

Cellulose films with mannitol and glycerol showed low water vapor permeability and elevation thickness , solubility and transparency compared to pure cellulose.

## CELULOSE BACTERIANA ASSOCIADA A MANITOL E GLICEROL COMO FILME PARA REVESTIMENTO ALIMENTÍCIO

**Aline L. Silva<sup>a</sup>, Cynthia G.O. Coimbra<sup>a\*</sup>**

Faculdade Associação Caruaruense de Ensino Superior, 55016-901, Caruaru- PE, Brasil<sup>a</sup>

( ) Manuscrito com material suplementar

(X) Manuscrito sem material suplementar

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

## BACTERIAL CELLULOSE ASSOCIATED WITH MANNITOL AND GLYCEROL AS FILM FOR FOOD FINISH

Cellulose function as diet insoluble fiber, however is low flexible, free taste and friable when dry. Glycerol is a polyalcohol plasticizer, however it don't have a good taste and is hygroscopic. Mannitol is a sweet polyalcohol with low water solubility. Their disadvantage to use in edible coating can be compensated for each other that to allow us to hope good films when joined: limpid, flexible, to handle resistant, low water steam permeable, and sensorially acceptable. The objective of this work was to study the production of edible films of cellulose associated with glycerol and mannitol that have appropriate characteristics to the coating of food. It was produced nine films with

different compositions by simple coacervation according to a factorial design  $2^2$ . The films were analyzed for its thickness, transparency, water steam permeability, solubility and swollen. The films produced showed up thicker but more transparent, soft and less rigid than pure cellulose. The combination of glycerol and mannitol was advantageous for to compensate for the disadvantages of adding just one alone. Moreover, the modification of their relative proportions allowed the handling of the characteristics as solubility and permeability to water vapor. This way it is possible tailor the features of these films to different foods.

Keywords: food coating, Bacterial Cellulose, mannitol, glycerol

## INTRODUÇÃO

A conservação de alimentos é um tópico de interesse elevado para a humanidade, porque gera benefícios na qualidade dos alimentos e na economia sustentável. A aplicação de revestimentos em alimentos tem-se mostrado um campo com grandes resultados, visto que podem inibir ou reduzir o contato com a umidade o que dificulta a ação de micro-organismos e controlar a entrada e saída de gases o que retarda o amadurecimento, além de regular a perda de água do alimento para o meio, o que atenua a perda de massa.<sup>1</sup>

Um revestimento de qualidade deve ser pouco permeável ao vapor de água, ter alta resistência mecânica sem deixar de ser flexível, ser atóxico, ter boas características sensoriais além de poder agregar aditivos que melhorem suas características nutricionais, sensoriais e/ou funcionais. Filmes com reduzida permeabilidade ao vapor de água são mais apropriados para alimentos frescos ou desidratados por diminuir o contato do alimento com a água, reduzindo a sua degradação, perda de massa e a possibilidade de contaminação microbiológica<sup>29</sup>. Porém essa redução deve ser regulada para possibilitar a manutenção das características organolépticas dos alimentos.<sup>22,29</sup>

A espessura dos revestimentos para conservação de alimentos modifica suas características ópticas, mecânicas e sensoriais, as quais influenciam de maneira efetiva a proteção e a aceitação do alimento. Atualmente os revestimentos flexíveis são os

preferidos por suas características funcionais como facilidade no transporte e adequação ao alimento, mas poucos são biodegradáveis.<sup>16</sup>

A transparência dos filmes utilizados para o revestimento de alimentos é uma característica consideravelmente relevante dependendo do alimento a ser revestido, pois filmes mais transparentes preservam a aparência natural do alimento gerando melhor aceitação por parte dos consumidores. Entretanto, alimentos processados que contenham nutrientes ou pigmentos fotossensíveis como carotenoides e vitaminas<sup>28</sup> serão melhor preservados em coberturas mais opacas para a manutenção de seu valor nutricional.

A maioria dos filmes já desenvolvidos utiliza polímeros solúveis como o amido, pectina e o glúten. Celulose (C<sub>6</sub> H<sub>10</sub> O<sub>5</sub>) é o biopolímero mais abundante no mundo, podendo ser obtido na forma de celulose bacteriana (CB), sendo esta oriunda da fermentação em meios de cultura de algumas bactérias, tendo como principal espécie do gênero *Gluconacetobacter*.<sup>5,10</sup> Apresenta boas propriedades mecânicas, ópticas, e sensoriais, além de não apresentar toxicidade.<sup>6</sup> Sua baixa solubilidade a posiciona na categoria de fibra insolúvel, que favorece o funcionamento intestinal.<sup>12</sup> Em países asiáticos a celulose constitui uma sobremesa popular, a nata de coco,<sup>5</sup> essa especiaria é obtida pela síntese de bactérias que utilizam água ou leite de coco como fonte de energia. É muito apreciada por seu alto teor de fibras, pouca gordura e 0% de colesterol. Apesar disso, a celulose ainda é pouco utilizada para fins de revestimento, talvez por ser um polímero relativamente rígido, insolúvel em água e de transparência relativamente baixa.

A combinação de biopolímeros e plastificantes mostra-se importante por agregar e ampliar vantagens dos constituintes utilizados.<sup>3</sup> O manitol é um poliol natural de algumas frutas e verduras. Ele é um aditivo não higroscópico, em sua forma cristalina, e isso confere resistência à permeabilidade ao vapor de água.<sup>4</sup> O glicerol é um líquido viscoso, incolor, com sabor doce e sem odor, derivado de fontes naturais ou da indústria petroquímica.<sup>8</sup> Foi selecionado para uso neste trabalho por mostrar-se eficiente quanto à capacidade plastificante quando utilizado em associação com quitosana, fécula de batata e amido de ervilha em trabalhos anteriores.<sup>6,9,13</sup>

Neste trabalho foram produzidos filmes hidrocoloidais comestíveis à base de celulose bacteriana, manitol e glicerol para serem aplicados em alimentos. Avaliou-se a

influência das concentrações de manitol e glicerol no melhoramento das características do filme produzido em relação à celulose pura para uso no revestimento de alimentos.

## PARTE EXPERIMENTAL

Todos os experimentos foram realizados no laboratório de Processos Biotecnológicos do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco (LPB UFPE) e no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade ASCES.

As membranas de celulose bacteriana (MCB) foram produzidos utilizando-se a bactéria *Gluconacetobacter xylinus*, em cultivo estático a 30°C, em frascos Erlenmeyer de 250mL com 50 mL de caldo HS (Hestrin & Schramm, 1953), composto por: glicose, 20 g/L; peptona de carne, 5 g/L; extrato de levedura, 5 g/L; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2,7 g/L; e ácido cítrico, 1,15 g/L.

