

Preparação de Novos Nanobiocompósitos Comestíveis Ativos Contendo Nanoemulsão de Canela e Pectina

Marcia Regina de Moura, Fauze Ahmad Aouada

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP – Univ Estadual Paulista, Departamento de Física e Química, 15385-000, Ilha Solteira, SP, Brazil.

Juliana Reghine Souza, Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicada ao Agronegócio – LNNA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA/CNPDIA, São Carlos, SP

Resumo: Neste trabalho, o objetivo foi produzir nanobiocompósitos biodegradáveis à base de pectina e nanoemulsão de canela que tenham propriedades satisfatórias para aplicação como embalagens ativas. Foram detalhados os procedimentos de preparação das nanoemulsões e incorporação dessas na matriz polimérica. Foi apresentada uma metodologia nova de análises dos melhores nanocompósitos através de um planejamento baseado em aspectos visuais que nos forneceu resultados interessantes. Os nanocompósitos obtidos foram analisados através de: medidas de espessura, solubilidade, propriedades mecânicas e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Resultados das análises visuais mostraram que os nanocompósitos produzidos com concentração de pectina de 2% m/v e nanoemulsões preparadas com velocidade de agitação de 16000 rpm em 2 minutos mostraram melhores condições para serem aplicados como embalagens. Resultados de propriedades mecânicas demonstraram que nanocompósitos contendo nanoemulsões com tamanhos menores de gotículas apresentam maior resistência e alongação, além de serem menos solúveis. O controle dessas propriedades com a variação de tamanho médio das nanoemulsões torna esses materiais potencialmente viáveis, por exemplo, em embalagens ativas.

Palavras-chave: Nanoemulsão, nanocompósito polimérico, pectina, óleo essencial de canela.

Preparation of New Active Edible Nanobiocomposite Containing Cinnamon Nanoemulsion and Pectin

Abstract: In this study, the objective was to produce biodegradable nanobiocomposites based on pectin and cinnamon nanoemulsion having satisfactory properties for application as active packaging. Procedures for preparing and incorporating these nanoemulsions in the polymeric matrix are described. The nanocomposites were analyzed through: thickness measurements, solubility, mechanical properties and scanning electron microscopy (SEM). A subjective analysis indicated the nanocomposite made with pectin 2 % w/v and nanoemulsions prepared with stirring speed of 16000 rpm in 2 min was the most suitable for application in packaging. The nanocomposites containing nanoemulsions with smaller nanodroplets had greater strength and elongation, being less soluble. The control of these properties by varying the average size of the nanoemulsion makes these materials potentially viable, for example, for active packaging.

Keywords: Nanoemulsion, polymeric nanocomposite, pectin, cinnamon essential oil.

Introdução

A nanotecnologia é uma aplicação da nanociência que aparece praticamente em todos os setores da ciência. Na área de alimentos o elevado investimento na parte de embalagens tem reforçado a idéia de que produtos nanotecnológicos proporcionam vantagens reais aos consumidores^[1,2]. De maneira bem didática podemos afirmar que a função primordial de uma embalagem é acondicionar o produto de forma a permitir todas as outras operações que fazem parte do processo de distribuição física, ou seja, levar o produto acabado até o cliente final. Complementando esta função temos que a embalagem do produto serve para a promoção deste, providenciando também, a proteção para o mesmo e finalmente serve como instrumento para aumentar a eficiência da distribuição^[3].

A crescente exigência do consumidor e os avanços no conhecimento sobre obtenção e estabilidade dos sistemas dispersos viabilizam o desenvolvimento de materiais diferenciados como, por exemplo, nanoemulsões, que além da inerente estabilidade, apresentam aspecto sensorial agradável, além de alto poder de dispersão^[4,5].

Se considerarmos todas as etapas de design, confecção, utilização em produtos e descarte/reciclagem de embalagens como um setor independente da produção de bens de consumo no Brasil, sua importância torna-se notória, uma vez que o faturamento das empresas desse setor em 2011 foi de R\$ 43,7 bilhões^[6].

Existem dois métodos de obtenção de nanoemulsões: os que empregam baixa e alta energia de emulsificação^[7-9].

