

Área: Ciência de Alimentos

COMPORTAMENTO TÉRMICO DE MATRIZ POROSA DE GELATINA RETICULADA

**Elionio Galvão Frota*, Kátia Bitencourt Sartor,
Jeferson Steffanello Piccin, Luciane Maria Colla**

Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS

**E-mail: elioniofrota@hotmail.com*

RESUMO – Neste trabalho, descrevemos a preparação de um suporte de gelatina baseado no método de formação de espuma por aeração. O biopolímero foi submetido a reticulação com glutaraldeído a fim de aumentar estabilidade. O efeito da concentração de glutaraldeído, sobre a estrutura e propriedades térmicas do suporte foram estudados por meio da calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os termogramas mostram que conforme a concentração do agente de reticulação aumenta as propriedades térmicas das amostras são melhoras. A temperatura de fusão do polímero apresentou ligeira alteração devido a reticulação. No entanto, os deslocamentos associados à temperatura de isomerização são mais expressivos, o que confirmam a reticulação da matriz polimérica.

Palavras-chave: Biopolímero, Glutaraldeído, Calorimetria diferencial exploratória.

1 INTRODUÇÃO

A gelatina, produto da hidrólise parcial do colágeno, é um biopolímero solúvel em água que apresenta vantagens como biodegradabilidade, não toxicidade, biocompatibilidade e baixo custo. As aplicações de gelatina em indústrias de alimentos, farmacêutica e fotográfica são geralmente atribuídas à sua boa capacidade de formar filmes e espumas. No entanto, essas aplicações podem ser dificultadas devido à sua alta higroscopicidade e propriedades mecânicas relativamente precárias (GÓMEZ-GUILLEN et al., 2011; QIAO et al., 2017)

Devido às limitações do biopolímero, para a sua aplicação como suporte é necessária realizar o processo de reticulação das cadeias poliméricas. O glutaraldeído (GTA) tem sido amplamente utilizado como um agente de reticulação para materiais baseados em colágeno (PENG; GLATTAUER; RAMSHAW, 2017). A reticulação química de gelatina com GTA envolve a reação de grupos ϵ -amino da lisina ou arginina das cadeias polipeptídicas com grupos aldeídos do agente de reticulação levando à formação de bases de Schiff C=N (ligação de imina), sendo tipicamente associada a uma mudança de cor de branco para amarelo pálido (CORREIA et al., 2013; PATEL et al., 2018).

O aumento da concentração de GTA, tem sido relatado por conduzir ao maior grau de reticulação da rede de hidrogel de gelatina (PAN et al., 2016; SAARAI et al., 2013) proporcionando moléculas mais rígidas com estruturas menos ordenadas (CORREIA et al., 2013). Assim o objetivo desse trabalho foi determinar o impacto da

reticulação com glutaraldeído no comportamento térmico de uma matriz porosa de gelatina através da técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo e reticulação do suporte

O suporte de gelatina foi preparado de acordo com a metodologia de formação por gás descrita por Poursamar et al., (2016) com modificações em que uma solução aquosa de gelatina a 20% (m/v) foi preparada por dissolução da quantidade apropriada de gelatina em solução tampão fosfato 0,2 mol L⁻¹ a 50 °C e pH 5,5.

A solução de gelatina foi então aerada em agitador mecânico tipo turrax (Tecnal, Turratec TE-102) a 14.000 rpm por 10 minutos. Posteriormente a solução aerada foi moldada, até uma altura de 5 mm, em placas de Petri previamente resfriadas que foram transferidas para um congelador (-20 °C) durante 5 min até sua completa solidificação. As amostras solidificadas foram então removidas dos moldes e cortadas em 1,5 mm de aresta.

O imobilizado obtido foi reticulado por imersão em solução de GTA nas concentrações de 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1% (designadas por GG seguidos da concentração usada). Em seguida as amostras foram triplamente lavadas com solução tampão e armazenadas a 4 °C.