### Preparo dos filmes

Todos os filmes foram produzidos pelo método de coacervação simples, utilizando-se soluções aquosas de manitol e glicerol com o planejamento descrito na Figura 1. Cada membrana foi submersa em 100 mL da respectiva solução, em frascos Erlenmeyer de 250 mL. Essa solução foi submetida ao aquecimento em micro-ondas Consul modelo-CMA20BBBNA, sob potência máxima, por 5 minutos. Em seguida os filmes foram dispostos em placas de Petri previamente limpas e secas em estufa a 110°C por 1h. Após os filmes foram postos nas placas e submetidos a estufa 50° C por 2h e, em seguida, mantidos em dessecador até peso constante.

**Tabela 1.** Concentrações de manitol e glicerol de acordo com o planejamento fatorial

| Exp | Manitol (g/L) | Glicerol (g/L) | Manitol (g/L) | Glicerol (g/L) | Total de poliálcoois (g/L) | Manitol (%) | Glicerol (%) |
|-----|---------------|----------------|---------------|----------------|----------------------------|-------------|--------------|
| E1  | +             | +              | 30,6          | 69,8           | 100,4                      | 30,47       | 69,53        |
| E2  | -             | +              | 3,8           | 69,8           | 73,6                       | 5,16        | 94,84        |

|     |            |            |      |      |       |       |       |
|-----|------------|------------|------|------|-------|-------|-------|
| E3  | +          | -          | 30,6 | 7,4  | 38,0  | 80,52 | 19,48 |
| E4  | -          | -          | 3,8  | 7,4  | 11,2  | 33,92 | 66,08 |
| E5  | + $\alpha$ | 0          | 35,0 | 45,0 | 80,0  | 43,75 | 56,25 |
| E6  | - $\alpha$ | 0          | 5,0  | 45,0 | 50,0  | 10    | 90    |
| E7  | 0          | + $\alpha$ | 20,0 | 80,0 | 100,0 | 20    | 80    |
| E8  | 0          | - $\alpha$ | 20,0 | 10,0 | 30,0  | 66,66 | 33,34 |
| E9  | 0          | 0          | 20,0 | 45,0 | 65,0  | 30,76 | 69,24 |
| E10 | 0          | 0          | 20,0 | 45,0 | 65,0  | 30,76 | 69,24 |
| E11 | 0          | 0          | 20,0 | 45,0 | 65,0  | 30,76 | 69,24 |

Concentrações em gramas por litros dos poliálcoois e suas proporções relativas de manitol e glicerol utilizadas (%).

Foram produzido 11 filmes sendo E9,E10 e E11 o ponto central dos tratamentos, utilizados para obtenção de média aritmética, é expresso nos resultados como E10. Todos os filmes foram avaliados quanto à espessura, à solubilidade em água, intumescimento e à permeabilidade do vapor de água.

### **Avaliação da solubilidade dos filmes**

A solubilidade em água foi determinada pela adaptação do método de Gontard<sup>30</sup>, adaptado, utilizando-se pedaços 2cm<sup>2</sup> (quadrante) do filme com massa inicial m0. Em seguida os quadrantes foram submersos em 50mL de água destilada com pH neutro durante 24 horas sob agitação periódica. Após esse período, a água foi retirada e o filme foi seco em estufa a 105 °C por 24 horas, ao final das quais, os pedaços foram novamente pesados (mf). A solubilidade foi expressa em percentual de massa, de acordo com a equação<sup>30</sup> (1):

$$(1) S=(m0 - mf) \times 100 / m0$$

### **Avaliação da espessura dos filmes**

A espessura foi determinada em milímetros utilizando-se um micrômetro mecânico INSIZE 3210-25A (0-25x0.001 mm), em de cada filme.

### **Avaliação da barreira de luz e transparência dos filmes**

Os valores de transparência e barreira à luz foram medidos com uso do espectrofotômetro UV-VIS (Quimis Q798U2VS), pelo posicionamento dos quadrantes na superfície interna de uma das faces transparentes da cubeta de acrílico, evitando-se o aprisionamento de bolhas de ar. A leitura foi realizada a 1.000 nm e a transparência foi calculada pela equação (2)<sup>19</sup>:

$$(2) \text{ Transp} = -\log T/x,$$

Em que T o valor de transmitância, e x a média das medidas de espessura em cada quadrante do filme (mm).

### **Avaliação de Intumescimento (%)**

Pedaços de 2x2 cm de cada filme foram pesadas ( $M_s$ ), mergulhadas em 25ml de água destilada contidos em frasco Erlenmeyer 50 mL e mantidos em geladeira a 4°C. A amostra foi pesada em balança semi-analítica até atingir peso constante ( $M_u$ ).<sup>19</sup> A taxa de intumescimento foi calculada pela equação (3) abaixo:

$$(3) \text{ TI} = (M_u - M_s)/M_s \times 100,$$

### **Avaliação da permeabilidade dos filmes ao vapor de água (PVA)**

A medida da permeabilidade ao vapor de água dos filmes produzidos foi realizada utilizando um Erlenmeyer 50 mL com 25cm de diâmetro, previamente limpo e seco. Aos mesmos foram adicionados 10 mL de solução saturada de ZnSO<sub>4</sub> (RH 90%) e vedados com o filme teste produzido. Este conjunto foi pesado ( $M_i$ ) e posto em dessecador por 48 horas com sílica gel mantida desidratada em temperatura ambiente.

Após esse período ele foi novamente pesado ( $M_f$ ). Sendo a permeabilidade calculada pela equação (4)<sup>19</sup>:

$$(4) PVA = W.x / [t.S.(vp1 - vp2)]$$

Em que  $W$  é a quantidade de vapor de água que atravessou o filme após 48h (g),  $x$  é a espessura do filme em milímetros,  $t$  indica o tempo em horas,  $S$  é a área de permeação do filme ( $m^2$ ),  $vp1$  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>

$W = (M_i - M_f)$ ,  $S = (\pi \cdot R^2)$ ,  $R^2$  = raio da circunferência interna da vidraria utilizada.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Características gerais dos filmes de CB+ glicerol+ manitol**

No trabalho proposto inicialmente o manitol foi testado como único aditivo utilizado junto à membrana de celulose bacteriana (mCB), em concentrações 9,23 a 200,13 g/L. Porém os filmes resultantes ficaram excessivamente secos e friáveis além de apresentarem-se excessivamente cristalizados em todas as concentrações testadas, o que inviabilizou a continuidade do planejamento e impediria a aplicação do mesmo em revestimento para alimentos. Por ser um sólido de estrutura cristalina o manitol é mais estável nas condições ambientes de temperatura e pressão, qualquer alteração nessas condições o levam à cristalização, principalmente a baixa temperatura.<sup>23,24</sup>

Esses fatores motivaram um novo planejamento reduzindo a concentração do manitol e incluindo o glicerol à composição dos filmes por ele ser muito utilizado como plastificante. Essa adição viabilizou a continuidade do estudo pela obtenção de filmes mais flexíveis e resistentes à manipulação. Todos os filmes produzidos com CB, manitol e glicerol mantiveram-se íntegros após secagem, diferentes dos produzidos apenas com CB e manitol.