Alega-se que óleo essencial de canela aumenta a resistência do organismo e promove uma boa circulação. Além de possuir uma propriedade antimicrobiana já comprovada na literatura, alguns estudos mostraram grande potencial de estimular os sentidos humanos. Ou seja, o odor da canela em alguns materiais faz com que a aceitação do material por humanos seja melhorada.

Para atender as necessidades do mercado, estão sendo desenvolvidas as chamadas embalagens “ativas”, que podem ser definidas como embalagens interagem de forma desejável com o alimento, aumentando sua estabilidade. Um exemplo de embalagem ativa é aquela que libera compostos antimicrobianos^[10,11]. Este processo de liberação controlada de compostos antimicrobianos pode ocorrer sobre a superfície do alimento, prevenindo o crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos^[12].

No caso desse trabalho o interesse foi trabalhar com materiais nanoestruturados, nanoemulsão de óleo essencial de canela, incorporados em matrizes poliméricas biodegradáveis. Com o objetivo de investigar as propriedades dessas novas embalagens ativas e com aroma, foram sintetizados nanobiocompósitos ativos baseados em pectina e nanoemulsões de diferentes tamanhos.

Experimental

Preparação das nanoemulsões

Foram produzidas soluções aquosas contendo aldeído cinâmico (óleo essencial de canela, Cinnamomum zeylanicum, CAS Number: 84649-98-9, Ferquima/Brasil) e emulsificante Tween 80. As emulsões foram produzidas pela agitação de tais soluções sob diferentes tempo-velocidade de rotação em ultra-turrax (T25 Ultra-turrax from IKA-Werke GmbH & Co, Staufen, Germany): 12000 rpm (2 e 5 min), 16000 rpm (2 e 5 min) e 20000 rpm (2 e 5 min).

Tamanho médio das partículas nas emulsões

O tamanho médio das partículas em cada emulsão foi determinado no aparelho Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, UK). Três medidas para cada amostra foram realizadas, a 25 °C, após 1 e 15 dias da confecção das emulsões contendo aldeído cinâmico, tendo água como dispersante.

Produção dos filmes comestíveis

Os filmes foram produzidos pela técnica de *casting*: consistiu na preparação segregada de uma solução filmogênica contendo pectina (2% m/v), e de nanoemulsões preparadas como descrito acima. A pectina utilizada foi considerada de alta metoxilação, obtida por doação da empresa CP Kelco. Após, ambas as soluções foram misturadas (2:1), agitadas por 10 min a 1500 rpm, deixadas em repouso até eliminação das bolhas de ar visíveis e, só então, espalhadas sobre um suporte para secagem. Nesse caso, a diferença nos tratamentos se deu pela variação de condições de síntese das nanoemulsões, onde foram aplicadas no preparo dos nanocompósitos com diferentes tamanhos e características.

Determinação da espessura

As medidas das espessuras dos filmes foram realizadas utilizando um micrômetro digital (No. 7326, Mitutoyo Manufacturing, Japan) em 5 diferentes pontos ao redor do filme. Os valores obtidos foram utilizados para calcular a permeabilidade de vapor de água e propriedades mecânicas.

Solubilidade

Para determinação da solubilidade do filme em água utilizou-se um procedimento modificado por Gontard et al.,^[13]. Aproximadamente 150 mg da amostra foram pesadas e secas em estufa (100 ± 2 °C, 24 h) para obter a massa seca inicial do filme. O filme seco após pesagem foi imerso em 50 mL de água deionizada e deixado em repouso por 24 horas. Os filmes em água foram monitorados de tempo em tempo, no final de 24 horas, a parte de filme insolúvel foi retirada da solução para secagem (100 ± 2 °C, 24 h), a fim de determinar a massa seca que não foi solubilizada. A massa de filme que solubilizou foi calculada com base na equação 1 e tratada como sendo a percentagem de filme que se solubiliza em água:

$$\text{Solubilidade em água (\%)} = \frac{\text{massa seca inicial} - \text{massa do filme não solubilizado}}{\text{massa seca inicial}} \times 100 \quad (1)$$

