

## EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE EM FILMES DE GELATINA ADICIONADOS DE ANTIOXIDANTE

**Felipe H. Kraide, Patrícia Y. Inamura e Nélida L. del Mastro**

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)  
Av. Professor Lineu Prestes 2242  
05508-000 São Paulo, SP  
[nlmastro@ipen.br](mailto:nlmastro@ipen.br)

### ABSTRACT

Certos polímeros biodegradáveis formam filmes com propriedades adequadas para várias aplicações. Entre os polímeros, as proteínas são conhecidas pelo seu uso em revestimentos, cápsulas na indústria farmacêutica e alimentícia, adesivos, surfactantes e artigos plásticos. A gelatina, proteína de origem natural obtida a partir da hidrólise parcial do colágeno, apresenta a habilidade de formar um gel termoreversível e é uma das principais proteínas utilizadas pela indústria farmacêutica e de alimentos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da radiação ionizante nos filmes de gelatina na presença de antioxidante. Soluções de gelatina (15%), glicerina e álcool polivinílico com e sem a adição de antioxidante foram preparados até a completa homogeneização. Os filmes foram irradiados a 20 e 40 kGy num acelerador de elétrons Dynamitron II (Radiation Dynamics Inc.), na presença de ar e a temperatura ambiente. Após a irradiação foram realizados ensaios utilizando os seguintes equipamentos: texturômetro TAXT.*plus* (Stable Micro Systems), com probe esférico (P/0.5S) e plataforma HDP/FSR, velocidade do ensaio de 2 mm/min e distância de 15 mm; colorímetro Cromameter CR 400 (Konica Minolta) e teste de absorção de água conforme a norma ASTM D-570. A coloração foi levemente alterada com o aumento da dose de radiação. O uso da radiação ionizante e a adição de antioxidante alteraram as propriedades do filme. Os resultados do teste de absorção de água mostraram que com o aumento da dose de radiação ocorreu uma redução na absorção, sugerindo que houve reticulação.

### 1. INTRODUÇÃO

A gelatina representa um material típico renovável de origem animal [1] capaz de formar filmes poliméricos. A combinação de polímeros é uma técnica para o desenvolvimento de materiais funcionais em vários domínios industriais. O desenvolvimento de filmes comestíveis a base de proteínas requer a utilização de no mínimo uma macromolécula que possa formar uma matriz contínua e que também tenha uma coesão adequada [2]. Porém, as propriedades de um filme como esse, nem sempre são as pretendidas. Nesses casos, podem ser utilizados aditivos em sua formulação tais como, antioxidantes, agentes antimicrobianos e outros tipos que possam retardar a taxa de deterioração, para que o filme possa atender melhor os requisitos exigidos.

Os biofilmes a base de gelatina e outras proteínas vêm sendo bastante utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica, agrícola, fotográfica, entre outras [3]. As propriedades desses biofilmes podem ser bastante significativas, por exemplo, eles podem controlar a migração de água em um sistema alimentício, podem oferecer uma boa barreira ao oxigênio, ao dióxido de carbono, a migração lipídica entre outros tipos de barreiras [4].

No segmento de agricultura os biofilmes podem ser utilizados como coberturas para as sementes que serão plantadas na terra, possibilitando a passagem de água do meio ambiente para a semente, controlando também a passagem de oxigênio, dois fatores importantes para sua germinação [5]. Também podem ser carreadores de nutrientes ou substâncias biológicas e químicas, importantes para o desenvolvimento da semente além de serem menos impactantes no meio ambiente. Os biofilmes normalmente são formulados a partir de proteínas, polissacarídeos e lipídios ou de uma combinação destes. Os filmes constituídos por proteínas e polissacarídeos normalmente apresentam uma alta resistência mecânica e uma permeabilidade seletiva a gases, porém são mais sensíveis a umidade; e os elaborados apenas com lipídios são mais resistentes a passagem de água porém são opacos e quebradiços, então quando misturados esses dois componentes pode-se ter um equilíbrio melhor nas propriedades do filme [6].