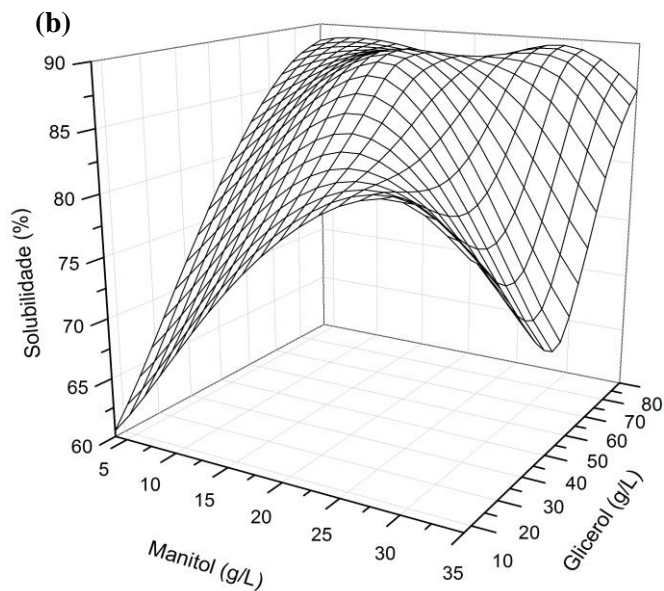
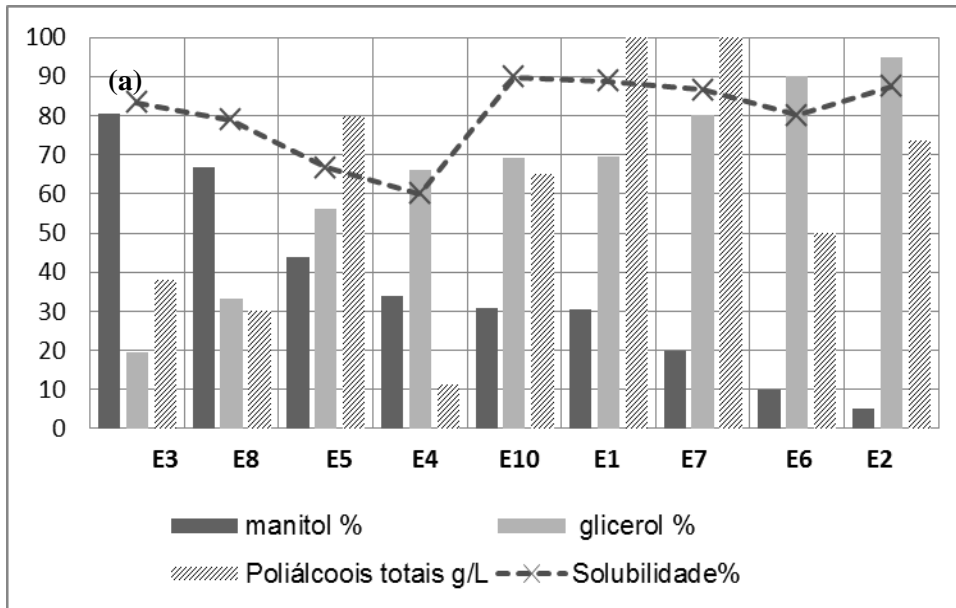
Os filmes cuja composição incluiu mais de 6% de manitol na mistura de aditivos apresentaram uma visível cristalização, porém sem comprometimento significativo da resistência ao manuseio nem à flexibilidade. Os filmes E3 e E5, preparados com maiores concentrações de manitol mostraram-se mais secos, entretanto os que tinham baixas concentrações de manitol combinadas com maiores concentrações de glicerol (E2, E6 e E7) mostraram-se visivelmente mais maleáveis. O filme E4, que continha concentrações intermediárias de manitol e glicerol não se apresentou seco, porém não se mostrou flexível como os filmes E2, E6 e E7. No todo não houve nenhuma alteração significativa de cor e odor dos filmes em relação à membrana pura.

### **Solubilidade**

Celulose é um polímero insolúvel em água (solubilidade = 0%)<sup>7</sup> e todos os filmes produzidos apresentaram solubilidade superior à da membrana pura. Os filmes que apresentaram maior solubilidade foram E6, E3, E7, E2, E1 e E10 em ordem crescente. Todos com mais de 79% de um dos poliálcoois em sua composição. Esse aumento na solubilidade pode ser explicado pela capacidade de interação do glicerol com o manitol e a celulose. O glicerol é uma molécula pequena de três carbonos e contém três hidroxilas sendo isso responsável pela sua solubilidade em água e sua higroscopicidade. O manitol tem seis grupos hidroxila que também lhe conferem solubilidade em água, mas ele não é higroscópico como o glicerol.<sup>8,25</sup>

Quanto maior a quantidade em massa dos poliálcoois adicionados maior foi à solubilidade do filme produzido, porém a variação da solubilidade não foi linear com as mudanças das quantidades totais, indicando que as proporções dos poliálcoois usadas na produção dos filmes também influenciaram a solubilidade. A figura 1 reúne as informações de solubilidade e de quantidades totais e proporcionais dos poliálcoois utilizados na produção de cada filme.





**Figura 1.** Representação gráfica da: (a) variação da solubilidade dos filmes produzidos % (m/m) com as concentrações totais de poliálcoois e as proporções relativas de manitol e glicerol utilizadas (%) e (b) influência das concentrações de manitol e de glicerol sobre a solubilidade do filme.

O glicerol influenciou mais acentuadamente a partir de E4 onde representa mais de 60% da mistura a qual contém mais de 64g/L dos poliálcoois. Os filmes E10, E1, E2 e E7 tem os maiores valores de solubilidade 86-89% possuem percentuais maiores de glicerol

em sua composição do que de manitol. O glicerol é uma molécula estruturalmente menor que o manitol, isso lhe confere maior solubilidade.