Propriedades mecânicas

O teste mais comumente realizado para a determinação da resistência mecânica de filmes é o teste de tensão x deformação sob tração. As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas pelos testes de tração. Os filmes foram deixados em ambiente com 30% umidade relativa a 24 °C por 48 horas, antes dos testes de tração. Os filmes foram cortados em forma retangular nas dimensões de acordo com o método ASTM D882-97: 15 mm de largura e 100 mm de comprimento. O equipamento utilizado para a análise foi um Instron Universal Testing Machine (Model 1122, Instron Corp., Canton, Mass., U.S.A.). As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas com relação à tensão (s) e módulo de elasticidade (E) em temperatura ambiente, de acordo com o método ASTM D882-97. A velocidade de tracionamento utilizada foi de 50 mm/min.

A deformação (ϵ) dos filmes foi determinada pela equação abaixo:

$$\epsilon = \ln (L/L_0) \quad (2)$$

onde L e L₀ são os comprimentos de alongação do filme durante o experimento e o comprimento inicial do filme, respectivamente.

A tensão (σ) foi determinada medindo-se a força necessária para romper o filme. Os valores de σ foram calculados utilizando a equação abaixo:

$$\sigma = F/S \quad (3)$$

onde F é o valor da força de ruptura exercida e S é a área seccional do filme.

O módulo de elasticidade (E) foi calculado a partir da inclinação inicial da curva obtida tensão-deformação

(σ vs ϵ). As propriedades mecânicas foram avaliadas com a presença ou não de gotículas nanoemulsionadas presentes nos nanocompósitos.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foi utilizado um microscópio Philips XL 30 FEG, para analisar propriedades morfológicas dos filmes contendo nanopartículas. As amostras dos filmes foram depositadas em um porta amostras, contendo fita de carbono (Ted Pella Inc., Redding, CA, U.S.A.) e recobertas com ouro por 45 s em 20 mA.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 é observada a dependência do tamanho médio das gotículas nanoemulsionadas em função do tempo e velocidade de agitação.

Pode-se observar que o tamanho médio das partículas de nanoemulsão está diretamente relacionado com a velocidade de agitação e tempo de síntese. Nas mesmas condições de preparação, quanto maior a velocidade, menor o tamanho médio das partículas.

No início do trabalho foi realizada uma avaliação visual dos nanobiocompósitos formados na forma de filmes. Na avaliação visual foram observadas as seguintes características: continuidade (ausência de rupturas e fraturas após a secagem), homogeneidade (ausência

Tabela 1. Valores de tamanho médio das nanoemulsões em função do tempo e velocidade de agitação.

Velocidade de agitação (Tempo de agitação)	Tamanho médio
12000 (2 min)	500 \pm 11
12000 (5 min)	435 \pm 10
16000 (2 min)	300 \pm 6
16000 (5 min)	288 \pm 12
20000 (2 min)	130 \pm 10
20000 (5 min)	170 \pm 8

Tabela 2. Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial.

Variáveis	Nível inferior (-)	Nível superior (+)
A	Concentração do polímero 1%	Concentração do polímero 2%
B	Velocidade de agitação 16000 rpm	Velocidade de agitação 20000 rpm
C	2 min	5 min

Tabela 3. Matriz planejamento e valores das respostas para cada experimento realizado.

Experimentos	A	B	C	Continuidade	Homogeneidade	Manuseabilidade
1	+	+	+	●	■	▼
2	-	+	+	■	■	■
3	+	-	+	▼	●	●
4	-	-	+	▼	■	■
5	+	+	-	▼	▼	▼
6	-	+	-	●	●	■
7	+	-	-	▼	●	▼
8	-	-	-	●	●	●

▼ excelente; ● boa; ■ deficiente.

de partículas insolúveis visíveis a olho nu, zonas de opacidade ou de cores diferenciadas) e manuseabilidade (possibilidade de manusear o filme sem riscos de ruptura)^[14]. Os filmes foram classificados de acordo com um padrão em excelente, bom ou deficiente.

Para elaboração desse experimento foi montado um planejamento fatorial de 2³. Os fatores e níveis se encontram na Tabela 2.

