

Avaliação da Eficiência de Detergente Enzimático na Remoção de Lipídios presentes em Embalagens de Produtos Cárneos

Ediani Pinho Buturi¹, Adolfo Anselmo Hort¹, Evandro Bona², Ailey Aparecida Coelho Tanamati¹, Odinei Hess Gonçalves^{2*}

¹ Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Via Rosalina Maria dos Santos, 1233, CEP 87301-899, Caixa Postal: 271, Campo Mourão – PR, Brasil, Fone: (44) 35181431;

² Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA), Via Rosalina Maria dos Santos, 1233, CEP 87301-899, Caixa Postal: 271, Campo Mourão – PR, Brasil, Fone: (44) 35181478.

* odinei@utfpr.edu.br

Resumo. Recentemente a indústria alimentícia tem assumido sua responsabilidade ambiental. As embalagens de produtos cárneos representam um desafio para reciclagem, pois a prática industrial demonstra que a presença desses resíduos lipídicos limita a quantidade de material reciclado que pode ser adicionado ao material puro durante o processamento. Neste trabalho, foi avaliada a eficiência de detergente enzimático para a remoção de lipídios totais presentes como resíduo em embalagens de produtos cárneos compostas por filmes de polietileno. Os parâmetros avaliados foram a concentração do detergente enzimático, a temperatura e massa de embalagem utilizada durante a aplicação do detergente. Para a determinação da quantidade de lipídios presente nas amostras foi utilizado um extrator tipo soxhlet onde as amostras foram tratadas por 3 horas a 40°C antes de depois da aplicação do detergente. O solvente utilizado foi o éter de petróleo e o teor de lipídios totais foi determinado gravimetricamente. Foram utilizadas embalagens de polietileno contendo (15,7 ± 0,7) % massa de lipídios totais. Para a faixa experimental avaliada, os resultados demonstraram que a eficiência de remoção de lipídios totais foi maior com o aumento da concentração de detergente, temperatura e diminuição da massa de embalagem. Não foi observado decréscimo na atividade enzimática na faixa de temperatura avaliada, contudo observou-se que existiu um limite para a quantidade máxima de embalagem que pôde ser utilizada na aplicação do detergente provavelmente devido à dificuldade em agitar e homogeneizar as amostras. De acordo com o planejamento experimental, a condição ótima de lavagem foi de 4 gramas de embalagem, temperatura de 54°C e concentração de detergente de 19%, apresentando eficiência ótima de remoção de 81,72%.

Palavras-chave: Detergente enzimático; reciclagem; planejamento experimental; embalagem.

Evaluation of enzymatic detergent efficiency in removing lipids from meat package. Food industry is increasingly concerned about their role in environmental responsibility. Recycling of meat package is a challenge since the presence of residual lipids limit the amount of recycled material that could be added to the pure material. In this work the efficiency of an enzymatic detergent in removing total lipids residues from discharged meat polyethylene package was evaluated. The experimental parameters were the enzymatic detergent concentration, temperature and the mass of package used during the detergent application. Soxhlet extraction (3 hours, 40 °C,) was used to determine the amount of total lipids present in the package both before and after the use of the detergent. The solvent used was petroleum ether and the amount of total lipids was determined gravimetrically. The polyethylene meat package presented an initial amount of total lipids of (15.7± 0.7) %. Results demonstrated that the efficiency increased with the increase in temperature and detergent concentration as well as with the decrease in the mass of the polyethylene sample. Any decrease in the enzymatic activity was observed for the evaluated temperatures. Also there was a limit in the amount of polyethylene package that could be used probably because greater amounts of sample hindered stirring and homogenization. According to the experimental design the maximum efficiency is expected to be 81.72% when the following conditions are used: 54°C, enzymatic detergent concentration of 19g/L and a package sample amount of 4 grams.

Keywords: Enzymatic detergent; recycling; experimental design; package.

Recebido: 11 de Setembro de 2014; aceito: 14 de Novembro de 2014, publicado: 11 de Dezembro de 2014.