A solubilidade diminui com a redução da concentração relativa de manitol, o que pode ser acompanhado pela observação da sequência de solubilidades dos filmes E3 até E4. Entre E10, E1, E7 e E2 mesmo reduzindo o percentual de manitol e o somatório das concentrações dos poliálcoois a solubilidade foi mantida 89-86% pelo aumento do percentual de glicerol. Em E6 a solubilidade cai para 80% pela diminuição no total em g/L dos poliálcoois. O manitol é solúvel em 5 partes de água e em 18 de glicerol.<sup>25-27</sup> Assim, o glicerol influencia na solubilidade do manitol e ambos influenciam na solubilidade total do filme pelo número de hidroxilas livres e formação de ligações de hidrogênio com a água. O filme E4 tem a porcentagem de glicerol semelhante aos dos filmes E10 e E1, porém a solubilidade é consideravelmente inferior, devido à quantidade total de poliálcoois.

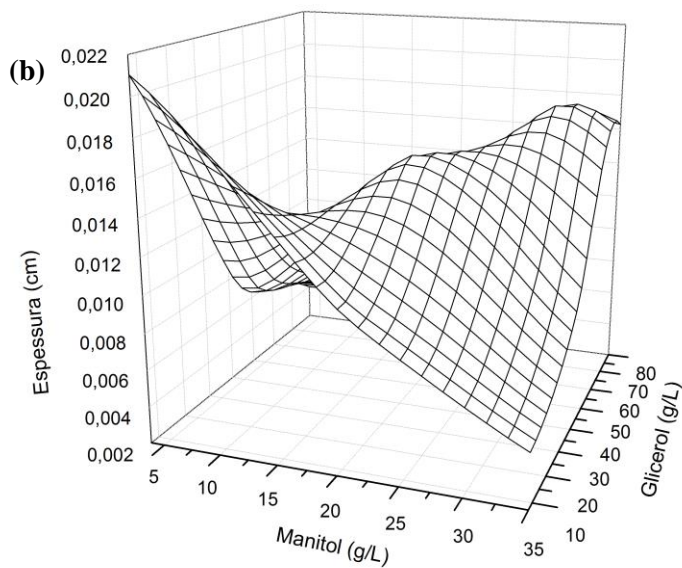
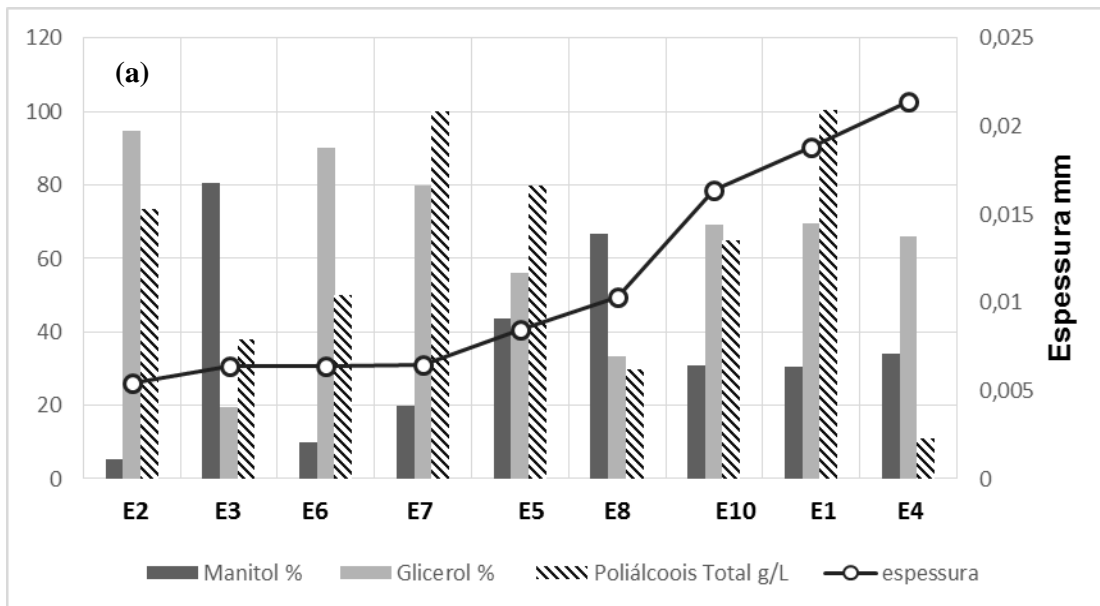
A solubilidade sofre efeito de interação entre os fatores, de forma que nem o glicerol nem o manitol influenciam sozinhos, de uma forma linear, a solubilidade do filme formado e a máxima solubilidade foram atingidas numa combinação de ambos os fatores, que não representa o valor máximo ou mínimo de nenhum dos poliálcoois utilizados. Porém, o efeito do glicerol sobre a solubilidade é mais acentuado que o do manitol.

Almeida<sup>9</sup> produziu filmes de CB fécula de batata e glicerol com solubilidade entre 27-80%, neste trabalho a solubilidade dos filmes foi 60-88%. Uma solubilidade alta e preferível em filmes<sup>7</sup> para uma rápida digestão e também podem evitar problemas sensoriais referentes ao tato quando usados para revestir alimentos<sup>9</sup>, pois vão dissolver-se com mais facilidade em contato com a saliva. A parte insolúvel dos filmes corresponde a CB sendo essa insolubilidade também importante por agregar uma maior quantidade de fibras insolúveis ao alimento, melhorando a motilidade intestinal.<sup>12</sup>

## **Espessura**

A espessura do filme foi influenciada por ambos os poliócoois adicionados. Os resultados foram tratados aplicando-se a análise de variância ANOVA e teste Turkey, com um nível de significância de  $p=0,05$ ,

( $p<0,05$ ), bem como pela interação entre eles ( $p<0,05$ ). A espessura do filme puro foi  $0,0104$  mm e em seus 11 tratamentos variaram de  $0,0054$  a  $0,0214$  mm. Verifica-se no gráfico da Figura 2 as menores espessuras foram de filmes que continham concentrações maiores ou iguais a  $80\%$  (p/p) de apenas um dos poliócoois. Na figura 2 os filmes foram organizados em ordem crescente de espessura.

