

STUDII PRELIMINARE DE EVALUARE A BIODEGRADABILITĂȚII AMBALAJELOR ALIMENTARE BIOACTIVE CU AJUTORUL FUNGILOR PRODUCĂTORI DE CELULAZE

Diana-Mădălina GĂBOREANU^{1,2,3}, Ioana Cristina MARINAȘ¹, Viorica CORBU¹, Irina GHEORGHE-BARBU^{1,2}, Mariana Carmen CHIFIRIUC^{1,2,4}

¹Universitatea din București, Facultatea de Biologie, Splaiul Independenței 91-95, București, 050095; ²Institutul de Cercetare al Universității din București (ICUB), B.P. Hașdeu, Nr.7, București 050095; ³Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice, Nr. 296, București 060031; ⁴Secția de Științe Biologice a Academiei Române, Academia Română

INTRODUCERE

Ambalajele active reprezintă o soluție promițătoare pentru reducerea producerii de deșeurii alimentare, prin prelungirea perioadei de valabilitate a alimentelor perisabile, concomitent cu menținerea sau îmbunătățirea calității și siguranței alimentelor datorită principiilor active [1] (Fig.1).

Pe lângă avantajele evidente, aceste materiale pot conduce pe termen lung la perturbarea microbiotei ambientale prin inhibarea activității microorganismelor biodegradative, prin eliberarea în mediu a unor concentrații ridicate de conservanți cu activitate antimicrobiană.

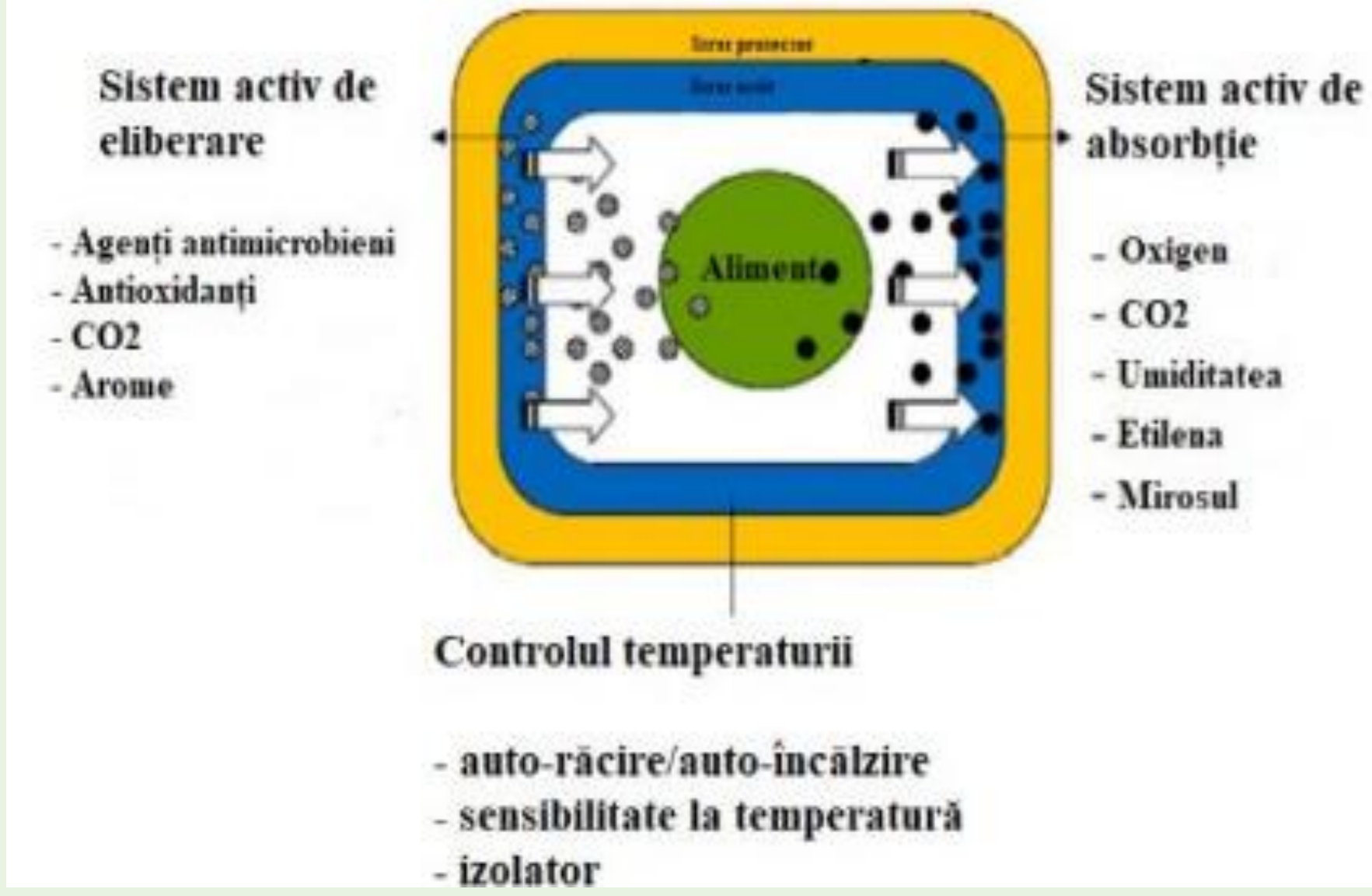
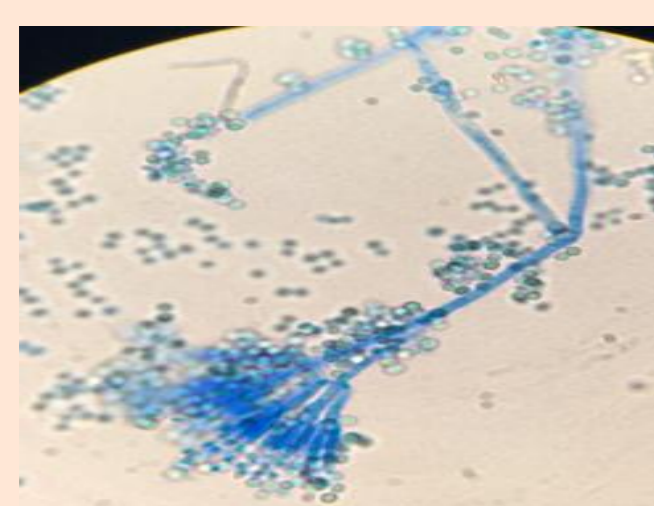