DOI: 10.14685/rebrapa.v5i3.178

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da tecnologia de enzimas se intensificou a partir das primeiras décadas do século XX (NELSON e COX, 2006). Os fatores responsáveis para evolução da tecnologia enzimática foram, principalmente, a descoberta de novas enzimas integrantes das vias metabólicas, o acúmulo de conhecimento das suas propriedades e a constatação de que quase todas as enzimas de interesse industrial podem ser produzidas por microorganismos. O uso de enzimas em detergentes tem origem em 1914, quando foi produzido por Röhm o primeiro detergente compacto em pastilhas que utilizava proteases do pâncreas de porco. Contudo, somente nos anos 60 que a utilização de enzimas passou a ser efetiva (COELHO *et al.*, 2008).

A indústria de detergentes é o destino da maior parte das lipases produzidas comercialmente, pois a utilização de formulações que contêm lipases, amilases e proteases reduzem expressamente o tempo e a temperatura de lavagem, resultando em um processo mais eficiente com menor gasto de energia (KOBELITZ, 2008). Isto ocorre devido às enzimas agirem de forma mais eficiente sobre a matéria orgânica do que os detergentes a base de surfactantes, já que são específicos e não danificam os materiais constituintes dos equipamentos e instrumentos (VERMELHO *et al.*, 2008).

Lipases são enzimas pertencentes ao grupo das serina hidrolases. Seus substratos naturais são triacilglicerídeos e seu modo de ação se assemelha aos das esterases, porém, sua atividade é aumentada quando situada na interface polar/apolar. Lipases apresentam maior afinidade por ácidos graxos de cadeia longa (PASTORE *et al.*, 2003). Elas catalisam a quebra de gorduras e óleos liberando ácidos graxos, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol (MENONCIN *et al.*, 2009). As lipases de origem microbiana possuem maior interesse comercial, devido à versatilidade de suas propriedades e à fácil produção em massa (ROVEDA *et al.*, 2008).

A extração de lipídios é uma determinação importante em estudos bioquímicos, fisiológicos e nutricionais dos mais diversos tipos de alimentos e, portanto, deve ser realizada

com acurácia (TANAMATI *et al.*, 2005; BRUM *et al.*, 2009). A mistura de solventes ideal para extração de lipídios deve ser suficientemente polar para removê-los sem que ocorra reação química (BRUM *et al.*, 2009).

As informações disponíveis em literatura sobre os detergentes enzimáticos sugerem que eles podem ser eficientes na remoção de lipídios de superfícies plásticas das embalagens de alimentos após o seu uso. Em especial, embalagens plásticas de produtos cárneos contêm resíduos lipídicos que podem se deteriorar durante as etapas que envolvem a sua reciclagem. Isso leva à formação de compostos com odor desagradável diminuindo a aceitação das peças plásticas compostas por embalagens recicladas.

O objetivo do trabalho foi o de realizar a remoção de lipídios totais presentes em embalagens de carnes descartadas pelo setor varejista utilizando um detergente enzimático comercial. Para tanto, foi desenvolvida uma metodologia para a remoção dos lipídios totais, envolvendo o contato entre a embalagem e o detergente enzimático e sua posterior determinação quantitativa através do método de extração soxhlet utilizando éter de petróleo como solvente a 40°C. Foi avaliada a utilização do detergente enzimático em diferentes condições experimentais e tempos de contato com a embalagem.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

O detergente enzimático foi gentilmente doado pela Clean Up Brazil Biotecnologia Ltda., contendo enzimas da classe das lipases. Como solvente para a determinação da concentração de lipídios na embalagem foi utilizado éter de petróleo (grau de pureza analítica). Água destilada foi utilizada para diluir o detergente enzimático até a concentração desejada. Todos os reagentes foram utilizados como recebidos. As embalagens de carne, compostas por filmes de polietileno e adquiridas do comércio local, passaram por um processo de preparação descrito a seguir.

