



13º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS



NATAL - RN
18 a 22 de outubro de 2015

GELATINA DE PELE DE TILÁPIA: ALTERNATIVA PARA OBTENÇÃO DE FILMES COM PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA POR INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Maria do Livramento L. Rodrigues ^{1*}(D), Natália da R. Pires ¹(D), André Luís S. Pereira ¹(D), Niedja F. Vasconcelos ¹(D), Gabriela I. Figueiredo ¹(M), Maria Karolina de A. Barroso ¹(IC), Bruna S. das Chagas ¹(IC), Judith P. de A. Feitosa ¹, Men de Sá M. de S. Filho ², Maria de Fatima Borges ²

1 - Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza – CE, marialinhares@hotmail.com

2 – Embrapa Agroindústria Tropical – CNPAT, Fortaleza – CE

Resumo: Uma alternativa de valorização de resíduos da indústria de pescado é a produção de gelatina, visando à formação de filmes para embalagem de alimentos. Porém, o desafio é obter filmes com propriedades antimicrobianas. Para isso, empregou-se nanopartículas de prata sintetizadas por um processo verde, a fim de minimizar esta limitação. A gelatina foi obtida por desnaturação do colágeno. Os filmes foram obtidos por *casting* após a formação das nanopartículas de prata pelo método *in situ*. A caracterização da gelatina foi feita por Força de Gel, Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Análise Termogravimétrica (TGA). Os filmes foram obtidos nas concentrações de AgNO₃ de 0, 45, 90 e 180 mmol.L⁻¹ e caracterizados por: Espectroscopia de Ultravioleta/Visível, Permeabilidade ao Vapor de Água e Atividade Antimicrobiana.

Palavras-chave: Gelatina, Filmes, Nanopartículas de prata.

Tilapia skin Gelatin: Alternative for obtaining films with antimicrobial property by nanosilver incorporation

Abstract

A waste recovery alternative in the fish industry is the production of gelatin, aiming the preparation films for food packaging. However, the challenge is to obtain films with antimicrobial properties. For this, it was used nanosilver synthesized by a green process, aiming minimize this limitation. The gelatin was obtained by denaturation collagen. The films were obtained by *casting* after the formation of nanosilver by *in situ* method. Characterization of the gelatin was carried out by Gel Strength, Spectroscopy Infrared Region with Fourier Transform (FTIR) and thermogravimetric analysis (TGA). The films were obtained in the concentration AgNO₃ 0, 45, 90 and 180 mmol.L⁻¹. The films were characterized by ultraviolet – visible spectroscopy, permeability to water vapor and antimicrobial activity.

Keywords: *Gelatin. Films, nanosilver.*

Introdução

Dentre as inúmeras espécies da aquicultura brasileira, a tilápia do Nilo é aquela que apresenta maior destaque, devido a sua elevada produção. O rendimento médio em filé da tilápia é de aproximadamente 30%, e os 70% restantes são resíduos [1]. Com isso, como uma alternativa para aproveitar os resíduos de pescados tem-se a extração de colágeno e gelatina [3]. O colágeno é uma proteína fibrosa constituinte de pele, ossos e de outros tecidos conjuntivos em animais. A gelatina, um biopolímero obtido a partir da hidrólise do colágeno [4] com capacidade de formar filmes, pode ser aplicada em embalagens para o armazenamento de alimentos [5]. Porém, a contaminação microbiana reduz a vida útil dos alimentos, aumentando os riscos de infecções de origem alimentar. Com isso, sistemas de embalagem ativa para alimentos estão sendo utilizados para aumentar a vida de prateleira, sendo a embalagem antimicrobiana uma alternativa promissora para este fim [6]. Nanopartículas de prata (NPAg) têm recebido atenção especial na indústria de embalagens de alimentos, devido a sua notável ação antimicrobiana contra agentes patogênicos em

alimentos [6], e por possuir atividade antibacteriana de grande espectro, incluindo àquelas que são resistentes a antibióticos [7].