Fig.1 Principalele mecanisme ale ambalajelor active [2]

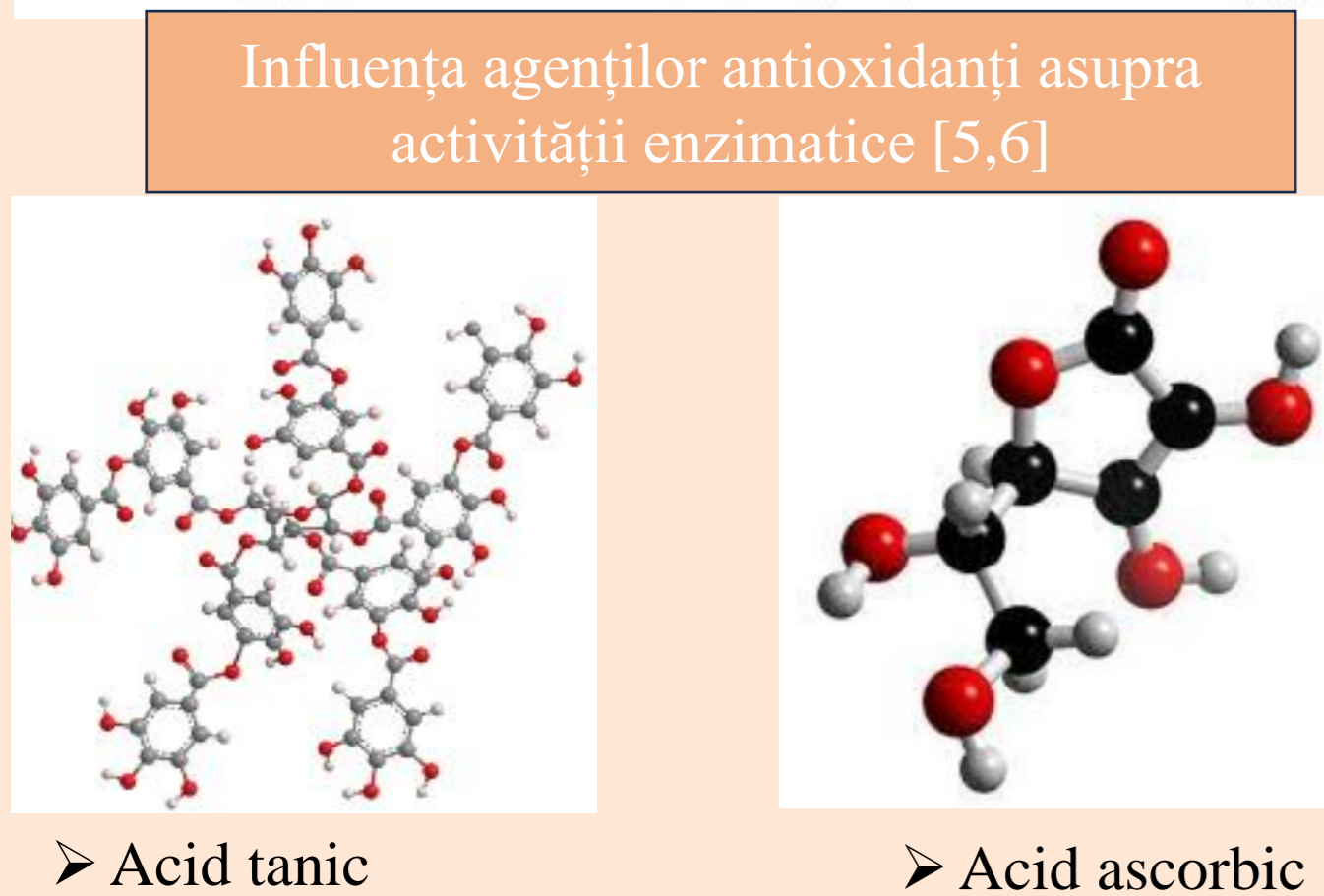