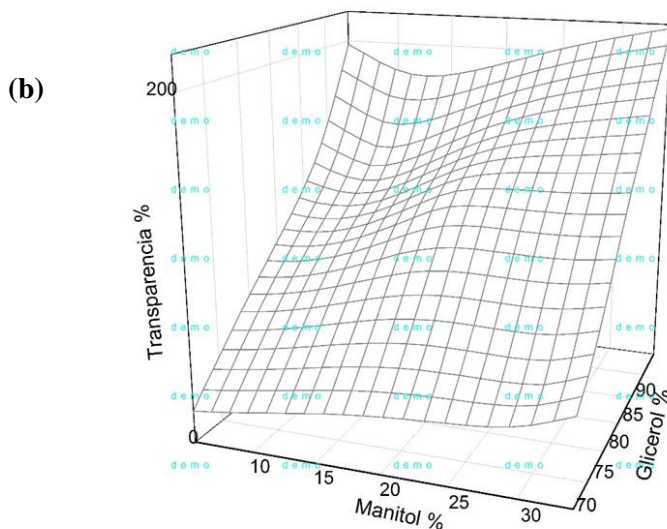
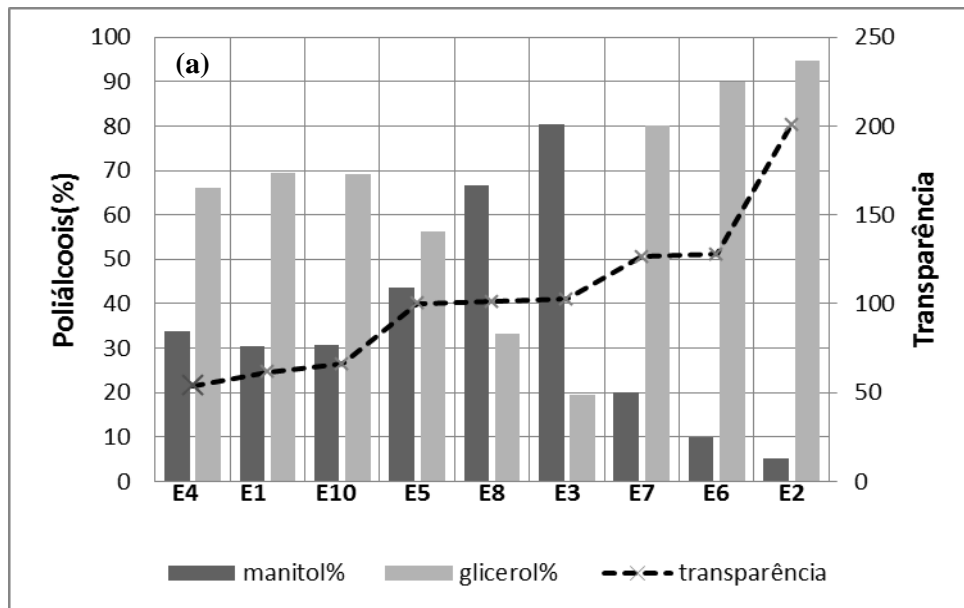


**Figura 2.** *Representação gráfica (a) da variação da espessura dos filmes com as concentrações totais de poliálcoois e as proporções relativas de manitol e glicerol utilizadas (%) e da espessura (mm) de cada filme; e (b) do efeito das concentrações de glicerol e manitol sobre a espessura dos filmes formados.*

A utilização 64-69% de glicerol ou de manitol aumenta a espessura do filme, como pode ser visto no gráfico (a) da Figura 2, a partir da posição do filme E8, o que confirma que há interação entre os poliálcoois. A partir de E5 nenhum dos poliálcoois representou mais de 70% da mistura. Nesta faixa, a elevação das concentrações resultou em redução da espessura, justificando o efeito de interação entre os fatores sobre a espessura do filme formado. Os filmes E2 até E7 contêm 70-95% de um dos poliálcoois, e espessura inferiores às dos demais. De maneira geral, pode-se afirmar que a adição dos poliálcoois eleva a espessura da membrana, porém à medida que se aumenta a concentração % dos mesmos isoladamente, a espessura diminui. Este efeito pôde ser confirmado pela observação do gráfico de superfície da figura 2 (b). O mesmo foi observado em trabalhos anteriores,<sup>6,13</sup> que utilizaram cerca de 15% m/m de glicerol associado a outros polímeros e confirmaram que sua adição eleva a espessura da celulose. O estudo realizado por Almeida<sup>9</sup> corrobora o afirmado acima acrescentando que a elevação da concentração de glicerol em 5% entre os filmes que o contêm reduz sua espessura, o que foi justificado pelo fato de o glicerol diminuir a rigidez da celulose possibilitando maior mobilidade entre as cadeias poliméricas, além de reduzir a matéria seca.

## **Transparência**

A figura 3 exibe os valores de transparência dos filmes produzidos e as proporções de manitol e de glicerol utilizados na sua produção.



**Figura 3.** Representação gráfica da variação das proporções relativas de manitol e glicerol utilizadas (%) e da transparência de cada filme produzido, e (b) gráfico de superfície do efeito das concentrações (%) de glicerol e manitol sobre a transparência dos filmes formados.

Os filmes E3 (80,52% manitol) e E7 (80% glicerol) contêm concentrações próximas do polialcool mais representativo, mas E7 mostra uma transparência 19% superior à E3. Ambos os polialcoois elevaram a transparência provavelmente por intercalarem-se entre as cadeias de celulose, afastando-as e, conseqüentemente, reduzindo o grau de cristalinidade das mesmas e, portanto, o grau de reflexão da luz incidente. O efeito do glicerol sobre a transparência do filme é maior do que o do manitol. Sua

higroscopicidade<sup>8</sup> possivelmente é responsável pela atração de moléculas de água para o interior da trama da celulose, possivelmente se intercalando também entre as cadeias do polímero e reduzindo a reflexão da luz incidente, o que é percebido pelo aumento da transparência do filme.

Em filmes em que o manitol foi utilizado em concentrações superiores a 20% sua cristalização pôde ser vista a olho desarmado apesar de a flexibilidade e resistência à manipulação não terem sido aparentemente afetadas. Estes cristais de manitol provavelmente foram os responsáveis pela maior opacidade dos filmes.