Foi desenhado um protocolo experimental a partir do cruzamento das variáveis A, B e C a partir de uma análise fatorial 2³, gerando um total de 8 ensaios.

Na Tabela 3 é possível analisar cada fator analisado e cada experimento com sua resposta.

Como pode ser observado na Tabela 3, os filmes formados a partir dos experimentos 2 e 4 foram os que apresentaram piores características, sendo considerados deficientes. No entanto, os filmes formados a partir dos experimentos 5 e 7 foram os que apresentaram melhores características, sendo considerados excelentes. Com base nesses resultados é que foram escolhidas as melhores condições para sintetizar os filmes a serem caracterizados. De uma maneira geral os filmes escolhidos por nós para síntese, apresentaram-se transparentes e com um bom aspecto visual (Figura 1).

Outra preocupação no início foi controlar a espessura dos filmes, pois de acordo com Gennadios, et al.^[15] o controle da espessura é importante para a uniformidade dos filmes formados, reprodutibilidade das medidas realizadas e validade da comparação entre filmes. Os filmes sintetizados por nós apresentaram similar espessura em todas as análises, onde a média da espessura foi de 0,03 mm.

Na Tabela 4 é observada a solubilidade dos filmes em água pura. Como pode ser observado, ocorre um decréscimo maior nos valores de solubilidade dos nanocompósitos contendo nanoemulsões com gotículas de tamanho menor. Os filmes com partículas de tamanho menor devem apresentar menor solubilidade devido a essas partículas apresentarem maior dispersão na matriz de pectina. Essa maior dispersão faz com que, a água tenha maior interação com as nanoestruturas e menor com o polímero, diminuindo a solubilidade do nanocompósito. Esse resultado é interessante uma vez que diminuição na solubilidade do filmes é um assunto importante para aplicação em embalagens de alimentos cárneos, laticínios entre outros^[16]. Além disso, podemos observar que somente a presença de gotículas nanoemulsionadas nos

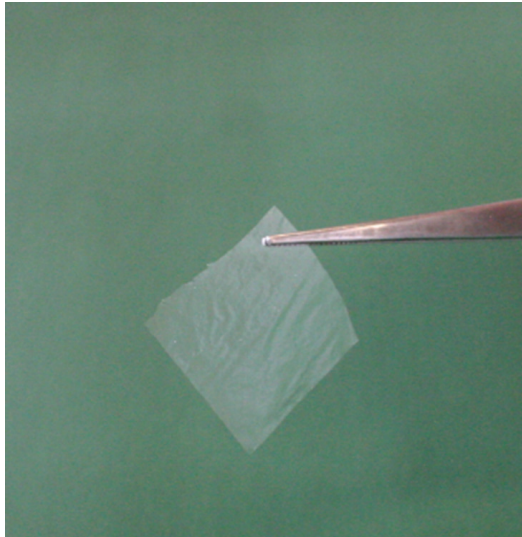


Figura 1. Fotografia digital do filme nanocompósito contendo pectina e nanoemulsão de canela.

Tabela 4. Solubilidade em água dos diferentes filmes contendo nanopartículas.

Composição do Filme	Solubilidade (%)
Pectina	100
Pectina-nanoemulsão (16000 rpm; 2 min)	92,3
Pectina-nanoemulsão (20000 rpm; 2 min)	82,1

Tabela 5. Tensão máxima e alongação dos filmes de pectina com diferentes tamanhos de nanoemulsões.

Filme	Tensão (MPa)	Elongação (%)
Pectina	17 ± 2,1	8,1 ± 0,7
Pectina-nanoemulsão (16000 rpm; 2 min)	38 ± 1,8	30 ± 1,0
Pectina-nanoemulsão (20000 rpm; 2 min)	49 ± 2,2	49 ± 1,1

filmes resulta em uma matriz mais hidrofóbica, o que viabiliza a aplicação de filmes comestíveis de pectina em alimentos com elevado teor de umidade, inadequado em filmes contendo somente pectina.

Na Tabela 5 pode ser observado o efeito da adição das gotículas nanoemulsionadas e do tamanho na resistência dos nanocompósitos.

