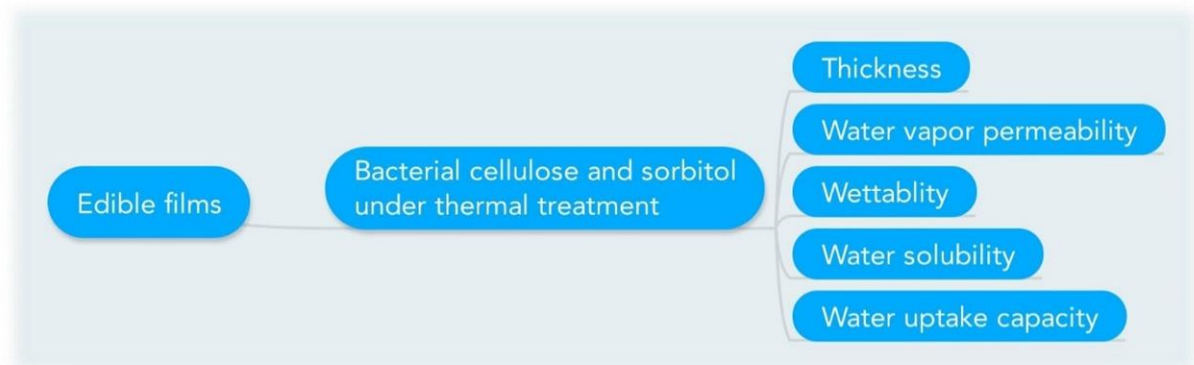


## Graphical Abstract



Sorbitol's incorporation to bacterial cellulose through thermal treatment results in edible films viable for food packaging.

### FILMES COMESTÍVEIS DE CELULOSE BACTERIANA E SORBITOL

**Vinicius S. Vasconcelos<sup>a</sup>, Cynthia G. O. Coimbra<sup>a\*</sup>**

<sup>a</sup> Faculdade ASCES – Associação Caruaruense de Ensino Superior e Técnico – Avenida Portugal, 1119, Universitário, 55016-400, Caruaru-PE, Brasil.

\*e-mail: [cynthiacoimbra@gmail.com](mailto:cynthiacoimbra@gmail.com)

## EDIBLE FILMS OF BACTERIAL CELULLOSE AND SORBITOL

Bacterial cellulose's pores' diameter are smaller than those of bacterial cells, what makes it a good material for food coverage; but, when dried, it isn't adequately moldable and its insolubility compromises the sensory quality. The sweetener sorbitol is considered a plasticizer able to cause structural changes in polymers. This work aimed to study the association of sorbitol and heating time on functional properties of cellulose films. It was made a factorial design with center point wherein concentration of sorbitol and heating time in microwave oven were independent variables to films produced that were evaluated for thickness, water vapor permeability, wettability, water solubility and swelling rate. Results were assessed by analysis of variance. Variation of these effects were significant for all investigated parameters. Films produced under lower conditions best preserve food in dry environments, regardless of its water activity; whereas films produced at higher conditions have drastic reduction in swelling rate and, therefore, doesn't compromise food's morphology during storage.

Keywords: Bacterial cellulose, Sorbitol, Microwave oven, Water vapor permeability, Water holding capacity.

## INTRODUÇÃO

É notória a demanda por alimentos próprios para consumo e, conseqüentemente, por métodos de extensão da vida útil destes produtos; especialmente no que se refere àqueles que se degradam facilmente. Dentre as estratégias para tanto, a aplicação de revestimentos filmogênicos é amplamente difundida. Filmes para revestimento alimentício à base de polímeros sintéticos resultam em grande quantidade de resíduos pós-descarte, fator este que contribui para a agravação da crise ambiental vigente.<sup>1,2</sup>

A utilização de filmes biodegradáveis é uma possível solução para a referida problemática visto que são menos nocivos para o meio ambiente,<sup>3,4</sup> sendo estes formados por constituintes que são passíveis, ou não, de absorção metabólica. Desta forma, tais filmes podem ser comestíveis e digeríveis ou comestíveis e não-digeríveis.