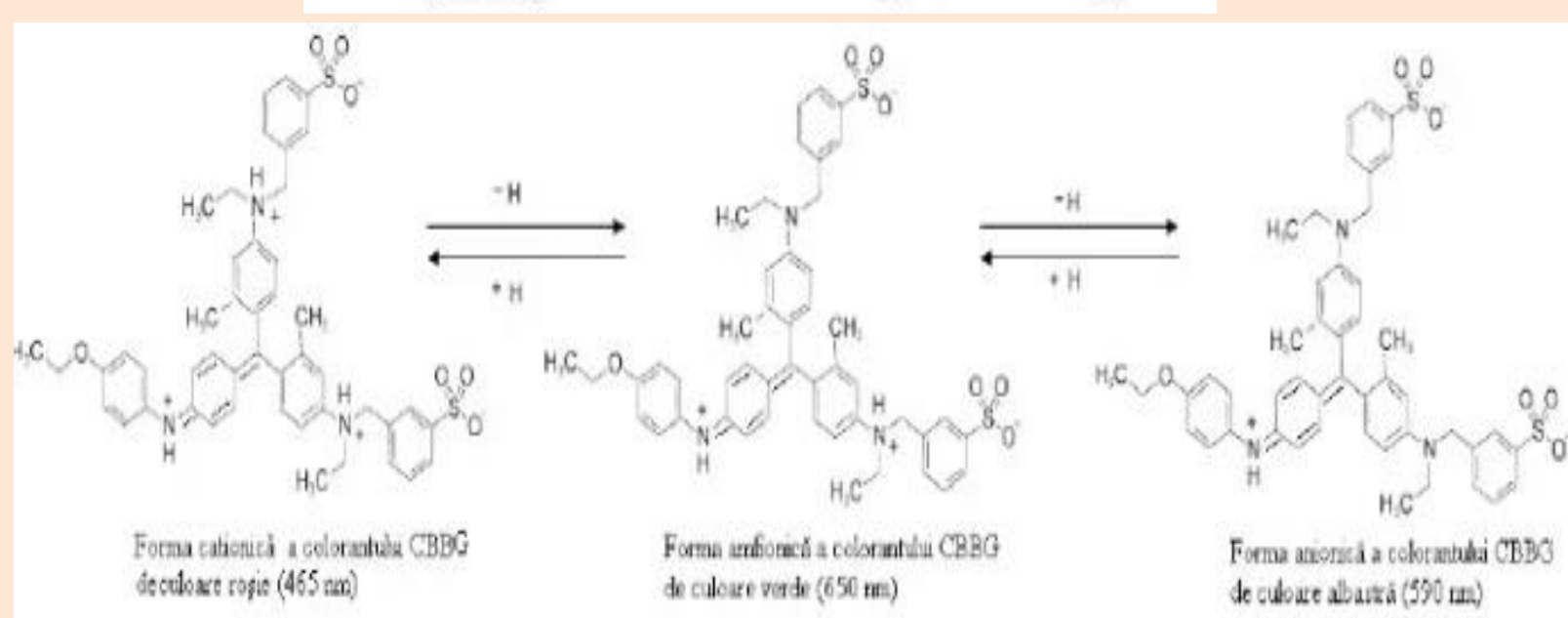
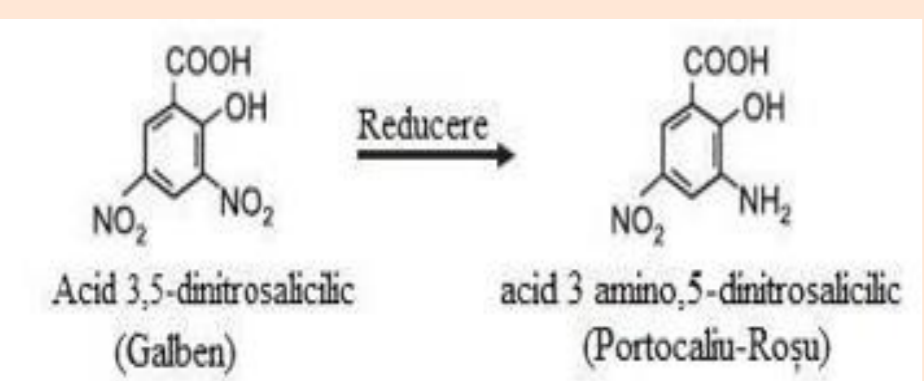
MATERIALE ȘI METODE

