a 20°C, com 56% de umidade relativa (UR), em estufa de DBO (Thelga-Modelo T34P) até a realização das análises.

Caracterização dos filmes

Os filmes foram analisados quanto a homogeneidade da estrutura e caracterizados quanto a solubilidade, índice de intumescimento (Ii%), taxa de permeabilidade ao vapor de água e a permeabilidade ao vapor de água.

Na análise estrutural os corpos de prova foram metalizados com ouro usando IC-50 ION COATER (Shimadzu), por 10 minutos e as imagens obtidas por meio do Microscópio Eletrônico de Varredura (Shimadzu - modelo SSX 550 SUPER SCAN).

A solubilidade em água foi determinada segundo Gontard et al. [8], com corpos de prova de 2 cm² e os resultados expressos em porcentagem de massa solubilizada em relação à massa inicial. O índice de intumescimento dos filmes foi determinado segundo Cavalcanti et al. [3], em solução com pH 6,0 e expressos em porcentagem (%).

A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) foi determinada por gravimetria pelo método padrão da norma da *American Society for testing and materials – ASTM E96-00* [13]. Os corpos de prova apresentaram área de 0,002551 m² e aplicados em cápsulas de alumínio contendo 5g de CaCl₂ (anidro), seco em estufa a 150°C ± 1°C por 24h, e vedados com silicone. As cápsulas foram acondicionadas em frascos hermeticamente fechados contendo solução saturada de cloreto de sódio. Todo o conjunto foi colocado em estufa de DBO (Thelga – Modelo T34P) a 20°C ± 0,5°C, proporcionando uma umidade relativa de 75%. A permeabilidade do biofilme foi calculada por meio de regressão linear entre o ganho de peso (g) e o tempo (h) durante o experimento. O coeficiente angular da reta determinou a

quantidade de água ganho pelo tempo (tg a) e a TPVA foi expressa em $\text{g H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$. Com o resultado da TPVA foi calculado a permeabilidade ao vapor de água (PVA) e os resultados expressos em $\text{g H}_2\text{O} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$.

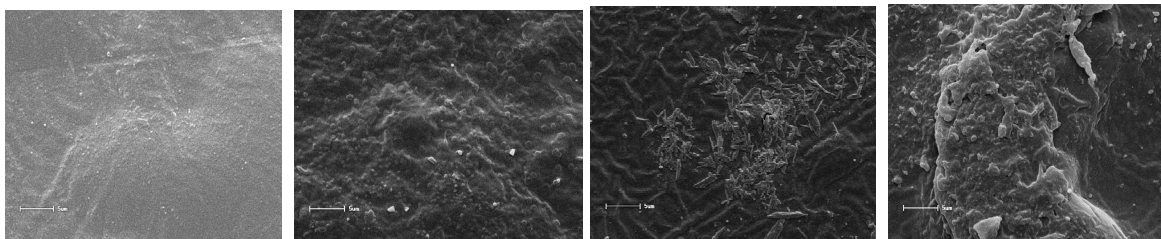
Análise dos dados

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança (α 0,05), utilizando o programa de CANTERI et al. [2].

Resultados e Discussão

Análise estrutural dos filmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura mostrou uma matriz coesa, porém, irregular com presença de partículas insolúveis, provavelmente causada pela presença da celulose bacteriana (Fig. 1).



T1 (70% CB; 4,45% BS; 25,55% GL) T2 (60% CB; 9,80% BS; 30,20% GL) T3 (50% CB; 14,25% BS; 35,75% GL) T4 (40% CB; 19,95% BS; 40,05% GL)

Figura 1 - Micrografias dos biofilmes obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), com aumento de 2400 x.

Solubilidade e índice de intumescimento dos filmes

Entre os tratamentos 1, 2, 3 e 4 foram observados as solubilidades de 96,28, 95,77, 99,56 e 98,20%, respectivamente, com variação 3,8%, obtendo diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) e confirmada pelo teste de Tukey. Maiores solubilidades foram observadas em filmes com concentrações altas de glicerol e baixas de celulose bacteriana. A capacidade hidrofílica do glicerol pode estar relacionada à quantidade de hidroxilas de sua molécula e, quando adicionada em matrizes poliméricas polares formam uma maior quantidade de pontes de hidrogênio com a água, resultando filmes mais solúveis. A celulose bacteriana consiste em um polímero insolúvel em água formado por ligações beta (1→4)-D-glicosídicas, com cadeia linear [12], o que dificulta sua solubilização. A alta solubilidade observada, em média de 97,45%, indica a aplicação destes filmes como embalagens comestíveis, onde a dissolução se mostra benéfica sensorialmente.

O índice de intumescimento está relacionado ao grau de hidratação dos filmes. Considerando este aspecto, foi verificada diferença significativa ($p \leq 0,05$) no grau de hidratação entre os tratamentos em todos os tempos (Fig. 2).