Métodos

Preparação das amostras de embalagens

Pré-limpeza e secagem. Em geral, embalagens de produtos cárneos possuem, além de lipídios, grande quantidade de sangue e materiais hidrossolúveis, sendo necessária uma pré-lavagem. As embalagens foram mergulhadas em um recipiente com água destilada, e em seguida colocadas em estufa de circulação de ar para secagem. A estufa foi mantida em temperatura ambiente a fim de evitar a oxidação dos lipídios presentes na embalagem.

Corte e armazenamento. Após a secagem as embalagens foram cortadas em pedaços com aproximadamente 1x1 cm, para proporcionar maior contato do detergente com a camada lipídica, aumentando assim a superfície de contato. Após o corte foi realizada a homogeneização e armazenagem das amostras a -10°C. O diagrama da Figura 1 ilustra o procedimento de preparação das amostras.

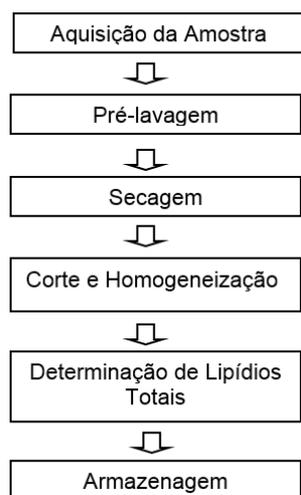


Figura 1 – Esquema de preparação das amostras

Aplicação do detergente enzimático

Inicialmente foram preparadas as soluções nas concentrações requeridas (1, 10 ou 19 g/L) e acondicionadas em béquers aquecidos em banho maria sob agitação branda na temperatura desejada (20°C, 37°C ou 54°C). Após a estabilização da temperatura, a amostra de embalagem plástica (1, 6 ou 11 gramas) foi adicionada permanecendo sob agitação durante 60 minutos. Em seguida, as amostras foram retiradas e submetidas a quatro enxágües

consecutivos em água destilada para a remoção de qualquer resíduo do detergente. Em seguida, as amostras foram secas em estufa a 60°C por 30 minutos e encaminhadas para a determinação do teor de lipídios.

Para os experimentos de avaliação da eficiência de remoção em relação ao tempo de aplicação do detergente, o mesmo procedimento foi utilizado, modificando apenas o tempo total em que a amostra de embalagem permaneceu em contato com a solução do detergente enzimático. A Figura 2 ilustra o procedimento de aplicação do detergente.

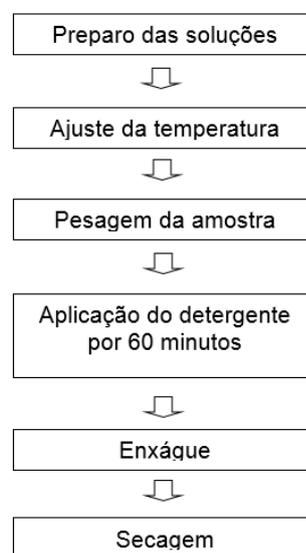


Figura 2 – Esquema de aplicação do detergente.

Determinação de lipídios totais

O teor de lipídios presentes na embalagem após a aplicação do detergente enzimático, ou seja, a fração de lipídios não retirada da embalagem, foi determinada por extração soxhlet utilizando éter de petróleo como solvente a 40°C por 3 horas. O teor de lipídios foi determinado gravimetricamente.

Otimização da eficiência de remoção de lipídios

Estudos anteriores (HORT *et al.*, 2011) demonstraram que a concentração de detergente enzimático, a massa de amostra (embalagem plástica) e a temperatura de aplicação do detergente afetam a eficiência de remoção dos

lipídios. Um planejamento experimental a três níveis e três variáveis foi realizado a fim de otimizar a remoção dos lipídios em relação a essas variáveis. Os níveis de cada variável estão descritos na Tabela 1 e foram determinados com bases nos experimentos realizados por Hort *et al.* (2011). O tratamento estatístico dos dados foi realizado utilizando um software matemático apropriado e os experimentos foram realizados de forma aleatória (Tabela 2). A eficiência de remoção de lipídios pelo detergente enzimático foi calculada de acordo com a Equação 1.

