

XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

Degradação Enzimática de Bandejas de Espuma de Amido de Mandioca

Fernanda Stoffel¹, Eduarda Francine Weschenfelder¹, Marli Camassola², Luciani Tatsch Piemolini-Barreto¹, Mara Zeni¹

¹Universidade de Caxias do Sul – Centro de Ciências Exatas e Tecnologias
Caixa Postal 1352 – 95070-560 Caxias do Sul – RS - E-mail: fernanda.stoffel@hotmail.com

²Universidade de Caxias do Sul – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Caixa Postal 1352 – 95070-560 Caxias do Sul– RS

RESUMO

*Embalagens biopoliméricas, como as bandejas de espuma de amido de mandioca, são atrativas devido às suas características de biodegradabilidade, colaborando para a diminuição do impacto ambiental causado pelo descarte incorreto de polímeros sintéticos de fontes não renováveis. Dentre os métodos utilizados para testar a biodegradabilidade dos materiais, encontra-se a degradação enzimática. Neste trabalho, amostras de bandejas de espuma de amido de mandioca tiveram a sua degradabilidade testada mediante exposição à duas enzimas amilolíticas de origem microbiana, sendo uma delas comercial (Termamyl®) e a outra obtida em laboratório pelo cultivo de *Penicilium echinulatum* em meio líquido. A extensão da degradação foi analisada através do percentual de perda de massa e da concentração de açúcares redutores liberados. Os resultados demonstram que as embalagens foram sensíveis à ação pelas enzimas, pois observou-se aumento na concentração de açúcares redutores já nas primeiras horas de reação e percentuais de perda de massa próximos de 90%.*

Palavras-chave: espuma de amido, degradação enzimática, amilases, *Penicilium echinulatum*, perda de massa, açúcares redutores.

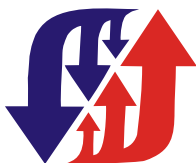
INTRODUÇÃO

O interesse por embalagens à base de materiais biodegradáveis surge da necessidade de diminuir o impacto ambiental provocado pelo descarte indevido de polímeros sintéticos de fonte não renovável (Ishiaku *et al.*, 2002; Vercelheze *et al.*, 2012). O amido é um biopolímero abundante na natureza, estudado como material alternativo para a produção de embalagens, como bandejas de espuma de amido, devido ao seu baixo custo, atoxicidade, biodegradabilidade e potencial para substituir o poli(estireno) expandido (Stoffel *et al.*, 2015). Abbasi (2012) considera a degradabilidade dos polímeros como uma funcionalidade essencial para a sua aplicação. Porém, não há método padrão oficial estabelecido para determinar a sua biodegradabilidade. Dentre os métodos utilizados na avaliação da biodegradabilidade, encontra-se a degradação enzimática (Ishiaku *et al.*, 2002). A biodegradação é um processo em que estão envolvidas reações químicas e enzimáticas provocadas por microrganismos, sendo a hidrólise uma das rotas da biodegradação (Abbasi, 2012). Diante disso, este trabalho teve como objetivo estudar a biodegradabilidade de bandejas de espuma de amido de mandioca, adicionadas do plastificante glicerol, pela ação de enzimas de origem microbiana com atividade amilolítica.

MATERIAL E MÉTODOS

Bandejas de espuma de amido de mandioca

As embalagens termoexpandidas (bandejas) a base de amido de mandioca com adição de plastificante glicerol foram processadas no Laboratório de Pesquisa em Química de Materiais da Universidade de Caxias do Sul (UCS), a partir de uma mistura contendo 47,5% (m/m) de amido de



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

mandioca tipo cetim (Valore), 52,5% (m/m) de água destilada e 5% (m/m, sob a massa de amido) de glicerol. A formulação contou ainda com 1% (m/m, sob a massa de amido) de goma guar (Danisco®) e 1% (m/m, sob a massa de amido) de estearato de magnésio (Labsynth®). As bandejas foram obtidas através do método de expansão térmica, de acordo com metodologia descrita por Stoffel *et al.* (2015), Figura 1.