Para a elaboração de filmes pode-se utilizar um ou mais polímeros associados acrescidos ou não de substâncias plastificantes, com a finalidade de melhorar suas características, como espessura, porosidade, permeabilidade, solubilidade, intumescimento, transparência, flexibilidade, deformação até o rompimento e resistência à tração. A produção dos filmes supracitados envolve a combinação de diversas substâncias, a exemplo de: a) metilcelulose e sorbitol,<sup>5</sup> b) celulose bacteriana com amido e glicerol,<sup>6</sup> c) isolado proteico do girassol e trietilenoglicol,<sup>7</sup> d) alginato de sódio com cloreto de cálcio e manitol,<sup>8</sup> e) pectina e ácidos graxos,<sup>9</sup> dentre outras. A celulose bacteriana é um polímero de glicose polar, porém insolúvel em água, que, quando úmida se assemelha à nata de coco e, quando desidratada, apresenta-se como um filme delgado, parcialmente transparente, mas não perfeitamente moldável. Ela apresenta porosidade inferior ao diâmetro bacteriano, não permitindo, portanto, sua travessia por células ou partículas nesta escala de grandeza, além de reter a radiação ultravioleta.<sup>10,11,12</sup> O sorbitol é um poliálcool hidrossolúvel, com sabor doce e assim como a celulose, metabolicamente inerte e atóxico.<sup>13,14,15</sup> A adição de plastificantes promove a modificação da organização molecular por estabelecer interações com o polímero e aumento do volume livre e o movimento das cadeias poliméricas, o que se reflete nas características físico-químicas e mecânicas do filme.<sup>16,17</sup> Muitos dos plastificantes utilizados na produção dos filmes são poliois, como o glicerol e o sorbitol.

Este trabalho objetivou produzir filmes hidrocoloidais comestíveis à base de celulose bacteriana e de sorbitol para aplicação em alimentos, avaliando a influência da concentração da solução do plastificante e do tratamento térmico utilizados, bem como o efeito de interação entre estes fatores, sobre as características físico-químicas dos filmes produzidos.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **Delineamento do estudo**

Trata-se de um estudo experimental, cujas atividades foram desenvolvidas nos laboratórios de tecnologia de alimentos e tecnologia farmacêutica da Faculdade ASCES.

### **Obtenção da Celulose Bacteriana**

As membranas de celulose bacteriana foram produzidas e purificadas no laboratório de Processos Biotecnológicos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (LPB-UFPE).

### **Produção dos filmes**

Os filmes foram produzidos pelo método de coacervação simples,<sup>18</sup> mergulhando-se a membrana de celulose bacteriana em solução de sorbitol para subsequente tratamento térmico em forno de micro-ondas Consul CMA20BBNA com potência nominal de 1.100 W. Realizou-se um planejamento fatorial com pontos axiais e central cujas variáveis independentes foram a concentração de sorbitol na solução utilizada para o processamento e o período de tempo de aquecimento. Os filmes resultantes foram postos em dessecador até peso constante.

Todos os filmes foram avaliados quanto à espessura, permeabilidade ao vapor de água, molhabilidade, solubilidade em água e intumescimento. Todas as análises foram igualmente realizadas em uma membrana de celulose isenta de sorbitol e não submetida ao aquecimento em forno de micro-ondas para efeito de comparação.

### **Espessura dos filmes**

A espessura dos filmes foi medida utilizando-se um micrômetro mecânico Insizer 3210-25A com faixa de leitura de 0 a 25 mm e precisão de 0,001 mm.

### **Permeabilidade dos filmes ao vapor de água (PVA)**

A medida foi realizada a partir de um frasco de vidro previamente limpo e seco, ao qual se adicionou 4 mL de solução saturada de ZnSO<sub>4</sub> (RH 90%) e se vedou com o filme teste; realizando-se, em seguida, a pesagem inicial a partir de balança analítica OHAUS AR3130BR

com precisão de três casas decimais. Os conjuntos foram armazenados em dessecador contendo sílica gel (RH 0%) a 25°C por 48h; realizando-se, subsequentemente, a pesagem final. A quantidade de vapor de água que atravessou o filme foi obtida através da subtração das pesagens supracitadas. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada utilizando-se a seguinte equação:

$$PVA = W \cdot \delta / [t \cdot S \cdot (VP2 - VP1)]$$

Em que W é a quantidade de vapor de água que atravessou o filme após 48h (g),  $\delta$  é a espessura do filme (mm), t indica o tempo (h), S é a área de permeação do filme (m<sup>2</sup>), VP1 é a pressão de vapor de água pura (100%), e VP2 é a pressão do vapor de água da sílica em gel (0%).<sup>19</sup>

### **Molhabilidade dos filmes**

Foi determinada com o método de gota séssil. Uma gota de 20  $\mu$ L foi adicionada na superfície da membrana. Posteriormente, foi capturada uma foto para medir o ângulo  $\theta$ , ou seja, ângulo de contato, que foi medido através do software *Image Tool* (*Image Tool, UTHSCSA for Windows, v.3.0*).