Tabela 1 – Codificação utilizada no planejamento experimental.

Variável	Níveis		
	-1	0	1
Concentração de detergente (g/L)	1	10	19
Massa de amostra (plástico) na limpeza (g)	1	6	11
Temperatura (°C)	20	37	54

Tabela 2 – Níveis das variáveis utilizados no planejamento experimental.

Experimento	Concentração de detergente enzimático (g/L)	Massa de amostra (g)	Temperatura (°C)
1	1	1	20
2	1	6	54
3	1	11	37
4	10	1	54
5	10	6	37
6	10	11	20
7	19	1	37
8	19	6	20
9	19	11	54

$$Eficiência (\%) = 100 \cdot \frac{(x_{inicial} - x_{final})}{x_{inicial}} \quad (1)$$

onde $x_{inicial}$ é o teor de lipídios totais presente na embalagem antes da aplicação do detergente e x_{final} é o teor de lipídios totais que ainda estava presente na embalagem após a aplicação do detergente enzimático. O conjunto de variáveis que resultou na maior eficiência na remoção dos lipídios foi utilizado a fim de avaliar a influência do tempo de aplicação do detergente, que foi realizada pelos tempos de 10, 30, 50, 60 e 90 minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Concentração total de lipídios

A extração a 40°C utilizando éter de petróleo não levou à dissolução da embalagem, se mostrando adequada para a determinação do teor de lipídios totais presente na embalagem. A extração a frio com éter de petróleo como solvente foi selecionada para ser utilizada ao longo do trabalho. Por essa técnica, o teor de lipídios totais presente nas embalagens foi de $15,7 \pm 0,7$ %_{massa}. Esse valor foi utilizado como referência para o cálculo da eficiência de remoção de lipídios.

Planejamento experimental

A Tabela 3 apresenta os valores de eficiência de remoção de lipídios para os experimentos conduzidos de acordo com os dados da Tabela 2. A Tabela 4 apresenta o nível de significância e os coeficientes do modelo empírico fornecidos pelo planejamento experimental.

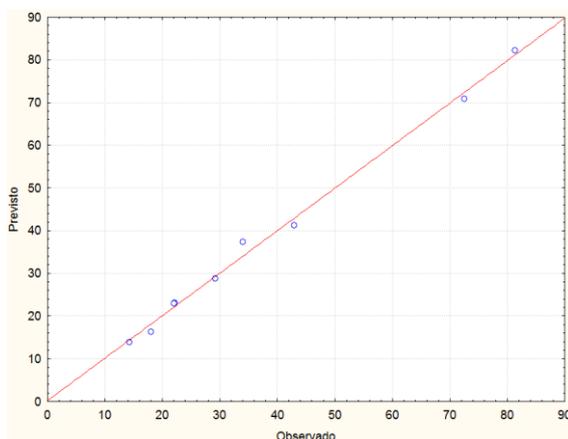
Tabela 3 – Eficiência de remoção de lipídios.

Experimento	Eficiência de remoção de lipídios (%)
1	14,34
2	22,17
3	18,06
4	72,56
5	33,99
6	21,98
7	81,31
8	42,91
9	29,20

Tabela 4 – Nível de significância dos valores (p) e coeficientes do modelo empírico.

	p	Coefficientes
Média (%)	0,000947	-5,09701
[Detergente] (g/L)	0,007246	2,13757
Massa (g)	0,007232	3,45378
Temperatura (°C)	0,034020	0,76074
[Detergente] * Massa	0,030333	-0,26376
[Detergente] * Temperatura	0,130133	0,03448
Massa * Temperatura	0,046606	-0,11122