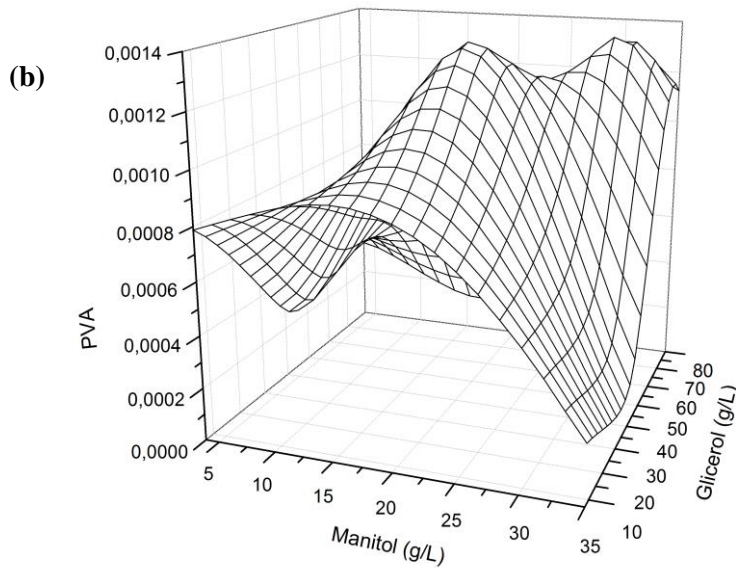
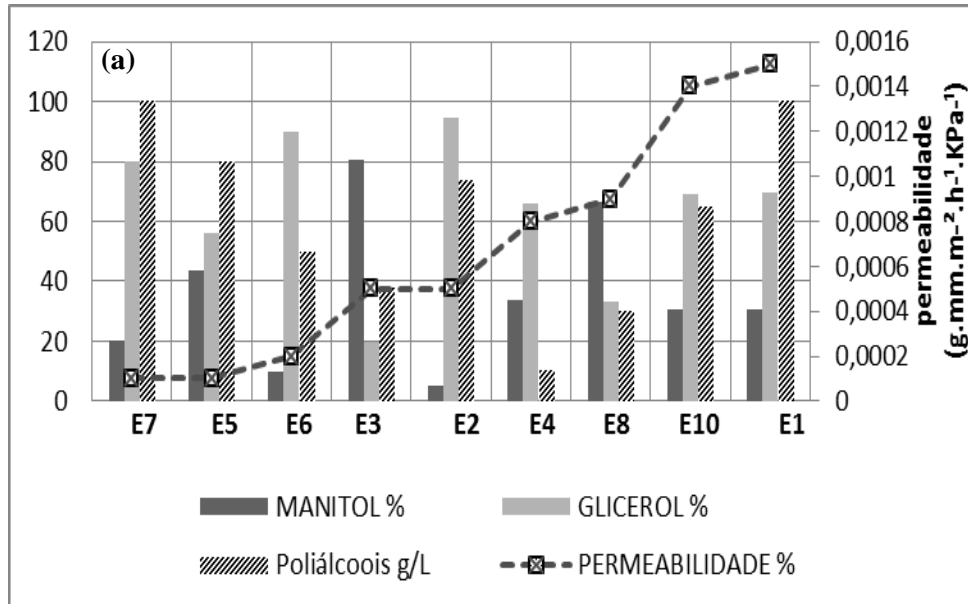
Apesar do verificado acima, o filme E3, em que 80% do total de aditivos é de manitol, apresentou elevada transparência. Diferente do glicerol, o manitol não é higroscópico<sup>25</sup> e, portanto, não interagem tão bem com a água quanto o glicerol. Porém é mais solúvel em glicerol do que em água e, na presença de maiores concentrações do mesmo se comportou de maneira diferente. Quando juntos, resultaram na produção de filmes mais transparentes, pelo aumento da interação com a água e permanente dissolução do manitol em glicerol,<sup>26,27</sup> diminuindo assim a cristalização durante a secagem do filme.<sup>23</sup>

Os filmes E10, E4, e E1, apresentaram-se mais opacos que a membrana pura, compostos por glicerol (66-69%) e manitol (30-33%). Isto se deu, certamente, pelas concentrações de manitol superarem 20% e os filmes apresentarem espessura elevada. Nessas concentrações os poliálcoois parecem preencher os espaços entre as cadeias de celulose.

Os filmes E7, E6 e E2 foram os que apresentaram transparência mais elevada, constituídos pelas mais altas concentrações de glicerol, que se intercala com muita afinidade entre as cadeias de celulose e retém moléculas de água, e as menores de manitol, solubilizáveis no glicerol e na água retida por este último no filme. Estes fatores reduzem a cristalização do manitol e também as regiões cristalinas de celulose.

## **Permeabilidade**

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) da membrana pura foi  $0,24 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$ . Na figura 4 tem-se a permeabilidade dos filmes produzidos relacionada com as concentrações de manitol e glicerol.



**Figura 4.** Variação da permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes com as concentrações totais de poliálcoois e com as proporções relativas de manitol e glicerol utilizadas (%) na produção dos mesmos (a); e gráfico de superfície que representa os efeitos das concentrações de manitol e de glicerol sobre a PVA dos filmes produzidos com celulose (b).

Todos os filmes produzidos apresentaram permeabilidades inferiores à da membrana pura, provavelmente pelo fato dos aditivos reduzirem o número e o tamanho dos poros da membrana, aumentarem a espessura e também a interação com a água, o que dificultou a travessia do vapor. Para que a água atravessasse o filme, ela precisa evaporar a partir do mesmo (dessorver) após ter interagido com seus componentes (adsorver). A adição dos poliálcoois elevou a afinidade da água pelo filme, o que dificultou a liberação do vapor a partir do mesmo para o ambiente externo.

Como pode ser verificado no gráfico da figura 4 a permeabilidade não se apresenta linear em relação às concentrações % de manitol e/ou de glicerol, nem com relação ao total dos poliálcoois em g/L, o que confirma o efeito de interação entre os fatores testados. Em E7 e E1 pode ser visto um total em g/L próximos, porém E7 tem menos manitol, mais glicerol do que o filme E1 e sua PVA foi consideravelmente menor, provavelmente pelo glicerol excedente neste filme reter mais o vapor de água dificultando a sua liberação a partir do mesmo. E10 e E1 contém a mesma concentração % dos poliálcoois, mas E1 tem maior total dos poliálcoois em g/L, mesmo com essa distinção houve apenas 1% de diferença na PVA. Há interação entre os fatores de concentração % e totais g/L, impossibilitando um aumento linear da PVA.

De acordo com o gráfico de superfície construído para este planejamento fatorial, a maior PVA de filmes produzidos com celulose, manitol e glicerol ( $0,0013 \text{ g.mm.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{kPa}^{-1}$ ) nestas faixas de concentrações testadas, é a que contém 18 g/L de manitol e 50 g/L de glicerol. Concentrações superiores ou inferiores de qualquer um dos poliálcoois reduz a permeabilidade do filme e a influência da concentração do manitol é mais acentuada do que a do glicerol, provavelmente pelo fato de o manitol não apresentar elevada afinidade pela água e também ocupar o glicerol dos filmes para sua solvatação, reduzindo a quantidade de moléculas livres para reter o vapor de água.

Por outro lado, reduzidas permeabilidades também podem ser obtidas quando são usadas concentrações baixas de glicerol e elevadas de manitol. Nestes casos, certamente todo o glicerol encontra-se ocupado, interagindo com celulose ou e/ou manitol e um grande excesso de manitol permanece não solvatado. O manitol excedente não interage com grandes quantidades de água, mesmo em ambientes com umidade relativa superior a 90%<sup>11,25</sup>. Por outro lado, a pouca afinidade do manitol pela água permite que a água que interagiu com o filme seja liberada (dessorvida) para o meio com mais facilidade.