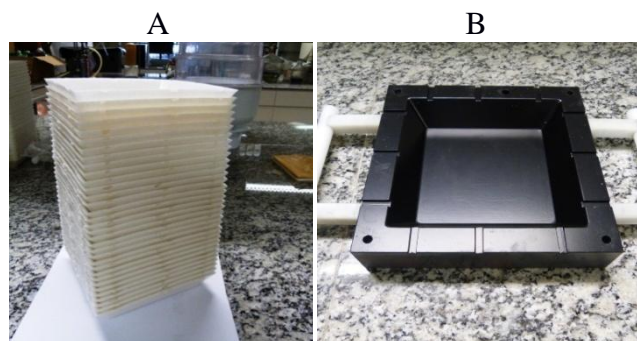


Figura 1- Bandejas de amido de mandioca (A) e sistema de termoformagem das misturas (B).

Enzimas

Foram empregadas as seguintes enzimas com atividade amilolítica: Termamyl® 120L (Novozymes) e uma enzima produzida no Laboratório de Enzimas e Biomassas da UCS através do cultivo de *Penicillium echinulatum* em meio líquido, denominada “homemade”. Para a produção desta enzima utilizou-se meio de cultura adaptado de Sehnem *et al.* (2006), contendo 0,5% (m/v) de farelo de trigo, 1% (m/v) de amido de mandioca, 10% (v/v) de solução de Mandels (MS) 10x, 90% (v/v) de água destilada e 20 µL de Tween 80. Foram colocados 100 mL de meio em cada frasco Erlenmeyer de 500 mL, que foram selados e autoclavados a 121°C durante 20 minutos. Inoculou-se 10⁵ UFC.mL⁻¹ esporos do microrganismo *P. echinulatum* em cada frasco, mantidos a 28°C, com agitação, durante 6 dias.

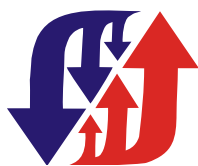
Ensaio de degradação enzimática

O ensaio de degradação enzimática foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Abbasi (2012). Foram avaliadas amostras de bandejas de espuma de amido cortadas no tamanho 2 × 4 cm. Cada amostra foi testada com as duas enzimas (Termamyl® e “homemade”), separadamente. As bandejas de espuma foram pesadas em balança analítica, colocadas dentro de frascos estéreis contendo 25 mL solução tampão acetato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ pH 5 e a enzima. Da Termamyl® adicionou-se 100 µL e da “homemade” utilizou-se o volume necessário de caldo enzimático para obter atividade enzimática de 2 UI.g⁻¹. O ensaio foi conduzido a 30°C durante 48 h, sendo retiradas quatro amostras a cada 12 horas de reação para acompanhamento da degradação enzimática através de avaliação de perda de massa do fragmento de polímero. Os corpos de prova foram separados da solução de degradação através de centrifugação (3220 × g, 4°C, 20 minutos) e secos em estufa a 40°C durante 24 h. A perda de massa foi calculada através da Equação 1:

$$\text{perda de massa} = \frac{(M_0 - M_1)}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

sendo que: M_0 representa a massa inicial do corpo de prova (g) e M_1 é a massa do corpo de prova após a degradação (g).

A extensão da biodegradação da embalagem foi verificada pela hidrólise enzimática do amido, através da liberação de açúcares redutores na solução de degradação, usando o método do ácido dinitrossalicílico (DNS) (Miller, 1959), com análise em espectrofotômetro de UV/vis a 545 nm. A concentração de açúcares redutores em solução foi obtida pela comparação com a curva padrão de glicose.



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 2 apresenta o percentual de perda de massa do fragmento de bandeja de espuma de amido pela ação da degradação enzimática, durante 48 horas. Foram observados maiores percentuais de perda de massa no ensaio de degradação com a enzima Termamyl®, atingindo aproximadamente 90% de perda de massa após 24 horas de reação. A amostra degradada pela ação da enzima “homemade” apresentou um pico de perda de massa nas 48 horas de $43 \pm 2,5\%$.

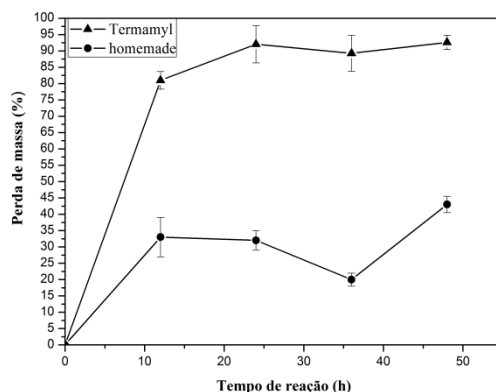


Figura 2 – Perda de massa (%) do fragmento de amostra após degradação enzimática com as enzimas Termamyl® e “homemade”.