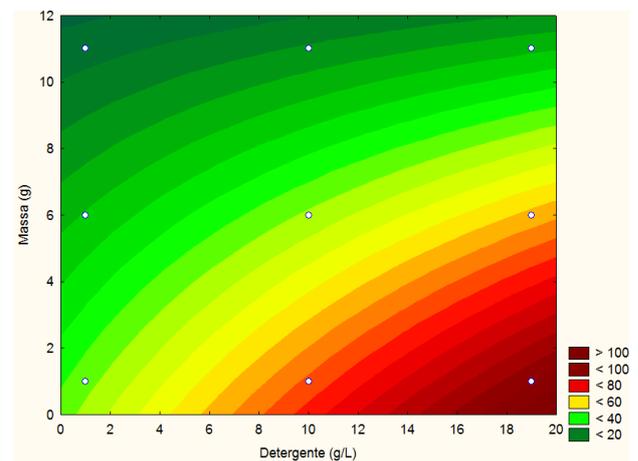
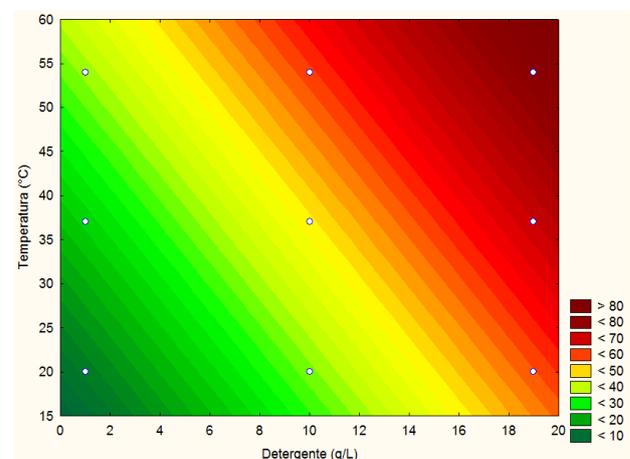
É possível concluir que, ao nível de significância de 95%, todos os efeitos principais são significativos ($p < 0,05$) e apenas o efeito da interação entre a concentração de detergente enzimático e a temperatura não é significativo ($p > 0,05$). A partir dos coeficientes apresentados na Tabela 4, a Equação (2) pode ser proposta relacionando a eficiência de remoção de lipídios com a temperatura, a massa de amostra utilizada na limpeza e a concentração do detergente enzimático. Nela, X_1 representa a concentração de detergente enzimático (g/L), X_2 representa a massa de amostra utilizada na limpeza (g) e X_3 representa a temperatura (°C). A Figura 3 apresenta a relação entre os valores observados (experimentais) e os valores preditos pelo modelo empírico.

**Figura 3** – Relação entre os valores experimentais e os valores preditos pelo modelo empírico.

Para o modelo proposto, o valor encontrado para o coeficiente de correlação ajustado (R^2) foi 0,97947, indicando um bom ajuste dos dados experimentais. Isso também é evidenciado pela correlação satisfatória entre os valores previstos pelo modelo empírico e observados experimentalmente (Figura 3).

As Figuras 4, 5 e 6 apresentam as superfícies de resposta para as variáveis otimizadas. O ponto ótimo para a remoção de lipídios, de acordo a análise dos gráficos das Figuras 3 a 5, é apresentado na Tabela 4.

As Figuras 4 a 6 mostram que, na região experimental avaliada, a eficiência de remoção de lipídios foi favorecida quando foram utilizadas altas concentrações de detergente enzimático, baixas quantidades de amostras da embalagem e altas temperaturas.

**Figura 4** – Eficiência de remoção de lipídios em relação à massa de amostra utilizada e à concentração de detergente enzimático para a temperatura ótima (54°C).**Figura 5** – Eficiência de remoção de lipídios em relação à temperatura e à concentração de detergente enzimático para a massa ótima de amostra utilizada na limpeza (4 g).

$$\text{Eficiência (\%)} = -5,097 + 2,138 * X_1 + 3,454 * X_2 + 0,760 * X_3 - 0,264 * X_1 * X_2 + 0,034 * X_1 * X_3 - 0,111 * X_2 * X_3 \quad (2)$$