2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os dados relativos ao comportamento térmico das amostras foram obtidos usando DSC (SHIMADZU, DSC-60) em atmosfera inerte de nitrogênio a uma taxa de purga de 50 mL min⁻¹. Após a calibração do instrumento usando índio como padrão ($\Delta H_f = 28,4 \text{ J g}^{-1}$ e $T_f = 156,6 \text{ °C}$), as amostras de imobilizados (2 a 5 mg) foram seladas hermeticamente em cadinhos de alumínio e aquecidas a uma razão de 10 °C min⁻¹ na faixa de temperatura entre 25 a 300 °C utilizando um cadinho vazio idêntico ao utilizado na amostra como referência. Os cálculos de entalpia e as temperaturas de transição foram analisados usando o software Universal Analysis da TA Instruments.

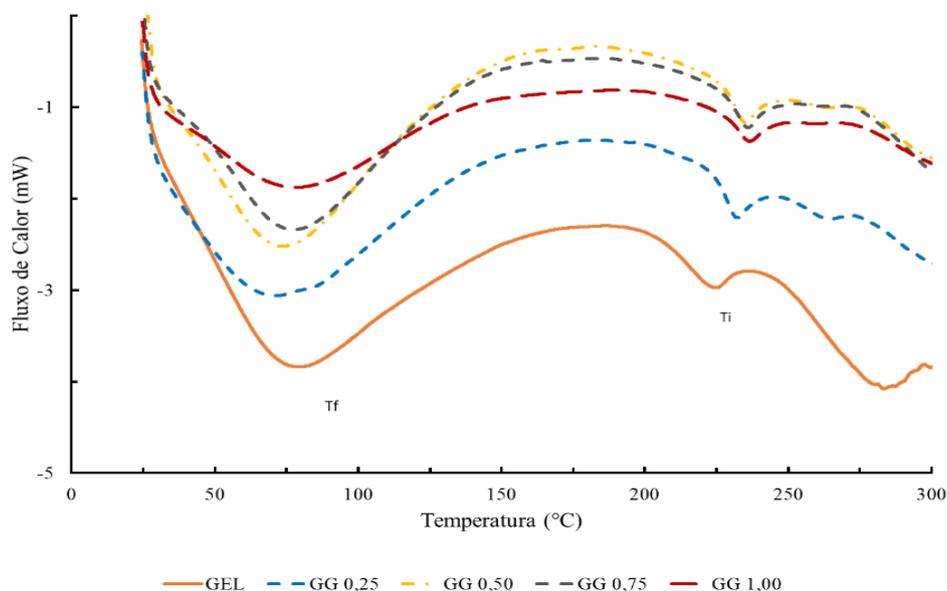
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As varreduras realizadas nas amostras, controle e suporte, com diferentes graus de modificação são mostradas na Figura 1. Para as amostras de suporte reticulado observa-se um comportamento semelhante ao da gelatina não modificada, indicando que a reticulação não influenciou as propriedades térmicas da gelatina, Tabela 1.

Os termogramas do suporte reticulado apresentam dois eventos principais: um pico endotérmico inicial, e um pico secundário. De acordo com a literatura (CORREIA et al., 2013; MUKHERJEE; ROSOLEN, 2013; PEÑA et al., 2010) a varredura do primeiro aquecimento na gelatina mostra um grande pico endotérmico (variando de 50 °C a 180 °C) relacionado à sobreposição de duas transições de primeira ordem, evaporação da água (T_e) e transição de fusão das zonas de domínio cristalino (T_f), respectivamente. Além disso, o pequeno pico endotérmico

variando de 180 a 250 °C é atribuído à transição de primeira ordem (T_i), uma consequência do processo de isomerização das ligações peptídicas que constituem as hélices da gelatina (SALERNO et al., 2018).

Figura 1 - Comportamento térmico do suporte de gelatina frente a reticulação com diferentes concentrações de glutaraldeído.