A gelatina é uma proteína derivada da desnaturação do colágeno, que está presente em cartilagens, ossos ou pele de mamíferos. As propriedades de filmes de gelatina são influenciadas diretamente pela idade do animal e o tipo de colágeno; normalmente são utilizados tecidos suínos ou bovinos [7]. O peso ou massa molecular da gelatina está na faixa de 65.000 a 300.000 g mol<sup>-1</sup>, dependendo do grau de desnaturação e é especialmente rica em glicina, 4-hidroxiprolina e prolina [8]. O estado conformacional da gelatina desidratada obtida por “casting” a partir de soluções aquosas difere caso o solvente seja evaporado a temperatura ambiente ou inferior, ou em temperaturas acima de 35 °C [8, 9, 10], devido às pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas [11].

As propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina podem ser melhoradas utilizando aditivos, tais como polióis ou carboidratos de alto peso molecular, como amido e quitosana [12]. Outra maneira de modificar as propriedades da gelatina é a aplicação de tratamento por radiação ionizante, que pode degradar ou reticular o polímero produzindo modificações estruturais [13]. O presente trabalho tem como objetivo estudar as propriedades de filmes a base de gelatina tratada com radiação ionizante na presença de antioxidante.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Material**

Gelatina de origem bovina fornecida por GELITA do Brasil Ltda, 240 Bloom/10 mesh, lot: LF22340 09, glicerina PA ACS, cod. 15375, proveniente da Casa Americana de Art. Lab. Ltda (CAAL), polivinil álcool (PVA), 40/88, proveniente da Clariant e Butilhidroxitolueno (BHT), CAS: 128-37-0, fornecido pela Quiminvest.

### **2.2. Preparo do Filme**

Foram utilizados 10% de gelatina, seguida da adição do plastificante glicerina, 5% PVA em água destilada, homogeneizados em banho-maria até sua total dissolução. Após esfriar até a temperatura ambiente, foi adicionado o BHT. A amostra com adição de antioxidante foi homogeneizada e foram colocadas em placas de petri. Todas as amostras, com e sem antioxidante, foram mantidas em estufa com circulação de ar a 30,0±0,1 °C por 24h.

### 2.3. Irradiação por Feixe de Elétrons

As amostras de filme de gelatina com e sem BHT foram irradiadas utilizando o acelerador de elétrons (Dynamitron II, Radiation Dynamics Inc.), temperatura ambiente, na presença de ar, com taxa de dose de 22,42 kGy/s, energia 0,552 MeV, corrente de feixe de 3,22 mA, velocidade da esteira de 6,72 m/min, aplicando uma dose de 20 e 40 kGy. A dosimetria foi realizada em dosímetros de filme de celulose triacetato “CTA-FTR-125” da Fuji Photo Film Co. Ltd. Após a irradiação, as amostras foram mantidas em estufa a  $25,0 \pm 0,1$  °C e umidade relativa de 60%.

### 2.4. Teste de Ruptura do Filme

A resistência à tração dos filmes foi medida pelo analisador de textura “Texture Analyzer” da Stable Micro Systems, modelo TA-XTPlus com célula carga de 50 kg. Um suporte para filme (HDP/FSR) e probe esférico de aço inoxidável (P/0.5S) foram utilizados para os ensaios em uma velocidade de 0,5 mm/s.

### 2.5. Determinação de Cor

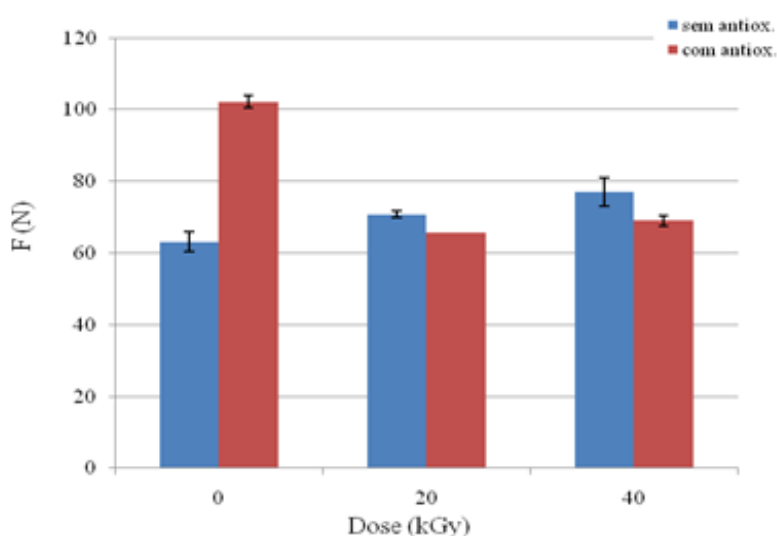
Para avaliar possíveis alterações de cor dos filmes de gelatina foi utilizado o colorímetro Konica Minolta Chroma Meter CR-400, placa branco padrão de calibração CR-A43, sistema Hunter Lab, previamente calibrado.

