

## 25. Medio Ambiente

### **Degradação de biofilme de proteína de soro de leite em diferentes tipos de solos**

Santos da Silva, Fábio; Ramos Silvério, Loren; Teixeira Melo Pereira, Luana; Ferreira

Moreno, Isabela; Régia Marques de Souza, Adriana.

fbsantos.silva@gmail.com; petengali@gmail.com

Escola de Agronomia

Universidade Federal de Goiás

#### **Resumo**

Biofilmes são preparados a partir de materiais biológicos ou polímeros, e agem como barreira a elementos externos, tais como umidade, fatores físicos e biológicos, na qual, essa barreira além de proteger o produto embalado, aumenta seu tempo de prateleira. As proteínas do soro de leite têm sido utilizadas em diversas aplicações alimentícias, devido às suas propriedades funcionais, tais como, a gelatinização, solubilidade, dentre outros. Desta forma, o soro de leite deixou de ser encarado como um resíduo industrial que acarreta graves problemas ambientais associados ao seu alto teor de matéria orgânica e passou a ser visto como uma potencial matéria-prima. O presente trabalho objetivou avaliar o tempo de degradação de biofilme produzido a partir da proteína de leite, em solos que apresentam diferentes tipos de microrganismos, sendo os solos: latossolo vermelho ácrico e gleissolo melânico órtico. Os biofilmes foram produzidos a partir do método de *casting* e foram caracterizadas através das técnicas análises de umidade, solubilidade em água e Microscopia Eletrônica de Varredura. Os biofilmes apresentaram umidade média de 14,14% e alta solubilidade de 35,98%. Após 15 dias de acondicionamento dos biofilmes nos diferentes solos, foi observada sua degradação. O período de degradação dos biofilmes foi curto, e pode ser relacionado mais com o teor de umidade do solo do que com a microbiota presente no mesmo.

**Palavras chave:** Decomposição, filme, latossolo, gleissolo.

#### **Introdução**

Mundialmente a embalagem movimentada mais de US\$ 500 bilhões, em que

representa de 1% a 2,5% do PIB de cada país. Em 2017, o mercado brasileiro movimentou mais de R\$ 40 bilhões e

gerou mais de 200 mil postos de empregos diretos e formais (Pellegrino, 2017). As embalagens para alimentos são produzidas utilizando diversos tipos de materiais, tais como madeira, lata, aço inoxidável, alumínio, folhas de aço, vidro, papelão e plásticos (Gava, Silva & Frias, 2009).

O resíduo urbano gerado no Brasil chega 240 a 300 mil toneladas, visto que cerca de 30% são de embalagens e 19% são de plásticos e derivados de petróleo. Além da reciclagem dessas embalagens, se faz necessário elaborar estratégias para reduzir o impacto dos plásticos descartados no meio ambiente. Uma das alternativas é a produção de embalagens biodegradáveis, que substituem os polímeros sintéticos por polímeros biológicos, com intuito de reduzir o tempo de degradação das embalagens (Soares, 2012). Estes polímeros biológicos podem ser polissacarídeos, proteínas, lipídios, e podem ser utilizados em combinação para a produção de filmes biodegradáveis.

Deste modo, os filmes biodegradáveis ou biofilmes são preparados a partir de materiais biológicos ou polímeros, cuja espessura não pode ultrapassar 0,25 mm, e agem como barreira a elementos externos, tais como umidade, fatores físicos e biológicos, óleo, gases, na qual, essa barreira além de proteger o produto embalado, aumenta o tempo de prateleira (Soares, 2012). Além da vantagem de o

biofilme ser biodegradável, no qual é produzido a partir de materiais biológicos ou polímeros, como polissacarídeos, proteínas, lipídios ou a combinação destes, deve-se considerar o custo baixo da matéria prima e principalmente, o impacto sobre o meio ambiente (Soares, 2012). Outro fator importante é que os filmes despertam interesse em função das barreiras de gases ( $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$ ) e de solutos; a retenção de compostos aromáticos e aos aditivos alimentícios (Soares, 2012).