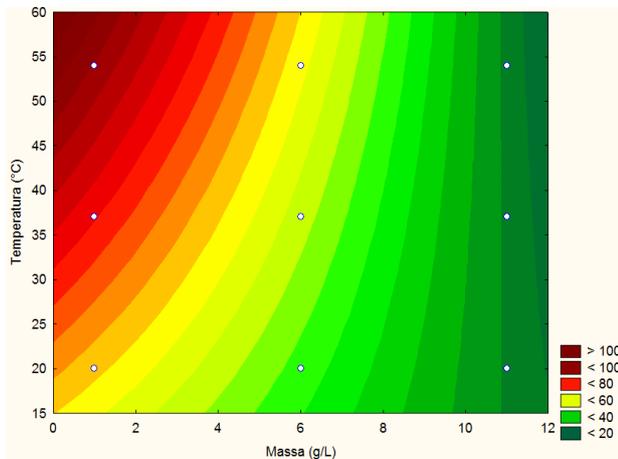


Figura 6 – Eficiência de remoção de lipídios em relação à temperatura e à massa de amostra utilizada para a concentração ótima de detergente enzimático (19 g/L).

Tabela 5 – Ponto ótimo para a remoção de lipídios de acordo com o planejamento experimental.

Variável	Valor
[Detergente] (g/L)	19
Massa (g)	4
Temperatura (°C)	54

É possível observar que existe uma relação positiva entre a concentração de detergente e a eficiência de remoção em toda a faixa experimental avaliada conforme esperado. O mesmo ocorre para a temperatura, pois quanto maior a temperatura, maior a eficiência de remoção de lipídios. É conhecido que as reações enzimáticas são favorecidas pelo aumento da temperatura, contudo temperaturas elevadas podem levar à diminuição da atividade enzimática pelo fenômeno de desnaturação (LEHNINGER, 2006). Os resultados apontam no sentido de que não ocorreu desnaturação da enzima lipolítica dentro da faixa de temperatura avaliada.

Para a massa de amostra, valores entre 1 e 4 gramas não afetaram a eficiência de remoção, contudo valores maiores levaram à diminuição da eficiência. Esse efeito se deve provavelmente

ao fato de que a maior massa de amostras de embalagem durante a aplicação do detergente dificultou a agitação e o contato deste com a superfície da embalagem.

Influência do tempo de aplicação do detergente enzimático

Os valores de concentração de detergente enzimático, massa de amostra de embalagem e temperatura que resultaram na máxima eficiência de remoção de lipídios, de acordo com o planejamento experimental, foram utilizados para avaliar a cinética de remoção de lipídios. Na Figura 7 é apresentada a eficiência de remoção para os tempos de aplicação de detergente enzimático de 10, 30, 50, 60 e 90 minutos. Na Tabela 6 são comparados o valor experimental para a remoção de lipídios e o valor previsto pelo modelo empírico.

A remoção dos lipídios da superfície da embalagem plástica foi prejudicada quando o tempo de contato entre a embalagem e o detergente enzimático foi inferior a 30 minutos. Para maiores tempos de contato, a eficiência de remoção aumentou atingindo valores máximos após 60 minutos nas condições experimentais avaliadas.

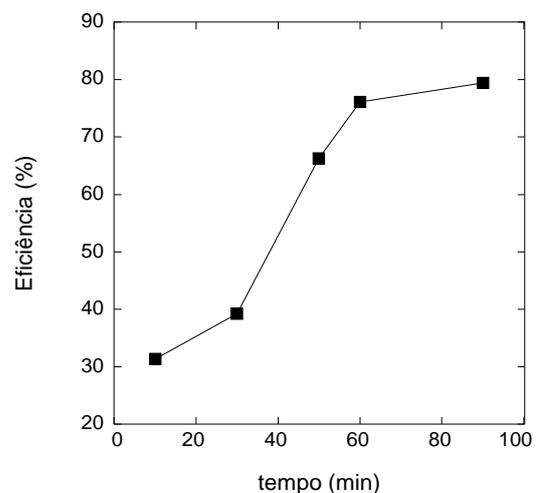


Figura 7 – Influência do tempo de aplicação do detergente enzimático sobre a remoção de lipídios das embalagens plásticas ([detergente] = 19 g/L; 54°C; 4 g de amostra de embalagem).