### 2.6. Teste de absorção de água

O teste de absorção de água foi realizado de acordo com a norma ASTM D 570.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de textura das amostras irradiadas de gelatina foi estudada a resistência à tração determinando a força máxima de ruptura do filme (Fig. 1).



**Figura 1. Força máxima de ruptura dos filmes de gelatina, controle e irradiadas, com adição de BHT e puro.**

A melhoria da resistência à tração com o aumento da dose de radiação já tinha sido detectada em sistemas similares [14]. Por sua vez, Cataldo et al. [15] descreveu que o colágeno de gelatina derivado de pele suína quando reticulado por radiação se transforma em um hidrogel estável. Contudo, o controle da formação de biofilmes é uma meta que ainda não foi alcançada em muitos aspectos [16].

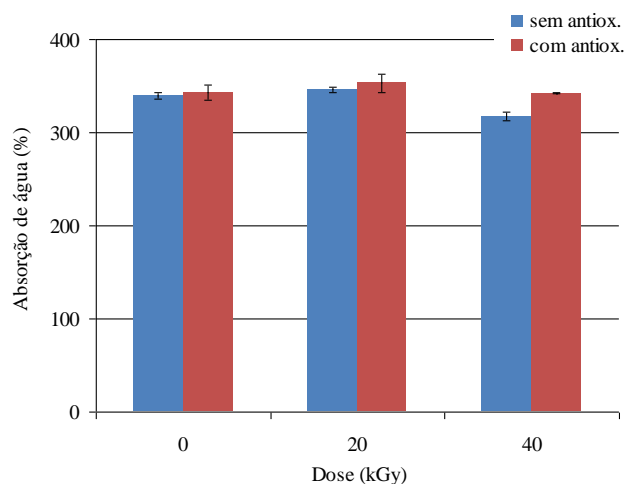
Os resultados de determinação de cor dos parâmetros L (luminosidade) e b (amarelo versus azul) dos filmes de gelatina e adicionados de BHT estão apresentados na Tabela 1. Esses resultados indicam que o filme sofreu alteração do parâmetro b, amarelamento, com o aumento da dose de radiação de acordo com a Análise de Variância ANOVA, seguido do teste de Dunnet aplicado. Já no parâmetro L (luminosidade) não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as amostras controle e irradiadas, a um nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

**Tabela 1. Medidas de cor dos filmes de gelatina puro e com antioxidante BHT.**

	Dose (kGy)	L	b
Puro	0	95.14±0.35 <sup>a</sup>	5.59±0.26 <sup>a</sup>
	20	95.39±0.50 <sup>a</sup>	6.31±0.44 <sup>ba</sup>
	40	94.40±0.39 <sup>a</sup>	7.83±0.40 <sup>c</sup>
com BHT	0	95.59±0.06 <sup>a</sup>	6.38±0.10 <sup>a</sup>
	20	94.53±0.43 <sup>b</sup>	7.18±0.45 <sup>d</sup>
	40	94.55±0.33 <sup>b</sup>	8.12±0.17 <sup>c</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras distintas na vertical indicam diferença significativa pelo teste de Dunnet ( $p < 0,05$ ) para dados com distribuição normal.

Foram realizados testes de intumescimento dos filmes de gelatina, puro e com adição de BHT, em diferentes doses de radiação (Fig. 2). Pode-se notar uma variação na quantidade de água absorvida pelos filmes, analisando os resultados. Com o aumento da dose de radiação a quantidade de água absorvida diminuiu. Também é possível observar que os filmes sem antioxidante, puro, absorveram menos água que os acrescidos de BHT.