Filmes e coberturas proteicas podem atuar como barreira semipermeável à umidade, gases e compostos aromáticos, que controlam a transferência de massa (umidade, oxigênio, dióxido de carbono, lipídio) em sistemas alimentícios, na qual auxilia na manutenção da integridade estrutural e características de manuseio, ao reter compostos aromáticos voláteis e servir de veículos para aditivos (Hershko & Nussinovitch, 1998).

Dentre as produções de biofilmes está o uso do soro de leite, um subproduto da indústria do queijo, cuja proteína é a caseína, quando devidamente processado, seja como concentrado ou isolado proteico, constitui-se num ingrediente para a fabricação de vários alimentos industrializados. As proteínas do soro de leite têm sido utilizadas em diversas aplicações alimentícias, devido às suas propriedades funcionais, tais

como, a gelatinização, emulsificação, solubilidade, formação de espuma, viscosidade, além do valor nutricional, sendo uma excelente fonte de aminoácidos essenciais (Morr & Ha, 1993).

A identificação de alternativas para o aproveitamento adequado do soro de leite é de fundamental importância em função de sua qualidade nutricional, do volume produzido e de seu poder poluente (Giroto & Pawlowsky, 2001). Obrigatoriamente o soro de leite deixou de ser encarado como um resíduo industrial que acarreta graves problemas ambientais associados ao seu alto teor de matéria orgânica e passou a ser visto como uma potencial matéria-prima, reconhecida como uma valiosa fonte de proteínas de alta qualidade.

### **Objetivos**

Avaliar o tempo de degradação do biofilme, produzido a partir da proteína de leite, em diferentes tipos de solos.

### **Materiais e Métodos**

#### **Materiais**

A elaboração dos biofilmes ocorreu no Laboratório de Análise de Alimentos e no Laboratório de Leites e Derivados, do Setor de Engenharia de Alimentos; e, as amostragens dos solos e dos biofilmes, no Laboratório de Análise de Solos, do Setor de Agronomia, da Escola de Agronomia,

da Universidade Federal de Goiás (UFG), localizada em Goiânia (GO).

Os solos empregados no estudo foram: latossolo vermelho ácrico e gleissolo melânico órtico, ambos obtidos na Escola de Agronomia. De acordo com a metodologia de Teixeira, Donagemma, Fontana & Teixeira (2017) os solos foram separados em frações e secos em estufa a 40°C, para padronização da umidade em 60%.

### **Métodos**

#### **Elaboração dos biofilmes**

Os biofilmes foram produzidos a partir do método de *casting*, na qual, espalhou-se o concentrado proteico em uma placa de Petri e deixou-se secar. As soluções filmogênicas aquosas foram preparadas contendo 9,52% de proteínas, 3,57% de glicerol e 86,91% de água destilada, em que houve a total solubilização das proteínas em água e posteriormente a adição do glicerol, de acordo com Soares (2012). A solução foi aquecida a 90°C por 30 minutos em banho-maria com agitação lenta, e logo após resfriada em banho de gelo, em que foi aplicada uma agitação moderada, para atingir uma temperatura de até 25°C. As alíquotas de solução filmogênica foram dispersas em placas de Petri, previamente encapadas com plásticos adesivos, sendo a espessura controlada pelo volume de 15 mL em cada

placa. A solução foi seca em estufa com circulação de ar a 35°C por 18 horas.

Para avaliar a degradação dos biofilmes foram estimados cinco tempos: 0, 15, 30, 60 e 120 dias. Assim, prepararam-se vinte copos, com solo do tipo latossolo e, vinte copos com solo do tipo gleissolo, sendo utilizados 250 g, de solo, em cada copo. Após a montagem dos solos, os biofilmes foram recortados em sete frações iguais, pesados e enterrados nos diferentes solos, sendo colocado um pedaço de biofilme em cada copo. Para cada tempo, foram realizadas as análises de umidade, solubilidade e microscopia eletrônica de varredura.