Com base nesse contexto verifica-se, como oportunidade para ações de pesquisa, realização de estudos para elaboração, caracterização e avaliação de filmes de gelatina obtida a partir do resíduo (pele) do beneficiamento de tilápia incorporados com nanopartículas de prata.

Experimental

*Extração de gelatina a partir das peles de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)*

Inicialmente, as peles de pescado foram desmineralizadas com HCl 1 mol.L⁻¹. Em seguida, as peles foram tratadas com NaOH 0,1 mol.L⁻¹. Por fim, as peles foram misturadas com ácido acético 0,1 mol.L⁻¹. Os pré-tratamentos foram realizados na proporção de 1:5 pele/solução, durante 1 hora, sob agitação constante. Entre cada etapa do pré-tratamento, o material foi neutralizado e lavado com água destilada para a remoção de sal. As peles pré-tratadas foram misturadas com água destilada na proporção de 1:5, 60 °C, sob agitação, por 2 horas. Finalmente, o material foi tratado com resina de troca iônica mista, rotavaporado, filtrado e liofilizado.

Síntese das Nanopartículas de prata (NPAGs) e preparação dos filmes

As NPAGs foram sintetizadas utilizando uma solução de gelatina 3% (m/v), sob agitação por 30 minutos à 40°C. O pH da solução de gelatina foi ajustado para 11 e mantida sob agitação a 90°C por 30 minutos, em seguida 1 mL de AgNO₃ em diferentes concentrações (0, 45, 90 e 180 mmol.L⁻¹) foi adicionado à solução com o sistema a 90°C por 1 h. A solução foi neutralizada e dialisada contra água em uma membrana de diálise por 24 h. Na preparação dos filmes, utilizou-se a técnica de *casting* (deposição), obtendo-se quatro formulações: gel, gel-NPAG 45 mmol.L⁻¹, gel-NPAG 90 mmol.L⁻¹ e gel-NPAG 180 mmol.L⁻¹. Adicionou-se glicerol 20% (em relação ao peso da gelatina) e agitou-se durante 30 minutos. As soluções filmogênicas obtidas foram depositadas sobre placas de vidro (30 x 30 cm) cobertas por superfície de poliéster (Mylar®), puxadas com o auxílio de uma barra de alumínio na espessura de 1,5 mm, e mantidas a 35°C, em uma estufa de circulação de ar, por 24 horas para secagem do filme.

Resultados e Discussão

Caracterização da gelatina de pele de Tilápia do Nilo

Força de gel

A análise de força de gel foi medida em um analisador de textura (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, Inglaterra) modelo TA-XTplus, com uma concentração de 6,67%, e é uma propriedade funcional importante da gelatina, uma vez que está diretamente relacionada com sua resistência [1]. A força de gel encontrada para a gelatina de pele de tilápia foi de 747 g. As gelatinas comerciais podem ter força de gel que variam de baixo Bloom (<150), médio Bloom (150-220) e alto Bloom (>220) [8]. A gelatina apresentou força de gel alta, com alto Bloom.

Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos utilizando um espectrofotômetro da marca Varian, modelo FT-IR, na faixa de comprimento de onda entre 400-4000cm⁻¹, em pastilhas de KBr para a gelatina e em ATR para os filmes. Observou-se no espectro de FTIR (Fig. 1) uma banda referente à amida A em 3285 cm⁻¹, vibração de estiramento N-H [9]. Uma banda em 2930 cm⁻¹, referente ao estiramento CH₂, denominado, por convenção, amida B. Amida I foi observada em 1626 cm⁻¹, atribuída ao estiramento C=O dos grupos peptídeos [10]. Amida II, observada em 1535 cm⁻¹, é característica de modos vibracionais atribuídos a uma combinação fora de fase de deformação NH no plano acoplado com estiramento CN [11-12]. Amida III, em 1234 cm⁻¹ representa as vibrações no plano dos grupos C-N e N-H a partir das

ligações das amidas ou vibrações dos grupos CH₂ da glicina [13] e das cadeias laterais do aminoácido prolina [14], sendo sensível a alterações na estrutura secundária do colágeno. Os grupos N-H e COOH na estrutura da gelatina são ligantes ou sítios de ligação que podem reduzir a Ag⁺, formando complexos metálicos através da ação quelante da gelatina. Esses grupos atuam como agente estabilizante, impedindo a agregação das partículas [15].