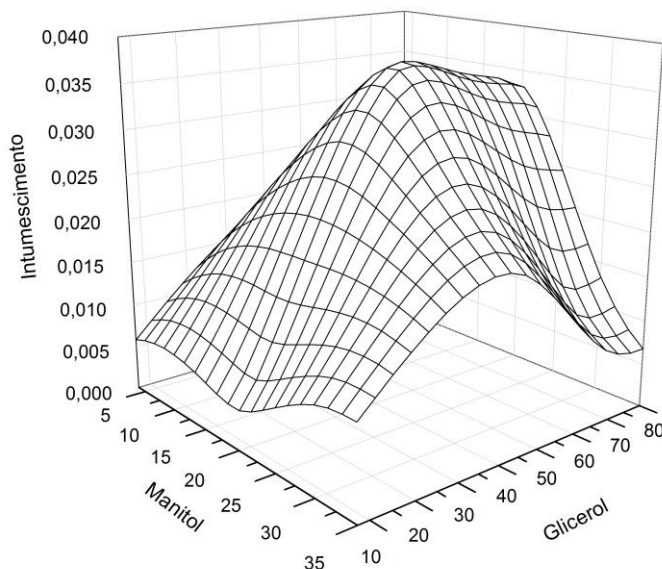
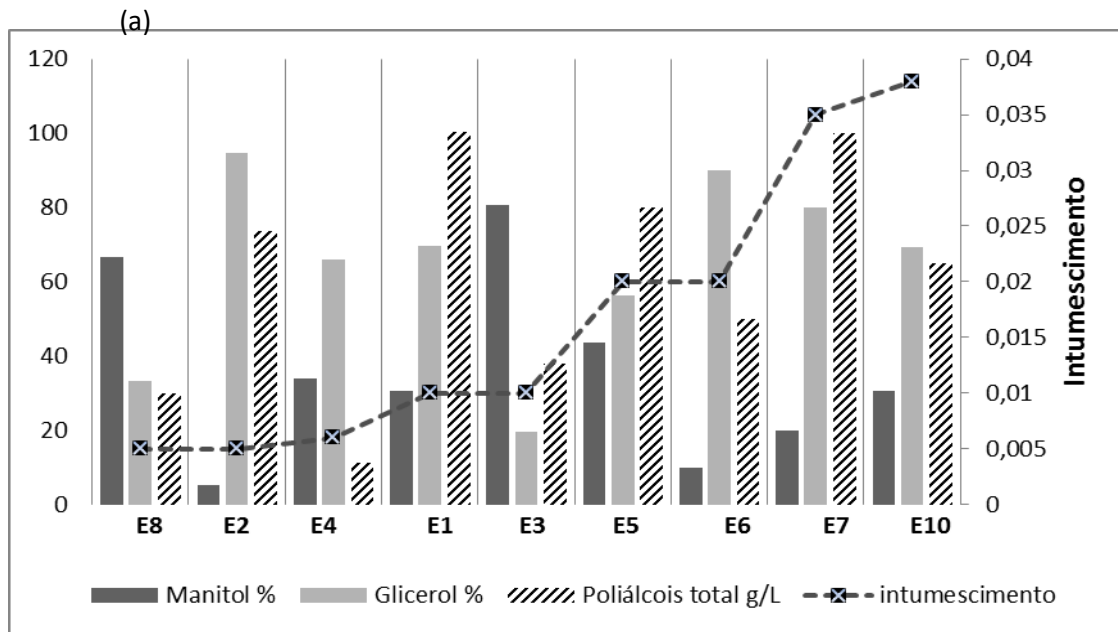
Por isso a adsorção da água no filme é prejudicada e o vapor de água que entra em contato com o filme contendo manitol apresenta maior dificuldade de ultrapassar a barreira, pois o manitol não funciona como “ponte” para as moléculas de água.

Diferentes autores relataram o aumento da PVA de seus filmes com a elevação da concentração de glicerol, por ser higroscópico e por causar maior espaçamento da cadeia polimérica.<sup>6,9,13,17,18,22,29</sup> Porém os mesmos utilizaram apenas o glicerol ou adicionam uma mistura de substâncias hidrofílicas. Mesmo com o aumento do glicerol a PVA foi diminuída com relação à membrana pura, mostrando que as características do manitol atuam acentuadamente. A PVA dos filmes produzidos neste estudo variou de 0,0001-0,0020 g.mm.m<sup>-2</sup>.h<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup> (Tabela 1). Rocha<sup>31</sup> encontrou valores entre 0,393 -0,570 g.mm.m<sup>-2</sup>.h<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup> para filmes de amido e de extrato protéico de soja, enquanto Ortiz<sup>32</sup> encontrou valores entre 1,52 -2,53 g.mm.m<sup>-2</sup>.h<sup>-1</sup>.kPa<sup>-1</sup> para filmes de farinha de mandioca e proteína de soja produzidos por extrusão, utilizando o mesmo método de determinação deste estudo.

Os estudos revestimentos biodegradáveis buscam filmes menos permeáveis por diminuir o contato do alimento com a água diminuindo da mesma forma a degradação do alimento, perda de massa, e possibilidade de contaminação microbológica, sendo essa baixa PVA um dos pontos positivos dos revestimentos sintéticos<sup>29</sup> e dos filmes produzidos no presente estudo.

## **Intumescimento**

O intumescimento da membrana pura foi de 0,001 e todos os filmes intumesceram mais do que esta última. Estes dados estão expostos nos gráficos da figura 5.



**Figura 5.** Representação gráfica da variação das concentrações totais de poliálcoois, das proporções relativas de manitol e glicerol utilizadas (%) e índice de intumescimento de cada filme produzido % (m/m) (a). Gráfico de superfície para o efeito de manitol e de glicerol sobre o intumescimento dos filmes produzidos (b).

O intumescimento dos filmes não apresentou relação linear com as concentrações de manitol, de glicerol nem com o somatório das concentrações de ambos os poliálcoois, o que caracteriza efeito de interação entre os fatores testados Figura 5 (a).

Os filmes E2 e E6 contêm concentrações % de manitol e glicerol próximas, mas um total em g/L distinto, que ao ser aumentado proporcionou menor índice de intumescimento. Por outro lado, quando se compara E4 e E1 cujas concentrações % dos

poliálcoois são semelhantes, é possível verificar que a maior concentração total de poliálcoois em E1 causou elevação do intumescimento. E1 e E7 possuem a mesma concentração em g/L, e diferentes concentrações % dos poliálcoois, nessas condições o aumento no percentual de glicerol e redução do manitol aumentou o índice de intumescimento. Não há neste planejamento como informar quais dos poliálcoois atuam mais ou menos a nível de intumescimento, porque ambos têm características que justificam esse aumento do intumescimento, mas a intensidade destas não pode ser medida.