Selectarea modelului de tulpină producătoare de celulaze



- Identificare - metode convenționale
- Identificare - taxonomică MALDI-TOF
- Screening calitativ

Cuantificare proteine solubile (Bradford) [3] și monoglucide reducătoare (DNS) [4]



MULȚUMIRI

Această lucrare a fost realizată cu sprijinul MRID, proiect nr. 23020101(SIA-PRO), contract nr 7N/2022.

Referințe:
1. doi:10.3390/foods9081117; 2. doi:10.1016/b978-0-323-51271-8.00007-3;
3. doi: 10.1385/0-89603-268-X:9; 4. doi:10.1088/1755-1315/947/1/012041;
5. https://doi.org/10.1021/ed011p670.2; 6. doi:10.5772/intechopen.81783;

Scopul studiului a constat în determinarea capacității de biodegradare a ambalajelor celulozice de către tulpini fungice izolate de pe material lemnos degradat.

REZULTATE

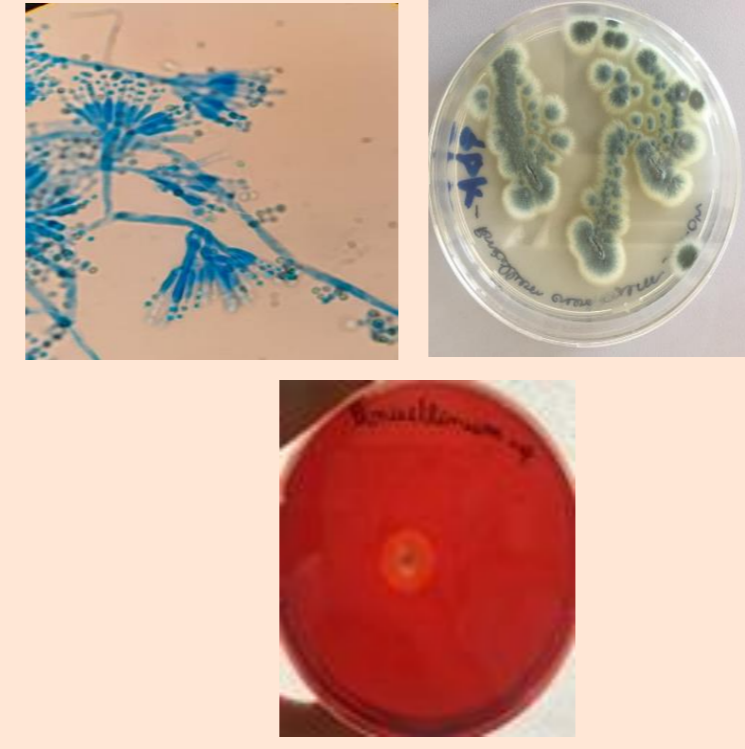


Fig.2 Identificarea prin metode convenționale a tulpinii producătoare de celulaze

Influența agenților conservanți asupra activității enzimatiche

- Acidul ascorbic la concentrația de 50 mg/mL inhibă activitatea enzimelor celulozolitice, în timp ce pentru acidul tanic s-a observat un rezultat fals pozitiv, deoarece acesta poate acționa independent asupra degradării hârtiei de filtru.

Influența acidului tanic și acidului ascorbic asupra concentrației de glucide

- Degradarea hârtiei de filtru impregnate cu acid ascorbic și acid tanic - creștere accentuată a conținutului de monoglucide eliberate probabil datorită scăderii pH-ului mediului => hidroliză acidă

Influența acidului tanic și acidului ascorbic asupra concentrației de proteine

- Acidul tanic - scăderea conținutului de proteine solubile din a 2-a zi de incubare
- Acidul ascorbic - scăderea concentrației de proteine s-a observat din ziua a 4-a de incubare

Optimizarea parametrilor fizico-chimici (funcția de dizeabilitate)

- Conținutul total de proteine conferă un grad scăzut de dizeabilitate
- Conținutul total de glucide și răspunsul combinat - un răspuns >0.9.

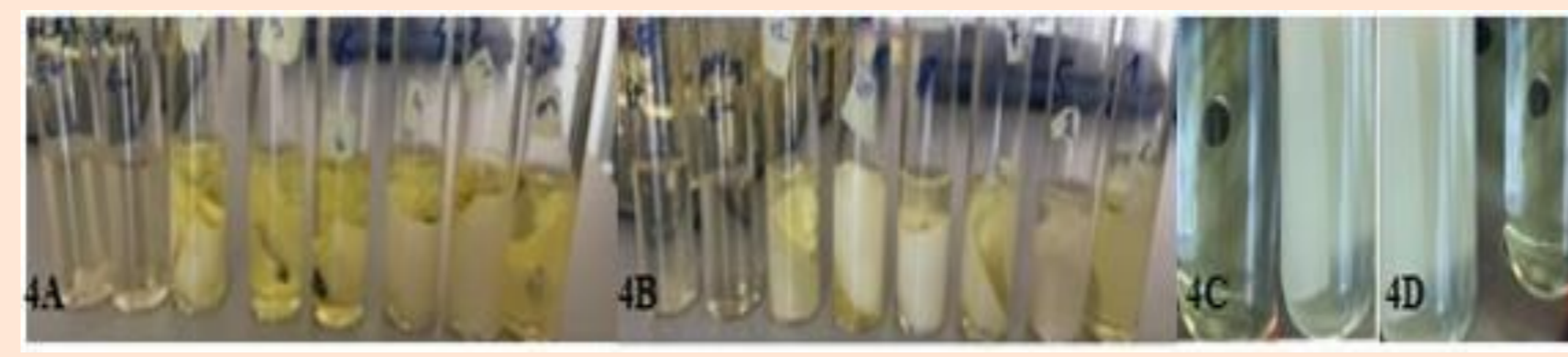


Fig.3 Studiul producerii de proteine solubile și de monoglucide reducătoare 4A (pH 4, temperatura 28°C, substrat 0,1 – 0,5 g), 4B (pH 8, temperatura 28°C, substrat 0,1 g – 0,5 g), 4C (pH 4, temperatura 38°C, substrat 0,1 g – 0,5 g), 4D (pH 8, temperatura 38°C, substrat 0,1 g – 0,5 g)