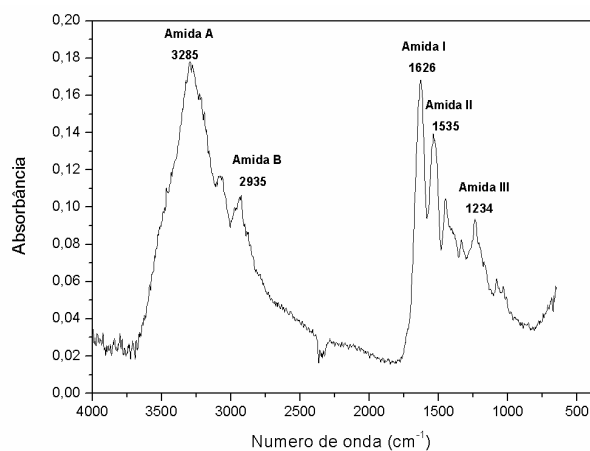


Figura 1: Espectro de FTIR para a gelatina de pele de Tilápia do Nilo.

Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise de TGA foi avaliada em um analisador termogravimétrico da marca Perkin Elmer modelo STA 6000, em atmosfera de ar sintético, com taxa de fluxo de 50mL/min. A faixa de temperatura foi a partir de 25-800°C. A curva de TGA, apresentada na Fig. 2 revela o comportamento da degradação térmica da gelatina. Observa-se que a decomposição térmica ocorre em dois eventos. O primeiro evento inicia-se a uma temperatura de aproximadamente 51°C até 122°C ($\Delta m_1=4,9\%$), provavelmente associado à perda de água livre e ligada presente na gelatina. A segunda perda de massa ($\Delta m_2= 44,6\%$) inicia-se à temperatura de 222°C, terminando na temperatura de 416°C, e está associada à degradação da cadeia principal da gelatina. Esse evento apresenta T_{máx} de decomposição em 305°C, que pode ser atribuído à ruptura térmica das ligações peptídicas da cadeia principal da gelatina [16].

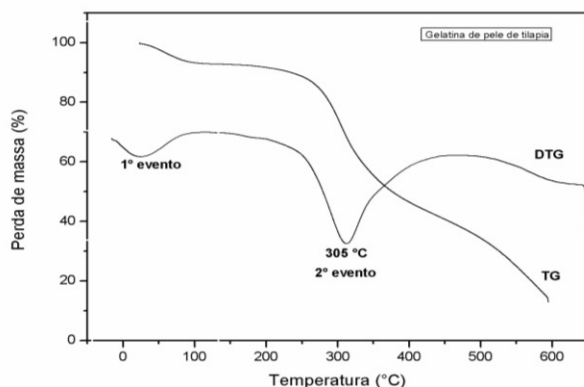


Figura 2: Gráfico de TGA para a gelatina de pele de Tilápia do Nilo

Caracterização dos filmes

Espectroscopia no UV-Visível

As análises de UV-Vis foram realizadas em espectrofotômetro de UV-Vis Shimadzu UV-2450, utilizando esfera integradora ISR-2200. A absorbância dos filmes foi lida na faixa de 300-800 nm.