### **Solubilidade dos filmes em água (S)**

A determinação da solubilidade dos filmes foi realizada pelo método proposto por Gontard et al.,<sup>20</sup> que consiste na pesagem inicial (Ms) de recortes 1x1 cm do filme seco e em peso constante. As amostras foram em seguida imersas em 100 mL de água destilada e mantidas sob agitação, com auxílio de agitador vórtex QUIMIS Q220M, a 25 °C por 24h. Após este período, o peso seco final das amostras (Mu) foi medido da mesma forma que o inicial e o material solubilizado (S) foi expresso em percentual, utilizando-se o seguinte cálculo:<sup>19</sup>

$$S = (Mu - Ms) \cdot 100 / Ms$$

Todas as pesagens foram realizadas em balança analítica OHAUS AR3130BR, com precisão de três casas decimais.

### **Taxa de intumescimento (Ti)**

O filme seco e em peso constante com medida de 1x1 cm foi pesado, submerso em 25 mL de água deionizada e mantido em geladeira a 4 °C. O ganho de massa foi medido a cada 2h após retirar delicadamente o excesso de água do filme nas bordas da vidraria (quatro vezes). As pesagens foram realizadas até peso constante. A taxa de intumescimento (Ti) foi calculada pela seguinte equação:

$$Ti = (Mu - Ms) / Ms. 100$$

Em que Mu é a massa úmida do recorte da membrana e Ms é sua a massa seca.<sup>19</sup>

### **Análise estatística**

Todos os experimentos e análises foram realizados em triplicata e os resultados foram tratados aplicando-se a análise de variância e teste *Tukey* no software de tratamento e análise estatística *SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, IBM SPSS Statistics, v. 20)*.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Espessura e permeabilidade ao vapor de água**

O aumento da concentração do sorbitol não resultou em aumento expressivo da espessura dos filmes quando o tempo de aquecimento utilizado foi reduzido. Porém, quando se utilizou tempo de aquecimento elevado, o efeito do aumento da concentração deste plastificante sobre a espessura dos filmes foi considerável, aumentando com a elevação da concentração do poliol. Este comportamento reflete a dependência do efeito da primeira variável (concentração de sorbitol) em relação à segunda variável (período de aquecimento), sendo esta característica observada em relação ao período de tratamento térmico aplicado e corrobora o efeito de interação entre os fatores estudados.

Shimazu; Mali; Grossman<sup>22</sup> e Ávila; Ascheri; Ascheri<sup>23</sup> verificaram elevação da espessura de filmes de amido em função da adição de poliois, o que se justificou pelo aumento do teor de sólidos na matriz polimérica. Jarvis,<sup>24</sup> por sua vez, relatou que a celulose sofre um processo de rearranjo molecular em temperaturas elevadas, que reflete na interconversão da celulose Ia para a celulose Ib. O primeiro alomorfo é mantido principalmente por interações de London que inviabilizam o deslizamento das cadeias poliméricas enquanto que o segundo é mantido por interações de hidrogênio que permitem maior mobilidade molecular. Logo, a celulose Ib é

geometricamente mais estável que a celulose I $\alpha$  e assim apresenta maior volume molecular.<sup>25,26</sup>

O aumento da espessura dos filmes produzidos neste trabalho, associado à elevação da concentração de sorbitol e também ao aquecimento, provavelmente decorre do aumento da frequência de interações moleculares durante o rearranjo que ocorre no período de aquecimento e do aumento do teor de plastificante disponível para interação com a matriz polimérica durante a interconversão da celulose I $\alpha$  para a celulose I $\beta$ .