A incorporação de gotículas nanoemulsionadas nos filmes aumenta a resistência mecânica. Esse aumento pode ter ocorrido devido à substituição parcial do polímero por nanoestruturas na matriz do nanocompósito. Outro fator, é que as nanopartículas ocupam parte dos espaços vazios entre as cadeias dos nanocompósitos aumentando a resistência, devido à maior compactação. Na literatura são observados resultados semelhantes com diferentes nanoestruturas e matrizes. Por exemplo, em Chang et al.^[17] nanopartículas de quitosana foram incorporadas em matrizes de amido e apresentaram um favorável efeito reforçante. Com a diminuição no tamanho das partículas observou-se que o efeito reforçante foi ainda maior. Esse comportamento das nanopartículas menores inseridas em matrizes poliméricas já foi observada em outros trabalhos do grupo, como citado em Moura et al.^[18].

A porcentagem de alongação também apresenta variação com a inserção de nanoestruturas na matriz. A presença das gotículas nanoemulsionadas faz com que a matriz apresente um aumento significativo na alongação. O aumento na alongação provoca melhora na tenacidade dos filmes, fator interessante na aplicação como embalagem^[19].

Na Figura 2 é apresentada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) do nanobiocompósito contendo nanoemulsão sintetizada com base no método 7 e da matriz contendo apenas pectina. Como pode ser observada a matriz com a inserção de nanoemulsão apresenta uma característica mais rugosa.

As nanopartículas passam a ocupar os poros dos filmes aumentando assim sua compactação. Sobre a superfície é possível observar as nanopartículas dispersas. Esse efeito ocasiona uma maior compactação no filme, funcionando como um mecanismo de reforço. Esse efeito

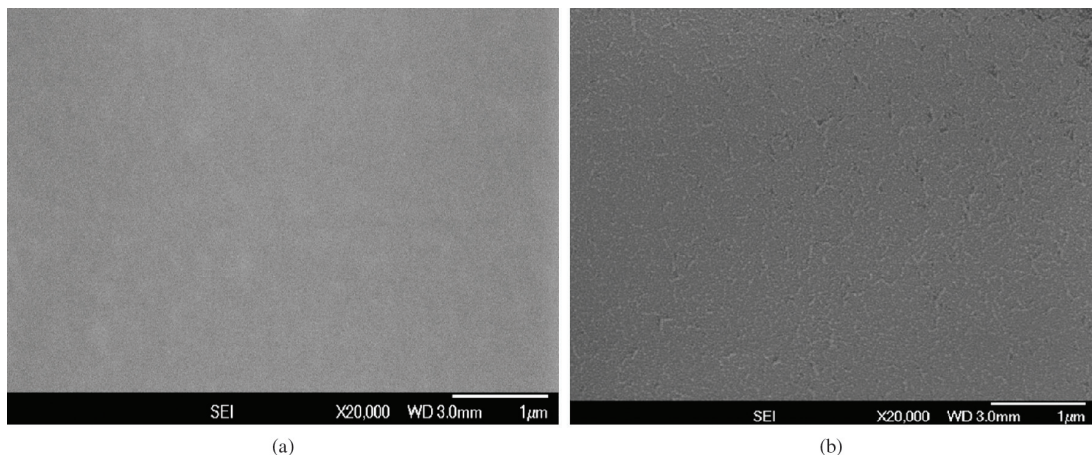


Figura 2. Micrografia, obtida por MEV, da superfície do nanobiocompósito (a) e do filme somente de pectina (b) A micrografia possui magnitude de 20,000 X.

já é relatado na literatura em outros trabalhos, de acordo com Rhim et al.^[20] a adição de nanopartículas de prata em matrizes de ágar se distribuem de maneira uniforme e contribuem para o aumento da resistência do material resultante.