Tabela 6 – Comparação entre o valor ótimo de remoção de lipídios experimental e o valor previsto pelo modelo empírico.

Valor experimental (%)	Valor previsto pelo modelo empírico (%)
76,15	81,72 ± 15,77

O ponto experimental relativo ao tempo de aplicação do detergente de 60 minutos corresponde ao ponto ótimo de remoção de lipídios fornecido pelo planejamento experimental.

Considerando um nível de significância de 95%, o valor de eficiência de remoção previsto pelo modelo concordou com o valor experimental, demonstrando que o modelo empírico proposto para a eficiência de remoção de lipídios descreve o processo de forma satisfatória

CONCLUSÃO

Uma marca comercial de detergente enzimático contendo enzimas lipolíticas foi avaliada em relação à sua eficiência na remoção de lipídios de embalagens descartadas de produtos cárneos. Na faixa experimental avaliada, a concentração de detergente enzimático, a temperatura e a massa de amostra de embalagem demonstraram ter influência sobre a eficiência do detergente, ao nível de significância de 95%. Conforme esperado, maiores temperaturas e concentração do detergente levaram à maior remoção dos lipídios das embalagens. Quantidades de embalagem maiores que 4 gramas durante a aplicação do detergente não levaram a bons resultados devido à diminuição na eficiência de remoção, provavelmente ocasionada pela dificuldade de contato entre a superfície da embalagem e o detergente enzimático. Dentro da região experimental investigada, a eficiência de remoção ótima foi de 81,72%, encontrada utilizando 19 g/L de detergente enzimático, 54°C e massas de amostras inferiores a 4 gramas.

REFERÊNCIAS

BRUM, Aelson A. S.; ARRUDA, Lia F.; REGITANO, Marisa A. B. - Métodos de

Extração e Qualidade da Fração Lipídica de Matérias-primas de Origem Vegetal e Animal. Química Nova; Volume 32. São Paulo, 2009.

COELHO, Maria A. Z.; SALGADO, Andrea M.; RIBEIRO, Bernardo D. Tecnologia Enzimática. Rio de Janeiro, 2008.

HORT, A. A.; BUTURI, E. P.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Avaliação da Eficiência do Detergente Enzimático na Remoção dos Lipídios de Embalagens De Produtos Cárneos. III EPEA – Encontro Paranaense de Engenharia de Alimentos, Guarapuava – Paraná, 2011.

KOBLITZ, Maria G. B. Bioquímica de Alimentos - Teoria e Aplicações Práticas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MENONCIN, S.; DOMINGUES, N. M.; FREIRE, D. M. G.; OLIVEIRA, J. V.; DILUCIO, M.; TREICHEL, H.; OLIVEIRA, D. Imobilização de lipases produzidas por fermentação em estado sólido utilizando *Penicillium verrucosum* em suportes hidrofóbicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2 p. 440-443, 2009.

NELSON, D. L.; COX, M. LEHNINGER: **Princípios de Bioquímica**. 4ª edição - São Paulo: Sarvier, 2006.

PASTORE, G. M.; COSTA, V. S. R.; KOBLITZ, M. G. B. Purificação parcial e caracterização bioquímica de lipase extracelular produzida por nova linhagem de *rhizopus sp.* **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2 p. 135-140, 2003.

ROVEDA, M.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de microrganismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.1 p. 126-131, 2010.

TANAMATI, A.; OLIVEIRA, C. C.; VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. Comparative Study of Total

Lipids in Beef Using Chlorinated Solvent and Low-Toxicity Solvent Methods. **Department of Chemistry, State University of Maringa**, JAOCS, v. 82, n. 6, 2005.

VERMELHO, Aline B.; PAIVA, Caren L. A.; ALENCASTRO, Ricardo B.; COELHO, Rosaline R.R. *Enzimas em Biotecnologia – Produção, Aplicação e Mercado*. Rio de Janeiro, 2008.