Os resultados apresentados na Figura 3 demonstram que ocorreu a hidrólise da molécula do amido, devido à liberação de açúcares redutores no meio a partir de 12 horas de ensaio, demonstrando a ação das enzimas na degradação das bandejas de espumas de amido. Observou-se que a concentração de açúcares redutores na solução de degradação, nos tempos 0 e 12 h, foi maior para a enzima Termamyl® do que para a “homemade”. Este resultado pode estar relacionado com a presença de açúcares na formulação da enzima comercial, que refletem na medida de açúcares redutores, não sendo, necessariamente, decorrentes da reação de hidrólise do amido.

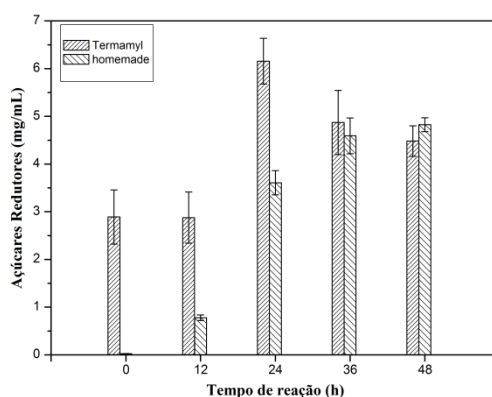
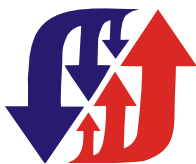


Figura 3 – Liberação de açúcar redutores (mg.mL⁻¹) na solução de degradação pela ação das enzimas Termamyl® e homemade.

Sob a ação da enzima Termamyl®, a maior concentração de açúcares redutores liberados se deu após 24 horas de reação ($6,1 \pm 0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$). Já as amostras expostas à enzima “homemade” apresentaram a maior liberação de açúcares redutores após 48 horas ($4,8 \pm 0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$). Estes valores são inferiores aos reportados por Ishiaku *et al* (2002), que relataram a liberação de 24 a 40 mg.mL^{-1} de glicose durante a degradação enzimática de filmes de amido de mandioca/poli(caprolactona). Isto pode



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

estar relacionado ao tipo de enzima utilizada e à presença de grânulos de amido não dissolvidos nos filmes.

A presença de açúcares redutores na solução meio de degradação como, por exemplo, a glicose, que é originada da reação de hidrólise da molécula de amido, indica que as bandejas de espumas de amido de mandioca adicionadas de 5% de glicerol, obtidas pelo método de expansão térmica são materiais biodegradáveis, uma vez que a hidrólise do amido decorreu da exposição do material à enzimas excretadas por microrganismos que também podem estar presentes no ambiente, atuando em processos de biodegradação (Ishiaku *et al*, 2002; Abbasi 2012).

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, que propôs avaliar a degradação enzimática de bandejas a base de espuma de amido de mandioca, obtidas pelo processo de expansão térmica, conclui-se que as bandejas mostraram-se sensíveis à ação de enzimas amilases microbianas devido à ocorrência da hidrólise do amido já nas primeiras horas de reação, e uma perda de massa do fragmento de polímero na ordem de 90%, indicando potencial biodegradabilidade destas embalagens.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem a FAPERGS, CAPES, CNPQ, Valore e a UCS/INBI pelos apoios recebidos para o desenvolvimento do estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbasi Z. 2012. Water resistance, weight loss and enzymatic degradation of blends starch/polyvinyl alcohol containing SiO₂ nanoparticle. J Taiwan Inst Chem Eng 43: 264-268.

Ishiaku US, Pang KW, Lee WS, Ishak ZAM. 2002. Mechanical properties and enzymatic degradation of thermoplastic and granular sago starch filled poly(ϵ -caprolactone). Eur Polym Degrad 38: 393 – 401.

Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal Biochem 31: 426 – 428.

Sehnen NT, De Bittencourt LR, Camassola M, Dillon AJP. 2006. Cellulase production by *Penicillium echinulatum* on lactose. Appl Microbiol Biotechnol 72: 163 – 167.

Stoffel F, Piemolini-Barreto, LT, Zeni M. 2015. Preparation of Cassava Starch-Based Trays with Glycerol, Sorbitol and Poly (vinyl Alcohol): Properties and Influence for Use as Food Packaging. RR J Food Sci Technol 4:1-8.

Vercelheze AES, Fakhouri FM, Dall'Antônia LH, Urbano A, Youssef EY, Yamashita F, Mali S. 2012. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. Carbohydr Polym 87: 1302-1310.