A estrutura da gelatina é geralmente descrita como tendo fases amorfas e cristalinas. Durante o aquecimento da gelatina o calor transfere energia para suas moléculas e induz mudanças estruturais, como a transição vítrea da fase amorfa e a fusão dos cristais. Quando a temperatura aumenta, a fase cristalina, atribuída à hélices triplas (COPPOLA; DJABOUROV; FERRAND, 2012), derrete a uma temperatura de fusão (T_f), associada ao primeiro pico endotérmico, e a energia necessária para esta fusão é denominada entalpia de fusão ($\Delta H \text{ J g}^{-1}$) (DÍAZ-CALDERÓN et al., 2014). Conforme a temperatura continua a aumentar, as cadeias de gelatina, com arranjo espacial em hélices simples, absorverão energia suficiente para passar do seu estado de conformação *trans* (mais estável) para o estado de conformação *cis* (menos estável). Isso é devido ao seu rico conteúdo de prolina. Esta isomerização requer energia fornecida em temperaturas elevadas, em torno de 200 °C (DUCONSEILLE et al., 2017). De acordo com a Tabela 1, as amostras apresentaram um aumento sutil da temperatura de fusão (T_f) conforme a concentração do agente de reticulação aumentou, sugerindo que o glutaraldeído atuou reforçando a estrutura do polímero. Relatos na literatura mostram que a T_f dependeu do grau de reticulação da estrutura polimérica (JALAJA et al., 2015, p. 201; PENG; GLATTAUER; RAMSHAW, 2017; SANTOS et al., 2018).

No entanto, aponta-se o fato de a T_f do suporte reticulado com concentrações mais baixas de glutaraldeído foi inferior ao da referência, o que denota menor estabilidade por parte do suporte. Esse comportamento pode ser atribuído à reticulação da gelatina pelo glutaraldeído, que promove ligações cruzadas associadas a maior rigidez das moléculas e estruturas menos ordenadas. A interação proteína-proteína é, portanto, aparentemente afetada pela reticulação e diminuindo a estabilidade térmica (CORREIA et al., 2013).

O segundo pico endotérmico, associado à temperatura de isomerização (T_i) das amostras se deslocou progressivamente com a concentração de reticulante. Além disso, teve uma redução da entalpia de isomerização (ΔH). Esses resultados sugerem a presença de interações associativas formadas localmente quando o polímero está em conformação aleatória de bobina (PEÑA et al., 2010; VARGHESE; CHELLAPPA; FATHIMA, 2014). Tais interações podem indicar que a reticulação reforça a estrutura secundária da proteína. Peña et al., (2010) ressaltam ainda que o aumento da temperatura do segundo pico endotérmico sugere a presença de reticulação devido a alteração da estrutura helicoidal característica da gelatina.

Tabela 1 Parâmetros de DSC para os suportes GG e GC.

Amostra	Evento	T_{on} °C	T_{end} °C	T_f °C	ΔH J g ⁻¹
GEL		28,88	131,06	78,60	-263,49
GG 0,25	1°	28,15	144,56	71,03	-289,78
GG 0,50		29,85	124,66	73,70	-240,94
GG 0,75		28,67	125,92	77,88	-220,01
GG 1,00		29,62	125,57	78,16	-135,97
Amostra		Evento	T_{on} °C	T_{end} °C	T_i °C
GEL		208,54	230,56	224,88	-8,21
GG 0,25	2°	226,49	238,14	232,32	-7,90
GG 0,50		228,70	240,88	235,11	-6,95
GG 0,75		229,78	242,40	236,01	-7,25
GG 1,00		230,27	244,38	236,60	-6,86

ΔH : entalpia do pico; T_{on} : temperatura de início do pico; T_{end} : temperatura de término do pico; T_f : temperatura de fusão; T_i : temperatura de isomerização (i).

A estrutura da gelatina apresenta alto grau de complexidade e é influenciada por muitos fatores. É estabilizado por diferentes tipos de ligações covalentes e sua modularidade é possível graças a numerosas interações fracas (DUCONSEILLE et al., 2017). Além disso, O grau de umidade da gelatina também influencia seu estado estrutural, porque a água atua como plastificante de estruturas de gelatina, tornando as cadeias de gelatina mais móveis, resultando em mudanças no seu comportamento térmico.