**Fig. 2 Intumescimento dos filmes de gelatina, controle e irradiadas, com e sem adição de BHT**

### 3. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com os filmes preparados com gelatina sugerem que houve um certo grau de reticulação induzida pela radiação, bem como, alterações na cor. Houve também influência nos resultados da presença do antioxidante utilizado neste estudo. A força de ruptura do filme aumentou com o aumento da dose de radiação para a amostra pura de 63,09 a 77,02 N. A alteração de cor não foi estatisticamente significativa entre as amostras pura e com BHT para o parâmetro L,  $95.14 \pm 0.35$  e  $95.59 \pm 0.06$ . E para o parâmetro b, pode-se observar um leve amarelamento dos filmes com o aumento da dose de radiação e adição de BHT, de  $7.83 \pm 0.40$  e  $8.12 \pm 0.17$ , respectivamente a 40 kGy.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração de Eng. Elizabeth S.R. e Eng. Carlos Gaia da Silveira na irradiação das amostras. O apoio do PIBIC, CAPES e CNPq também é reconhecido.

### REFERENCES

1. Khan, M. A., Rahman, N., Rahman, M. "Preparation and characterization of gamma radiation cured gelatin-PVA bio-blend", *Advanced Materials Research*, **123** – **125**, pp. 347-350 (2010).
2. Gontard, N., Guilbert S., Cuq J. L., "Water and glycerol as plasticizers effect mechanical and watter vapor barrier properties of an edible wheat gluten film", *J. Agric Food Chem.*, **58**, pp. 206-211 (1993).
3. Bigi, A., Borghu, M., Fichera, A.M., Panzavolta, S., Roveri, N., "Structural and mechanical properties of crosslinked drawn gelatin films". *J. Therm. Anal. Calorim.*, **61**, pp. 451–459 (2000).

4. McHugh, T. H., Krochta, J. M. “Milk-protein-based edible films and coating”, *Food Technology*, **48**, pp. 97-103 (1994).
5. Dadlani, M., Shenoy, V.V., Seshu, D. V., “Seed coating to improve stand establishment in rice”, *Seed Science and Technology*, **20**, pp. 307-313 (1992).
6. Batista, J. A., Tanada-Palmu, P. S., Grosso, C. R. F., “Efeito da adição de ácidos graxos em filmes a base de pectina”. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, **25**, pp. 781-788 (2005).
7. Gómez-Guillén M.C., Giménez B., López-Caballero M.E., Montero M.P., “Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review”, *Food Hydrocolloids*, doi:10.1016/j.foodhyd.2011.02.007 (2011)
8. Fakirov, S., Bhattacharyya, D., “Handbook of Engineering Biopolymers, Homopolymers, Blends and Composites”, Carl Hanser Verlag, Munich. (2007).
9. Menegalli, F., Sobral, P., Roques, M., Laurent, S., “Characteristics of gelatin biofilms in relation to drying process conditions near melting”, *Dry. Technol*, **17**, pp. 1697-1706 (1999).
10. Fraga, A. N., Willians, R. J. J., “Thermal properties of gelatin films”, *Polymer*, **26**, pp. 113–118 (1985).
11. Karnnet, S., Potiyaraj, P., Pimpan, V., “Preparation and properties of biodegradable stearic acid-modified gelatin films”, *Polym. Degrad. Stabil.* **90**, pp. 106–110 (2005).
12. Vanin, F. M., Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Carvalho, R. A., Habitante, A. M. Q. B., “Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films”, *Food Hydrocolloids*, **19**, pp. 899–907 (2005)
13. Buchalla R., Schuttler C., Bogl, K. W., “Effect of ionizing radiation on plastic food packaging materials”, *J. Food Prot.*, **56**, pp. 991-997 (1993).
14. Inamura, P. Y., Shimazaki, K., Souza, C. M., Colombo, M. A., Moura, E. A. B., Mastro, N. L., “Electron beam effects on gelatin polymer”. Proceedings of the 2009 International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2009, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, CDROM, 5p. (2009).
15. Cataldo, F., Ursini, O., Lilla, E., Angelini, G., “Radiation-induced crosslinking of collagen gelatin into a stable hydrogel”, *J. Radioanalytical Chemistry*, **275**, pp. 125-131, (2008).
16. Schmitt, Y., Hähl, H., Gilow, C., Mantz, H., Jacobs, K., Leidinger, O., Bellion, M., Santen, L., “Structural evolution of protein-biofilms: Simulations and experiments,” *Biomicrofluidics*, doi:10.1063/1.3488672, (2010).