A espessura detém grande influência sobre outros parâmetros, a exemplo da propriedade de barreira à luz, resistência à tração, elasticidade, e, sobretudo, à permeabilidade ao vapor de água. O aumento da permeabilidade do filme com a elevação da concentração de sorbitol pode ser explicado pelo caráter hidrofílico deste último, que acentua a adsorção de água à malha do filme promovendo a subsequente dessorção no lado oposto.<sup>27,28</sup> O aumento do teor de políeis em associação com biopolímeros também pode ser justificado pela diminuição das forças intermoleculares no polímero e subsequente relaxamento das cadeias da matriz polimérica, facilitando a difusão do vapor de água.<sup>21,29,30</sup>

O aumento da permeabilidade ao vapor de água, associado à elevação da concentração de sorbitol e ao aquecimento, provavelmente decorre do aumento da frequência de adsorção e difusão de moléculas de água devido ao caráter hidrofílico do sorbitol e do maior grau de permeação da matriz polimérica advinda da maior flexibilidade da celulose I $\beta$ , bem como da incorporação do referido plastificante.

### **Molhabilidade e solubilidade em água**

Assim como identificado por Macêdo et al.<sup>31</sup> e Assis,<sup>32</sup> superfícies com ângulo de contato  $\theta = 0^\circ$  são absolutamente hidrofílicas, superfícies com ângulo de contato  $0^\circ < \theta < 90^\circ$  são predominantemente hidrofílicas, e superfícies com ângulo de contato  $90^\circ < \theta < 180^\circ$  são predominantemente hidrofóbicas. Filmes predominantemente hidrofílicos de celulose com tolueno atóxicos e de zeínas de milho com etanol foram respectivamente obtidos por Mohan et al.<sup>33</sup> e por Forato et al.<sup>34</sup> Os filmes de celulose bacteriana com sorbitol decorrentes deste trabalho foram ainda mais hidrofílicos do que os supracitados, visto que apresentaram ângulo de contato menor.

O efeito de interação entre a concentração de sorbitol e o tempo de aquecimento sobre a solubilidade dos filmes se assemelhou ao observado sobre a espessura e a permeabilidade, de forma que períodos elevados de tratamento térmico e concentrações de plastificante

intermediárias incorreram em acentuação abrupta da solubilidade dos filmes.

A redução discreta da solubilidade dos filmes submetidos às concentrações de sorbitol mais elevadas possivelmente advém de uma interação mais acentuada entre o plastificante e a matriz polimérica.

Matta Jr. et al.,<sup>35</sup> García; Pinotti; Zaritzky,<sup>36</sup> Han; Mehyar<sup>37</sup> e Montañó-Leyva et al.,<sup>38</sup> constataram aumento da solubilidade de biofilmes em água em função da adição de poliois devido ao aumento do espaçamento intermolecular intrínseco à matriz polimérica de seus filmes, o que culminou na maior capacidade de interação do filme com a água e, conseqüentemente, maior índice de massa solubilizada. A elevação da concentração de sorbitol na produção dos filmes também aumenta a representatividade do conteúdo do plastificante na massa total do filme que, quando solubilizada, reflete em maior perda de massa seca em relação ao filme produzido com concentrações inferiores de plastificante. Os fatores supracitados justificam a elevação da solubilidade dos filmes com o aumento da concentração de sorbitol utilizada.

Considerando que o aquecimento do filme promove modificação estrutural nos domínios cristalinos da celulose, pode-se afirmar que o aumento da solubilidade em água, associado à elevação da concentração de sorbitol e ao aquecimento, provavelmente decorre do aumento de massa solubilizada de sorbitol justificado pelo maior teor do plastificante e possibilidade de interação deste último com a água devido a maior flexibilidade das cadeias poliméricas da celulose I $\beta$ .

### **Intumescimento**

O maior grau de intumescimento foi observado na ausência de plastificante e de tratamento térmico, o que pode ser justificado pela alta capacidade de retenção de água da celulose, com seu vasto número de hidroxilas livres no decorrer de sua estrutura molecular, assim como observado por Okiyama; Motoki; Yamanaka,<sup>39</sup> Fang; Catchmark<sup>40</sup> e Shoda; Sugano<sup>41</sup> Lima et al.,<sup>42</sup> relatou diminuição do intumescimento em função da adição de sorbitol a filmes de alginato de sódio devido à capacidade do referido plastificante de interagir com a matriz polimérica, o que concomitantemente inviabiliza a retenção da água no filme. Turbiani; Kieckbusch<sup>43</sup> atestou que a diminuição do intumescimento em filmes desta mesma matriz polimérica, também decorre da perda de massa do plastificante durante o contato com a água, por lixiviação. O plastificante, neste caso, é solubilizado no meio e deixa de ser parte integrante da massa úmida final. Esta característica contribui de forma significativa para a diminuição do referido parâmetro em filmes com alto teor de plastificante.