Conclusões

As nanoemulsões foram sintetizadas de maneira satisfatória, resultando em partículas de tamanho nanométrico. Foi possível obter nanobiocompósitos contendo pectina e nanoemulsões de canela. Através da matriz planejamento foi possível avaliar qual a melhor condição de preparo dos nanocompósitos. O estudo sugere que os nanocompósitos ativos oferecem grande potencial para serem aplicados como embalagens de alimentos no futuro. Foram observadas as reduções na solubilidade e aumento nas propriedades mecânicas dos filmes de pectina com a incorporação de gotículas nanoemulsionadas. De acordo com resultados de MEV observou-se a dispersão uniforme das gotículas nanoemulsionadas na matriz o que resultou em uma matriz mais compacta e resistente. Por fim, com o auxílio da nanotecnologia esse trabalho auxilia no início dos estudos que podem buscar a melhoria de qualidade de vários tipos de filmes de interesse comercial para utilização como embalagens de alimentos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPESP, CNPq e UNESP.

Referências Bibliográficas

- Armentano, I.; Bitinis, N.; Fortunati, E.; Mattioli, S.; Rescignano, N.; Verdejo, R.; Lopez-Manchado M. A. & Kenny J.M. - *Progr. Polym. Sci.* (2013). In Press.
- Manso, S.; Cacho-Nerin, F.; Becerril, R. & Nerin, C. - *Food Control.*, **30**, p.370 (2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.018>
- Puligundla, P.; Jung, J. & Ko, S. - *Food Control.*, **25**, p.328 (2012). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.043>
- Joe, M. M.; Chauhan, P. S.; Bradeeba, K.; Shagol, C.; Sivakumar, P. K. & Sa, T. - *Food Control.*, **23**, p.564 (2012). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.032>
- Tamjidi, F.; Shahedi, M.; Varshosaz, J. & Nasirpour, A. - *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **19**, p.29 (2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.03.002>
- Associação Brasileira de Embalagem. - "Faturamento da indústria de embalagem". Disponível em: <http://www.abre.org.br/centro_dados.php>. Acessado em: 16 jan. 2013.
- Pires, C.; Ramos, C.; Teixeira, B.; Batista, I.; Nunes, M. L. & A. Marques. - *Food Hydrocoll.*, **30**, p.224 (2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.019>
- Turek, C. & Stintzing, F. C. - *Food Res. Int.*, **46**, p.341 (2012). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.028>
- Paula, H. C. B.; Oliveira, E. F.; Abreu, F. O. M. S.; Paula, R. C. M.; Morais, S. M. & Forte, M. M. C. - *Polímeros*, **20**, p.112 (2010). <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282010005000019>
- Sarantópoulos. - "C.I.G.L. ITAL-CETEA", p.114 (1996).
- Schreiber, S. B.; Bozell, J. J.; Hayes, D. G. & Zivanovic, S. - *Food Hydrocoll.*, **33**, p.207 (2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.006>
- Labuza, T. P. & Breene, W. M. - *J. Food Process. Preserv.*, **13**, p.1 (1989). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4549.1989.tb00090.x>
- Gontard, N.; Guilbert, S. & Cuq, J. L. - *J. Food Sci.*, **57**, p.190 (1992). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x>
- Monterrey, E. S. & Sobral, P. J. A. - *Cienc. Tecnol. Aliment.*, **19**, p.294 (1999).
- Gennadios, A.; Mchugh T. H.; Weller, C. L. & Krochta, J. M. Technomic Publishing Co, Inc. Lancaster USA, (1993).
- Lin, S.-J. & Pascall, M. A. - *Food Hydrocoll.* (2013). In Press.
- Chang, P.R.; Jian, R.; Yu, J. & Ma, X. - *Food Chem.*, **120**, p.736 (2010). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.002>
- Moura, M. R.; Aouada, F. A.; Mattoso, L. H. C.; Zucolotto, V. - *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **13**, p.1946 (2013). PMID:23755626.
- Moura, M. R.; Aouada, F. A.; Zucolotto, V. & Mattoso, L. H. C. - *Polym. - Plastics Technol. Eng.*, **50**, p.1323 (2011).
- Rhim, J. W.; Wang, L. F. & Hong, S. I. - *Food Hydrocoll.*, **33**, p.327 (2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.002>

Enviado: Ago. 5, 2013

Reenviado: Jan. 24, 2014

Aceito: Mar. 10, 2014