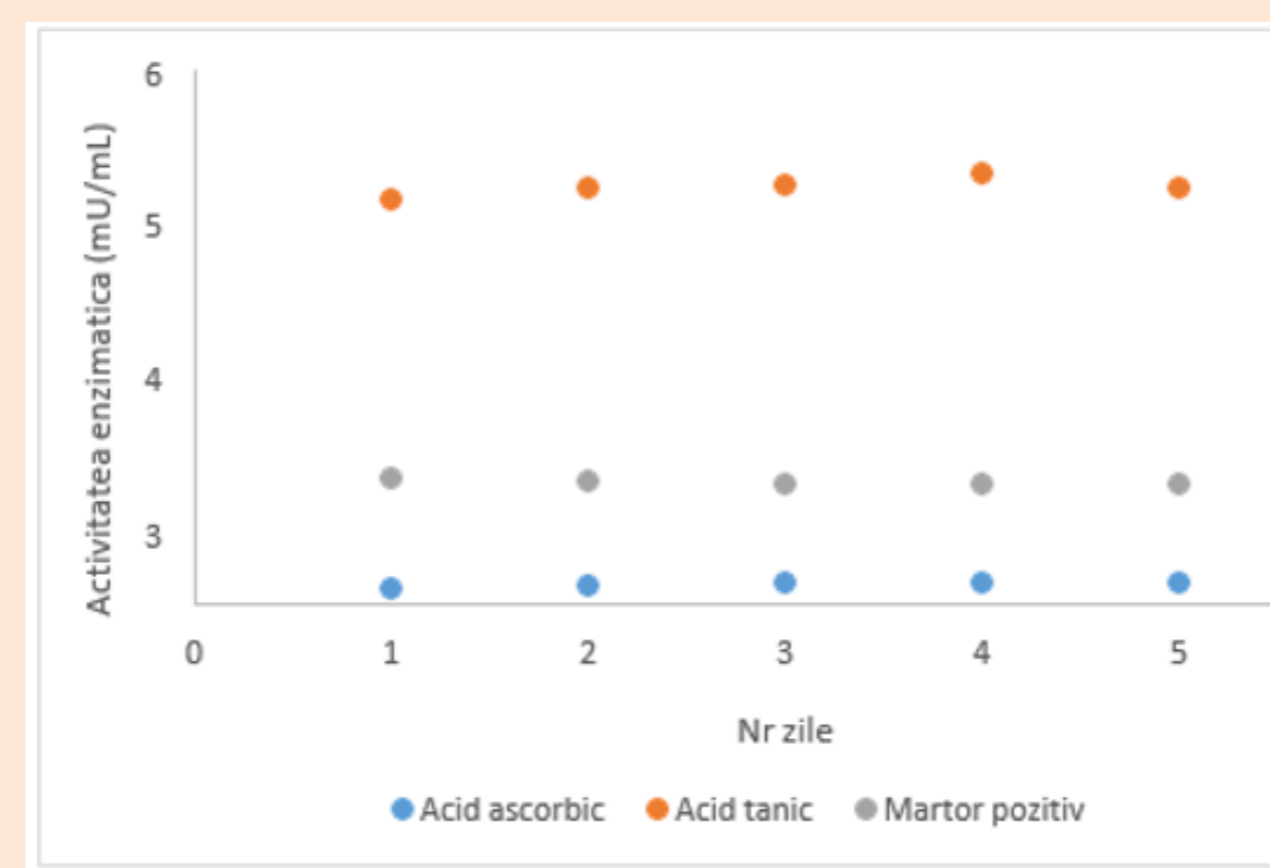


Fig.9 Influența asupra activității enzimatiche a celulozei raportată la conținutul de proteine solubile specific față de martor pentru concentrația subinhibitoare 50 mg/mL de acid ascorbic și respectiv acid tanic.