### **Análises do biofilme**

#### **Umidade**

O teor de umidade foi determinado pela secagem em estufa à 105°C, até peso constante, segundo metodologia proposta por Latimer (2016), expressa em percentagem (%).

#### **Solubilidade**

Inicialmente houve uma secagem na estufa à 105°C por um período de 24 horas até atingir peso constante. Em seguida, os biofilmes foram imersos em uma solução de 50 mL de água destilada e submetidos à agitação em velocidade mínima, em agitadores magnéticos por 24 horas. Logo após as amostras foram removidas da água e secas em estufa à

105°C até peso constante. A porcentagem de solubilidade foi calculada seguindo o método de Gontard & Guilbert (1994), através da equação  $\%MS = (PI - PF/PI) \times 100$ , onde MS é a porcentagem de amostra seca solubilizada, PI é o peso inicial da amostra seca, PF é o peso final da amostra seca não solubilizada.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As amostras foram secas em estufas à 105°C, até peso constante (Latimer, 2016). Em seguida, os biofilmes foram colocados em um suporte de alumínio com fita adesiva dupla-face e foram colocadas em câmara metalizadora (SCO-040), para serem revestidas com uma camada de ouro. O MEV foi realizado no microscópio eletrônico (JOEL – JSM 6610). As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic), localizado no Instituto de Física, da Universidade Federal de Goiás (Goiânia/GO).

### **Resultados e Discussão**

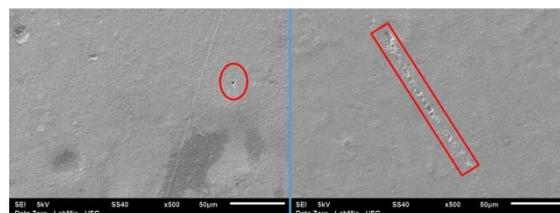
No início do experimento, tempo 0 dias, verificou-se que os biofilmes apresentavam uma umidade média de 14,14%. Segundo Silva (2011), para que o biofilme apresente propriedades necessárias para conservar as estruturas da proteína do soro, e atue como barreira microbiológica, o mesmo deve possuir no

máximo 10% de umidade. Deste modo, acredita-se que, a umidade média encontrada está relacionada ao fato da proteína do soro, possuir alta permeabilidade aos vapores de água, devido à grande quantidade de aminoácidos em sua estrutura, causou uma maior absorção de água.

As análises de solubilidade em água são de extrema importância em aplicações de embalagens em alimento, na qual, caso os elevados níveis de atividade de água do alimento, entrem em contato com a embalagem, a mesma pode-se romper (Soares, 2012), devido a grande afinidade de água. Deste modo, a solubilidade média dos biofilmes foi de 35,98%, valores mais altos que os encontrados por Soares (2012) que obteve uma solubilidade de 18,77%. Matta Jr, Sarmiento, Sarantópoulos e Zocchi (2011), afirma que o excesso de solubilidade se dá, pela adição de glicerol, visto que o mesmo possui uma grande influência sobre a solubilidade, por seu caráter hidrofílico, deste modo a solubilidade acima de 35% se deu pela maior interação com a matriz do biofilme que consequentemente aumentou os espaços livres entre as cadeias, facilitando a entrada de água nos biofilmes, como resultado, o aumento da solubilidade

Através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Figura 1) foi possível verificar que o biofilme possuía uma

estrutura com pequenas aberturas (varredura 1). Segundo Soares (2012), as fissuras podem ocorrer em razão dos valores de pH ( $\pm 7,0$ ) visto que a estruturas da proteína apresentam géis de beta-lactoglobulina, e neste pH, apresentam dobramento desses géis o que ocasiona as aberturas. Contudo, nas varreduras, as fissuras podem ter sido ocasionadas devido às montagens dos biofilmes para avaliar o MEV, visto que apresentam características semelhantes quando pressionados por um objeto, como a pinça em que foi utilizado.