Celulose bacteriana é um polímero com alta cristalinidade e resistência à tensão, além de elevada capacidade de absorção e retenção de água<sup>20</sup>. A CB sozinha já apresenta um intumescimento significativo, quando adicionado a ela o glicerol esse intumescimento aumenta<sup>9</sup> por conta da alta higroscopicidade e osmolaridade dessa molécula.

O manitol e o glicerol aumentam o espaço intermolecular na CB, e o tamanho ampliado desses espaços resulta em uma maior superfície de absorção e conseqüentemente o potencial de absorção próprio da CB aumenta.

O gráfico de superfície plotado com os resultados de intumescimento resultante dos dados do planejamento fatorial realizado indica que o maior valor de intumescimento do filme produzido pode ser obtido utilizando-se 16 g/L de manitol e 55 g/L de glicerol. Concentrações maiores ou menores de glicerol e de manitol reduzem a taxa de intumescimento do filme e o efeito do glicerol parece ser mais intenso do que o do manitol sobre

## **CONCLUSÕES**

A utilização dos polióis em combinação com a celulose para a produção de filmes agregou características importantes para cobertura de alimentos: (1) fornecimento de fibras, pelo seu conteúdo de celulose; (2) solubilidade, promovida pela combinação com os poliálcoois e influenciada principalmente pela adição de glicerol; (3) capacidade edulcorante devido ao conteúdo de manitol, (4) flexibilidade pelo efeito plastificante dos polióis adicionados; (5) controle da retenção de água pela quantidade total e

também pela combinação dos poliálcoois; (6) maior transparência, devido à ação do glicerol sobre as regiões cristalinas da celulose; e (7) controle da permeabilidade ao vapor de água, principalmente regulada pela concentração de manitol. A combinação de glicerol e manitol como plastificantes na produção de filmes comestíveis foi vantajosa pelo fato de ambos os poliálcoois influenciarem consideravelmente as características do filme responsáveis pelo controle da qualidade do alimento e interagirem bem entre si, compensando efeitos negativos que são percebidos quando utilizados sozinhos, como a excessiva retenção de água e elevação da espessura do filme promovida pelo glicerol e a inconveniente friabilidade percebida quando o manitol é o único poliálcool utilizado.

## REFERÊNCIAS

1. Kempka, A. P., Santin, L., Betiolo, C., Prestes, R.C.; *Bole. Ceppa* **2012**, 30, 53-64.
2. Zevallos L. C., Krochta J.M.; *Journal Of food Science* **2002**, 67, 190-197.
3. Gallo, J. A. Q., Debeaufort, F.; Callegarin, F.; Voilley, A. *Journal of Membrane Science* **2000**, 180, 37-46.
4. Saha, B.C. Racine, F.M.; *Applied Microbiology and Biotechnology* **2011**, 89, 879-891.
5. Donine, I.A.N., Salvi, D.T.B., Fukumoto, F.K, Wilton, R.L., Barud, L.H., Marchetto, R., Messaddeq, Y., Ribeiro, S.J.L.; *Revista Eclética Química* **2010**, 35,165 - 178.
6. Lamim, R.; *Tese de Mestrado*, Universidade do Vale do Itajaí, Brasil, 2006.
7. Colares-Queiros, F.P.; *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2007**, 27, 369-375.
8. Beatriz, A. Yara, J. K. A. Pires, D.L. Lima, D.P; *Quim. Nova* **2011**, 34, 306-319.
9. Almeida, D.M., Woiciechowski, A.L., Wosiack, G., Prestes, R.A., Pinheiro, L.A., *Polímeros* **2013**, 23, 538-546.
10. Gottschalk, .L.M.F., Barbosa, E.F., Souza, A.I.S., Brigida, E.M., Oliveira, P.E.M.M., *Artigo Apresentado no VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio*. Juiz de Fora- MG, Brasil, 2014.

11. [http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/81.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/81.pdf), acessada em janeiro de 2015.
12. Maffei, H.V.L.; *Jornal de Pediatria* **2004**, 80, 167.
13. Matta Junior, M. D., Sarmiento, S.B.S., Sarantópolos, C.I.G.L., Zocchi, S.S., *Revista Polímeros* **2011**, 21, 67-72.
14. Chávez-Pacheco, J.L. et al; *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* **2004**, 7, 18-25.
15. Cao, .N Yang, X. Fu, Y.; *Food Hydrocolloids* **2009**, 23,729-735.
16. Sobral, P.J.A.; *Pesq. agropec. bras* **2000**, 35, 1251-1259.
17. Moraes, J.O.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Londrina, Brasil, 2007.
18. Rocha, G. O., Farias, M.G., Carvalho, C.W.P., Ascheri, J.L.R., Galdeano, M.C., *Polímeros* **2014**, 24, 587-595.
19. Mu, C., Jimin, G., Xinying, L., Wei, L., Defu, L.; *Food Hydrocolloids* **2012**, 27, 22-29.
20. Barud, H.S.; *Tese de Mestrado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2006.
21. <http://www3.uma.pt/jcmarques/docs/qma/mater03.pdf>, acessada em fevereiro de 2015.
22. Barbosa, H.R., Ribeiro, A.E.C., Ascheri, D.P.R., Ascheri, J.L.R., Carvalho, C.W.P., *Revista Agrotecnologia* **2001**, 2, 73–88.
23. <http://www.sanobiol.com.br/faq01.php>, acessada em abril de 2015.bb
24. [http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=8323132013&pIdAnexo=1812989](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=8323132013&pIdAnexo=1812989), acessada em abril de 2015.
25. Oliveira, P.S.M, Ferreira V.F. Souza, M.V.N., *Quim. Nova* **2009**, 32, 441-452.
26. <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/academica/article/view/8951/6294>, acessada em abril de 2015.

27. <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAetQAL/excipientes-adjuvantes>, acessada em abril de 2015.
28. Silva, M.A.M.M; *Tese de Mestrado*, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Portugal, 2014.
29. Rodrigues, D.C., *Tese de Mestrado*, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2012.
30. Gontard, N. Thubault, R. Cub, B. Guilbert, S. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **1996**, 44(4), 1064-9.
31. Rocha, G.O, Farias, Carvalho, C.W.P, Ascheri, J.L.R; Galdeano, M.C. *Polímeros* **2014**, 24(5), 587-595.
32. Ortiz, J.A.R, *Tese de Mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009.