A relação entre a taxa de intumescimento, a concentração de sorbitol e o tempo de aquecimento durante sua produção não é regular, uma vez que a combinação de níveis específicos dos fatores discutidos resultou em redução da taxa de intumescimento.

Baixas concentrações de plastificante ainda permitem valores mais elevados de intumescimento independente do tempo de aquecimento. Observou-se que filmes com menor intumescimento foram obtidos à medida que se aumentou a concentração de sorbitol e o tempo de aquecimento. Tal redução está de acordo com o observado sobre os efeitos destes fatores sobre a permeabilidade ao vapor de água, pois aumentam a interação deste solvente com os filmes, mas não a sua retenção; o que provavelmente decorre do aumento da flexibilidade das cadeias poliméricas e o maior espaçamento intermolecular facilitando a difusão das moléculas de água adsorvidas no filme.

## **CONCLUSÃO**

A associação entre celulose bacteriana e sorbitol mostrou-se viável devido à compatibilidade de ambos os compostos na composição de filmes comestíveis produzidos sob aquecimento em forno de micro-ondas. Os efeitos da associação deste plastificante à celulose sob aquecimento mostraram-se estatisticamente significantes diante de todos os parâmetros analisados, sendo também constatada significância para o efeito de interação entre ambos os fatores, o que reflete a ação conjunta sobre a estrutura do polímero para a obtenção dos efeitos resultantes.

Os filmes produzidos podem ser utilizados para o revestimento de alimentos a serem estocados em ambientes secos sem que haja perda de massa úmida, independentemente de sua atividade de água, uma vez que apresentam reduzida permeabilidade ao vapor de água. A elevada afinidade destes filmes pela água, refletida nos perfis de molhabilidade, solubilidade e intumescimento limitam a umidade relativa do ambiente em que o alimento revestido pode ser estocado, devendo esta ser sempre reduzida. Filmes produzidos em concentrações superiores de sorbitol e maiores períodos de tempo de aquecimento não retêm vapor de água, porém podem ser utilizados no revestimento de alimentos no intuito de proteção contra a contaminação microbiana em alimentos de tamanho e espessura reduzidas, tendo em vista as baixas taxas de intumescimento, que não compromete, portanto, a morfologia do alimento após o período de estocagem.

## REFERÊNCIAS

1. Mali, S.; Grossman, M. V. E.; García, M. A.; Martino, M. N.; Noemi, E. Z.; *Carbohydrate Polymers* **2004**, 56, 129.
2. Souza, R. C. R.; Andrade, C. T.; *Polim.: Cienc. Tecnol.* **2000**, 10, 24.
3. Galdeano, M. C.; Willhelm, A. E.; Mali, S.; Grossmann, M. V. E.; *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2013**, 56, 637.
4. Mali, Suzana; Grossmann, M. V. E.; Yamashita, F.; *Semina: Cienc. Agrar.* **2010**, 31, 137.
5. Quiroz, M. J. T.; Lecot, J.; Bertola, N.; Pinotti, A. *Materials Science and Engineering* **2013**, 33, 2918.
6. Almeida, D. M.; Woiciechowski, A. L.; Wosiacki, G.; Prestes, R. A.; Pinheiro, L. A. *Polímeros* **2013**, 23, 538.
7. Ayhllon-Meixueiro, F.; Vaca-Garcia, C.; Silvest, F.; *J. Agric. Food Cheem.* **2000**, 48, 3032.
8. Santana, A. A.; Kieckbush, T. G. *Braz. J. Chem. Eng.* **2013**, 30, 835.
9. Batista, J. A.; Tanada-Palmu, P. S.; Grosso, C. R. F. *Ciênc. Tecnol. Alimen.* **2005**, 25, 781.
10. Hestrin, S.; Schramm, M.; *Biochemical Journal* **1954**, 58, 345.
11. Cook, K. E.; Colvin, J. R.; *Current Microbiology* **1980**, 3, 203.
12. Ross, P.; Mayer, R.; Benziman, M.; *Microbiological Reviews* **1991**, 55, 35.
13. Brochier, B.; Marczak, L. D. F.; Noreña, C. P. Z.; *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2015**, 58, 34.
14. Barreiros, R. C.; Bossolan, G.; Trindade, C. E. P.; *Revista de Nutrição* **2005**, 18, 377.
15. Almeida, D. M.; Woiciechowski, A. L.; Wosiacki, G.; Prestes, A. P.; Pinheiro, L. A.; *Polímeros*, **2013**, 23, 538.
16. Gontard, N.; Guilbert, S.; CUQ, J. J.; *Food Sci.*, **1993**, 58, 206.
17. Banker, G. S.; *J. Pharm. Sci.*, **1996**, 55, 81.