*Figura 1.* Microscopia eletrônica de varredura da superfície de biofilmes biodegradáveis de proteína de leite em 50 µm.

Após quinze dias (tempo 15), verificou-se que os biofilmes haviam se degradado, tanto aqueles armazenados no latossolo quanto os biofilmes acondicionados no gleissolo. A partir desse resultado os demais tempos 30, 60 e 120 dias, foram analisados e em nenhum deles havia qualquer presença de biofilmes.

De acordo com o Manual de Métodos de Análise de Solo (Teixeira et al., 2017), os solos devem possuir umidade de 60%.

Deste modo, com base nos resultados de solubilidade do tempo 0 (zero), percebeu-se que os biofilmes poderiam estar se desfazendo devido a alta umidade dos solos. Para atestar se o biofilme havia sido degradado ou solubilizado, realizou-se novamente o teste de solubilidade.

A solubilidade foi realizada em três períodos diferentes: 12h, 24h e 48h. Após 12h o biofilme apresentou uma característica amolecida e úmida, devido à grande quantidade de água absorvida, e após 24 horas, os biofilmes estavam parcialmente dissolvidos na água. A total dissolução dos biofilmes ocorreu 48 horas, ou seja, a deterioração do mesmo foi provavelmente mais influenciada pela alta umidade nos solos estudados que pelos os componentes microbiológicos existentes nos mesmos. Soares (2012) afirma que biofilmes proteicos a base de soro de leite é relativamente insolúvel em água, devido à presença de ligações dissulfídicas intermoleculares, porém o mesmo comportamento não foi observado no presente trabalho.

### Conclusão

O biofilme de proteína de soro de leite apresentou um tempo muito curto de degradação, sendo esse comportamento relacionado com o teor de umidade dos solos estudados e não com a microbiota presente nos mesmos.

### Bibliografia

Gava, A. J., da Silva, C. A. B., & Frias, J. R. G. (2009). *Tecnologia de alimentos*. NBL Editora.

Giroto, J. M., & Pawlowsky, U. (2001). O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. *Brasil Alimentos*, 2(5), 43-46.

Gontard, N., & Guilbert, S. (1994). Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In *Food packaging and preservation* (pp. 159-181). Springer, Boston, MA.

Hershko, V., & Nussinovitch, A. (1998). Physical properties of alginate-coated onion (*Allium cepa*) skin. *Food Hydrocolloids*, 12(2), 195-202.

Latimer Jr, G. W. (2016). *Official methods of analysis of AOAC International* (Vol. 20). Association of Official Analytical Chemists. Rockville, USA. AOAC.

Matta Jr, M. D. D., Sarmiento, S., Sarantópoulos, C. I., & Zocchi, S. S. (2011). Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. *Polímeros*, 21(1), 67-72.

Morr, C. V., & Ha, E. Y. W. (1993). Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 33(6), 431-476.

Pellegrino, Luciana. (2017). *Associação Brasileira de Embalagem: Embalagem*. <http://www.abre.org.br/setor/apresentacao-do-setor/a-embalagem>.

SILVA, E. M. (2011). *Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de amido de pinhão* (tese de graduação). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

SOARES, D. S. B. (2012). *Influência do pH e da irradiação em filmes biodegradáveis de proteínas do soro de leite*. (tese de mestrado). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

Teixeira, P. C., Donagemma, G. K., Fontana, A., & Teixeira, W. G. (2017). Manual de métodos de análise de solo. *Embrapa Solos Documentos (INFOTECA-E)*.

### **Agradecimentos**

Ao grupo Programa de Educação Tutorial (PET) da Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Goiás, pelo apoio e suporte para a realização deste trabalho.

A nossa orientadora, Adriana Régia, pela orientação, amizade, paciência, carinho, respeito e confiança.

### **Financiamento**

Pelo Programa de Educação Tutorial (PET) da Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Goiás e pelo Ministério da Educação (MEC), do Governo Federal.