4 CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa mostram que as concentrações de glutaraldeído de até 1% não afetam a estrutura da gelatina com grandes reflexos em suas propriedades térmicas. No entanto, os dados indicam que baixas concentrações de reticulante podem afetar ligeiramente a estabilidade térmica, reduzindo o ponto de fusão da matriz. Conforme a concentração aumenta, a estruturação progressiva da matriz pelas ligações cruzadas tende a aumentar sua estabilidade. Analogamente o deslocamento da temperatura de isomerização para valores mais elevados refletem o reforço da estrutura secundária da proteína. Assim, o glutaraldeído é um agente de reticulação eficaz que pode ser explorado para o reforço da estrutura da matriz de gelatina com aplicação em diversos âmbitos.

5 AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos.

6 REFERÊNCIAS

- COPPOLA, M.; DJABOUROV, M.; FERRAND, M. Unified phase diagram of gelatin films plasticized by hydrogen bonded liquids. **Polymer**, v. 53, n. 7, p. 1483–1493, mar. 2012.
- CORREIA, D. M. et al. Thermal and hydrolytic degradation of electrospun fish gelatin membranes. **Polymer Testing**, v. 32, n. 5, p. 995–1000, ago. 2013.
- DÍAZ-CALDERÓN, P. et al. Molecular configuration of gelatin–water suspensions at low concentration. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 171–179, ago. 2014.
- DUCONSEILLE, A. et al. The effect of origin of the gelatine and ageing on the secondary structure and water dissolution. **Food Hydrocolloids**, v. 66, p. 378–388, maio 2017.
- GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, dez. 2011.
- JALAJA, K. et al. Fabrication of cationized gelatin nanofibers by electrospinning for tissue regeneration. **RSC Advances**, v. 5, n. 109, p. 89521–89530, 2015.
- MUKHERJEE, I.; ROSOLEN, M. Thermal transitions of gelatin evaluated using DSC sample pans of various seal integrities. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 114, n. 3, p. 1161–1166, 1 dez. 2013.
- PAN, T. et al. 3D Bioplotting of Gelatin/Alginate Scaffolds for Tissue Engineering: Influence of Crosslinking Degree and Pore Architecture on Physicochemical Properties. **Journal of Materials Science & Technology**, v. 32, n. 9, p. 889–900, set. 2016.
- PATEL, S. et al. Preparation and optimization of chitosan-gelatin films for sustained delivery of lupeol for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1888–1897, fev. 2018.
- PEÑA, C. et al. Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 17, p. 6836–6842, set. 2010.
- PENG, Y. Y.; GLATTAUER, V.; RAMSHAW, J. A. M. Stabilisation of Collagen Sponges by Glutaraldehyde Vapour Crosslinking. **International Journal of Biomaterials**, v. 2017, p. 1–6, 2017.
- POURSAMAR, S. A. et al. Potential application of gelatin scaffolds prepared through *in situ* gas foaming in skin tissue engineering. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 65, n. 6, p. 315–322, 12 abr. 2016.
- QIAO, C. et al. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. **Food Chemistry**, v. 235, p. 45–50, nov. 2017.
- SAARAI, A. et al. On the development and characterisation of crosslinked sodium alginate/gelatin hydrogels. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 18, p. 152–166, fev. 2013.
- SALERNO, A. et al. Hybrid gelatin-based porous materials with a tunable multiscale morphology for tissue engineering and drug delivery. **European Polymer Journal**, v. 99, p. 230–239, fev. 2018.
- SANTOS, J. P. et al. Crosslinking agents effect on gelatins from carp and tilapia skins and in their biopolymeric films. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 539, p. 184–191, fev. 2018.
- VARGHESE, J. S.; CHELLAPPA, N.; FATHIMA, N. N. Gelatin–carrageenan hydrogels: Role of pore size distribution on drug delivery process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 346–351, jan. 2014.