A Fig. 3 mostra o gráfico de UV-Vis para os filmes de Gel-NPAg. O filme de gelatina não apresentou nenhum tipo de absorção no intervalo de 300 a 600 nm. Isso era esperado devido a ausência de NPAg no filme. Essa tendência também é observada para o filme Gel-NPAg 45, devido a baixa concentração de prata utilizada, não ocorrendo a absorção. Esse resultado é condizente com o resultado da atividade antimicrobiana, onde o filme de menor concentração não apresentou atividade. Os filmes Gel-NPAg 90 e Gel-NPAg 180 apresentaram uma banda de absorção em torno de 420 nm, e essa banda é mais acentuada com uma maior concentração de prata. A metodologia *in situ* para a síntese verde de nanopartículas de prata foi eficaz para a formação de NPAg, posto que as nanopartículas de prata absorvem radiação na região do visível do espectro eletromagnético no comprimento de onda entre 380 e 450 nm [17].

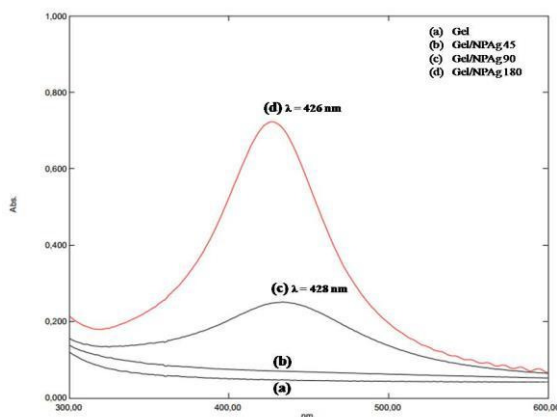


Figura 3: Espectro de UV-Vis para os filmes.

Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

A análise de PVA foi realizada através do método gravimétrico ASTM E96-00 (ASTM, 200). Foram cortadas oito amostras de cada filme e medida sua espessura em um micrômetro digital em oito pontos diferentes dos filmes. Os valores de PVA, apresentado na Fig. 4 foram de: 0.801, 0.705 e 0.700 para os filmes Gel, Gel/NPAg 45 e Gel/NPAg 90, respectivamente. Não foi possível determinar a PVA para o filme Gel/NPAg 180, pois ele apresentou-se quebradiço, e com a montagem das células todos os filmes se desfaziam apenas com o vapor da água. Isso pode ter ocorrido devido a elevada quantidade de NPAg formadas na interface do filme, tornando os filmes quebradiços. A alta hidrofiliçidade dos filmes deve-se à alta polaridade da gelatina, favorecendo a permeação de água. Esta é uma das limitações dos filmes protéicos como materiais de embalagem de alimentos [18].

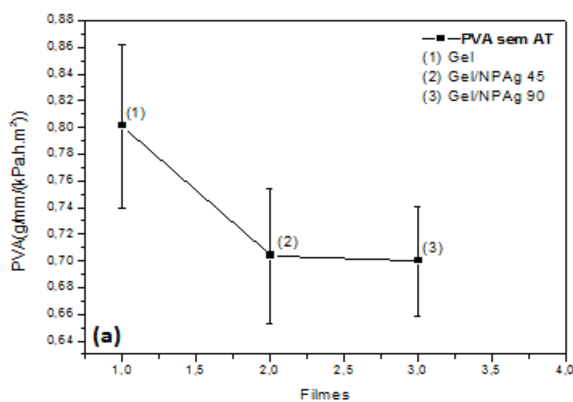


Figura 4: Gráfico de PVA para os filmes.

Atividade antimicrobiana

Utilizou-se os patógenos, *S. Aureus* (Gram-positiva), *E. Coli* (Gram-negativa) e uma levedura, *S. cerevisiae*. Como mostra a Fig. 5, as películas de Gel e de Gel-NPAg 45 mmol.L⁻¹ não apresentaram atividade bactericida e bacteriostática para nenhuma espécie. A inatividade da película de Gel-NPAg 45 mmol.L⁻¹ deve estar associada à baixa formação de NPAg, tendo em vista que não houve absorção na região do visível no comprimento de onda de aproximadamente 400 nm. Já as películas Gel/NPAg 90 e 180 mmol.L⁻¹ apresentaram atividade bacteriostática para o patógeno *E. coli* e bactericida para *S. aureus*, sendo os filmes mais eficientes para o patógeno *S. aureus*. Os filmes não apresentaram atividade inibidora para a levedura *S. cerevisiae*.