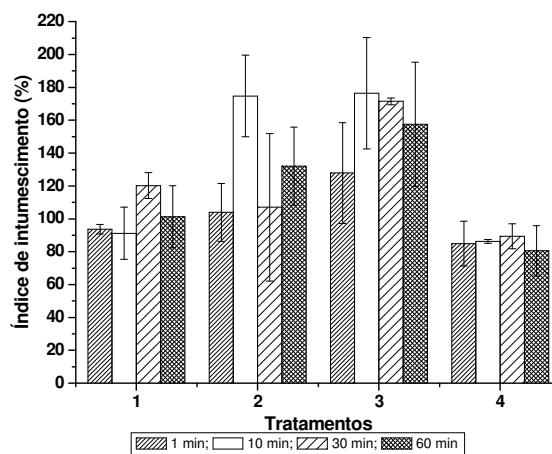


Figura2 - Índice de intumescimento em filmes de diferentes concentrações de celulose bacteriana, biossurfactante e glicerol em pH 7,0

12º Congresso Brasileiro de Polímeros (12ºCBPol)

Com a diminuição da celulose bacteriana, aumento do glicerol e biossurfactante houve elevação no índice de intumescimento em todos os tratamentos, com exceção do tratamento 4 (40% CB; 19,95% BS; 40,05% GL), quando mostrou menores índices de intumescimento 85,00%, 86,25%, 89,35% e 80,60%, em todos os tempos analisados, 1, 10, 30 e 60 minutos, respectivamente. Este aspecto pode estar relacionado ao aumento da concentração de biossurfactante e glicerol na matriz do filme e menor quantidade de celulose bacteriana.

Conclusão

Filmes com maiores concentrações de celulose bacteriana tiveram baixa solubilidade e alto índice de intumescimento e taxa de permeabilidade ao vapor de água. O aumento no teor de biossurfactante e glicerol produziram filmes com maior solubilidade em água. No entanto, há indicativo que o biossurfactante tenha contribuído em diminuir a capacidade de absorção de água pela celulose bacteriana. De modo geral, os filmes formaram uma matriz coesa, mas com reduzida capacidade de manutenção da integridade a água.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio da UTFPR Câmpus Ponta Grossa e da UEPG.

Referências

1. J. A. Batista; P. S. Tanada-Palmu; C. R. F. Grosso. *Cienc. e Tecnol. de Alim.* 2005, 25, 781- 788.
2. M. G. Canteri; R. A. Althaus; J. S. Virgens Filho; E. A. Giglioti; C. V. Godoy. *Rev Bras de Agrocomp.*, 2001, 1, 18-24.
3. O. A. Cavalcanti; G. Van Der Mooter; I. Caramico-Soares; R. Kinget. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2002, 28, 157-164.
4. A. J. Desai; I. M. Banat. *Curr Scienc.* 1997, 57, 500-501.
5. N. J. Elizondo; P. J. A. Sobral; F. C. Menegalli. *Carb. Polym.* 2009, 75, 592-598.
6. J. M. Fang; P. A. Fowler; C. Escrig; R. Gonzalez; J. A. Costa; L. Chamudis. *Carb. Polym.* 2005, 60, 39-42.
7. M. C. Galdeano; M. V. E. Grossmann; S. Mali; L. A. Bello-Perez; M. A. Garcia; P. B. Zamudio-Flores. *Mat. Scien and Engineer C*, 2009, 29, 492- 498.
8. N. Gontard ; C. Duche; J. L. Cuq; S. Guilbert. *Intern. J. of Food Scien and Technol.* 1994, 29, 39-50.
9. J. B. Laurindo; M. Peleg. *J. of Text Stud*, 2007, 38, 619-634 .
10. D. Lourdin; G. Della Valle; P. Colonna. *Carb Polym*, 1995, 27, 261-270.
11. S. Mali; L. B. Karam; L. P. Ramos; M. V. E. Grossmann. *J. of Agric. and Food Chem.*, 2004, 52, 7720-7725.
12. J. L. C. Pacheco; S. M. Yee; M. C. Zentella.; E. E. Marván. *Tip Rev. Espec. en Cienc Quím-Biol.* 2004, 01, 18-25.
13. C. G. L. Sarantópoulos; L. M. Oliveira; M. Padula; L. Coltro; R. M. V. Alves; E. E. C. Gracia. *CETEA/ ITAL*, Campinas, 2002.
14. P. B. Shah; S. Bhandopadhyay; J. R. Bellare. *Polym Degrad and Stabil*, 199, 47, 165-173.
15. D. Tapia-Blácido; N. A. Mauri; F. C. Menegalli; P. J. Sobral; M. C. Añón. *J Food Sci.* 2007, 72, 293-300.
16. L. Yang; A. T. Paulson. *Food Resear Interna.* 2000, 33, 571-578.