18. Villadiego, A. M. D.; Soares, N. F. F.; Andrade, N. J.; Puschmann, R.; Minim, V. P. R.; Cruz, R.; *Revista Ceres* **2005**, 52, 221.
19. Mu, C.; Guo, J.; Li, X.; Lin, W.; Li, D.; *Food Hydrocolloids* **2012**, 27, 22.
20. Gontard, N.; Ducheze, C.; Cuq, J.; Guilbert, S.; *Int. J. Food Sci. Technol.* **1994**, 29, 39.
21. Ghasemlou, M.; Khodaiyan, F.; Oromiehie, A.; *Carbohydrate Polymers* **2011**, 84, 477.
22. Shimazu, A. A.; Mali, S.; Grossmann, M. V. E.; *Semina: Cienc. Agrar.* **2007**, 28, 79.
23. Ávila, R.; Ascheri, D. P. R.; Ascheri, J. L. R.; *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos* **2012**, 30, 35.
24. Jarvis, M. C.; *Carbohydrate Research* **2000**, 325, 150.
25. Sugiyama, J.; Okano, T.; Yamamoto, H.; Horii, F.; *Macromolecules* **1990**, 23, 3196.
26. Heiner, A. P.; Sugiyama, J.; Teleman, O. *Carbohydrate Research* **1995**, 273, 207.
27. Orliac, O.; Rouilly, A.; Silvestre, F.; Rigal, L.; *Ind. Crops Prod.* **2003**, 18, 91.
28. Zhang, Y.; Han, J. H.; *Food Engineering and Physical Properties* **2006**, 71, 253.
29. Ghanbarzadeh, B.; Oromiehi, A. R.; *Journal of Food Engineering* **2009**, 90, 517.
30. Yang, L.; Paulson, A. T.; *Food Research International* **2000**, 33, 563.
31. Macêdo, M. O. C.; Macêdo, H. R. A.; Barbosa, J. C. P.; Neto, C. L. B. G. N.; Pereira, M. R.; Júnior, C. A.; *Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde* (2011), doi: 10.18816/r-bits.v1i2.1499.
32. Assis, O. B.; *Quim. Nova* **2010**, 33, 603.
33. Mohan, T.; Kargl, R.; Doliška, A.; Vesel, A.; Köstler, S.; Ribitsch, V.; Stana-Kleinschek, K.; *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, 358, 604.
34. Forato, L. A.; Britto, D.; Scramin, J. A.; Colnago, L. A.; Assis, O. B. G.; *Polímeros* **2013**, 23, 42.

35. Matta Jr., M. D.; Sarmiento, S. B. S.; Sarantópoulos, C. I. G. L.; Zocchi, S. S.; *Polímeros* **2011**, 21, 67.
36. Garcia, M. A.; Pinotti, A.; Zaritzky, N. E.; *Starch* **2006**, 58, 453.
37. Meyhar, G. F.; Han, J. H.; *Food Engineering and Physical Properties* **2004**, 69, 449.
38. Montaña-Leyva, B.; Torres-Chávez, P.; Ramírez-Wong, B.; Plascencia-Jatomea, M.; Brown-Bojórquez, F.; *Starch* **2008**, 60, 559.
39. Okiyama, A.; Motoki, M.; Yamanaka, S.; *Food Hydrocolloids* **1992**, 6, 479.
40. Fang, L.; Catchmark, J. M.; *Carbohydrate Polymers* **2015**, 115, 663.
41. Shoda, M.; Sugano, Y.; *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2005**, 10, 1.
42. Lima, A. M. F.; Andreani, L.; Soldi, V.; Borsali, R.; *Quim. Nova* **2007**, 30, 832.
43. Turbiani, F. R. B.; Kieckbusch, T. G.; *Braz. J. Food Technol.* **2011**, 14, 82.