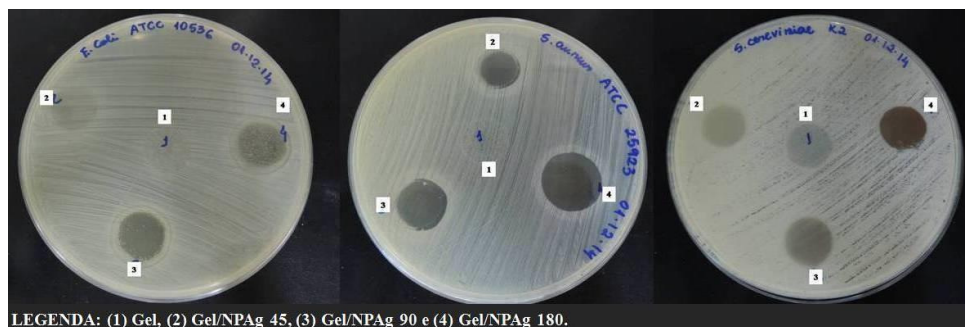


Figura 5: Atividade antimicrobiana para os patógenos: E.coli, S. aureus e S. cerevisiae.

Conclusões

Foi possível obter nanopartículas de prata pelo processo verde, utilizando gelatina de pele de tilápia do Nilo como agente redutor e estabilizante, bem como obter filmes incorporados com NPAg com atividade antibacteriana.

Agradecimentos

A Universidade Federal do Ceará, Capes e Embrapa Agroindústria Tropical.

Referências Bibliográficas

1. A. C. Bordignon, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Maringá, 2010.
2. R. S. G. Silva; S. F. Bandeira; F. C. Petry; L. A. A. Pinto *Cienc. Rural*, 2011, 5, 41.
3. Y. A. Arfat; S. Benjakul; T. Prodpran; K. Osako *Food Hydrocolloid.*, 2014, 39.
4. M. Nagarajan; S. Benjakul; T. Prodpran; P. Songtipya *Food Hydrocolloid.*, 2013, 32, 2.
5. P. Kanmani; J. W. Rhim *Food Hydrocolloid.*, 2014, 35.
6. L. Guo; W. Yuan; Z. Lu; C. M. Li *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2013, 439.
7. M. H. Norziah; H. Y. Kee; M. Norita *Food Bioscience*. 2014, 5.
8. P. Kaewruang; S. Benjakul; T. Prodpran *Food Chem*. 2014, 146.
10. M. Nagarajan; S. Benjakul; T. Prodpran; P. Songtipya; H. Kishimura *Food Hydro*. 2012, 29, 2.
11. A. Barth *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2007, 1767, 9.
12. S. Sinthusamran; S. Benjakul; H. Kishimura *Food Chem*. 2014, 152.
13. J. Wu; S. Chen; S. Ge; J. Miao; J. Li; Q. Zhang *Food Hydrocolloid*. 2013, 32, 1.
14. M. Jackson; L. P. Choo; P. H. Watson; W. C. Halliday; H. H. Mantsch *Biochimica et Biophysica Acta*. 1995, 1270, 1.
15. M. Yazdimaghani; D. Vashae; S. Assefa; M. Shabrangharehdasht; A. T. Rad; M. A. Eastman; K. J. Walker; S. V. Madihally; G. A. Köhler; L. Tayeb *Mat Scien and Eng: C*, 2014, 39.
16. J. F. Martucci; R. A. Ruseckaite *J of Food Eng*. 2010, 99, 3.
18. M. A. Cerqueira; B. W. S. Souza; J. Simões; J. A. Teixeira; M. R. M. Domingues; M. A. Coimbra; A. A. Vicente *Carbohydrate Polymers*. 2011, 83, 1.