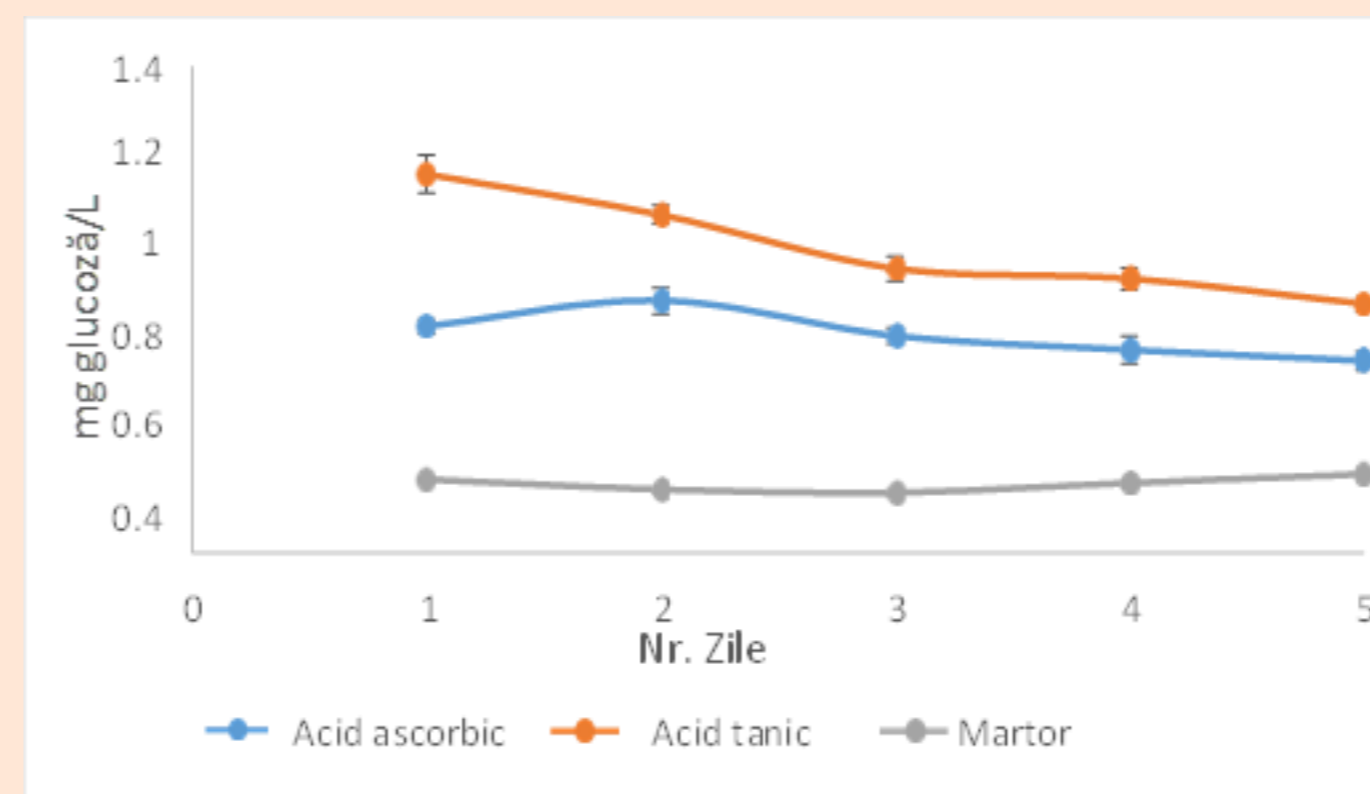


Fig.8 Influența acidului ascorbic și a acidului tanic asupra concentrației de monoglucide reducătoare eliberate din hârtia de filtru în urma biodegradării induse de *P. chrysogenum* la 28°C în mediu bazic

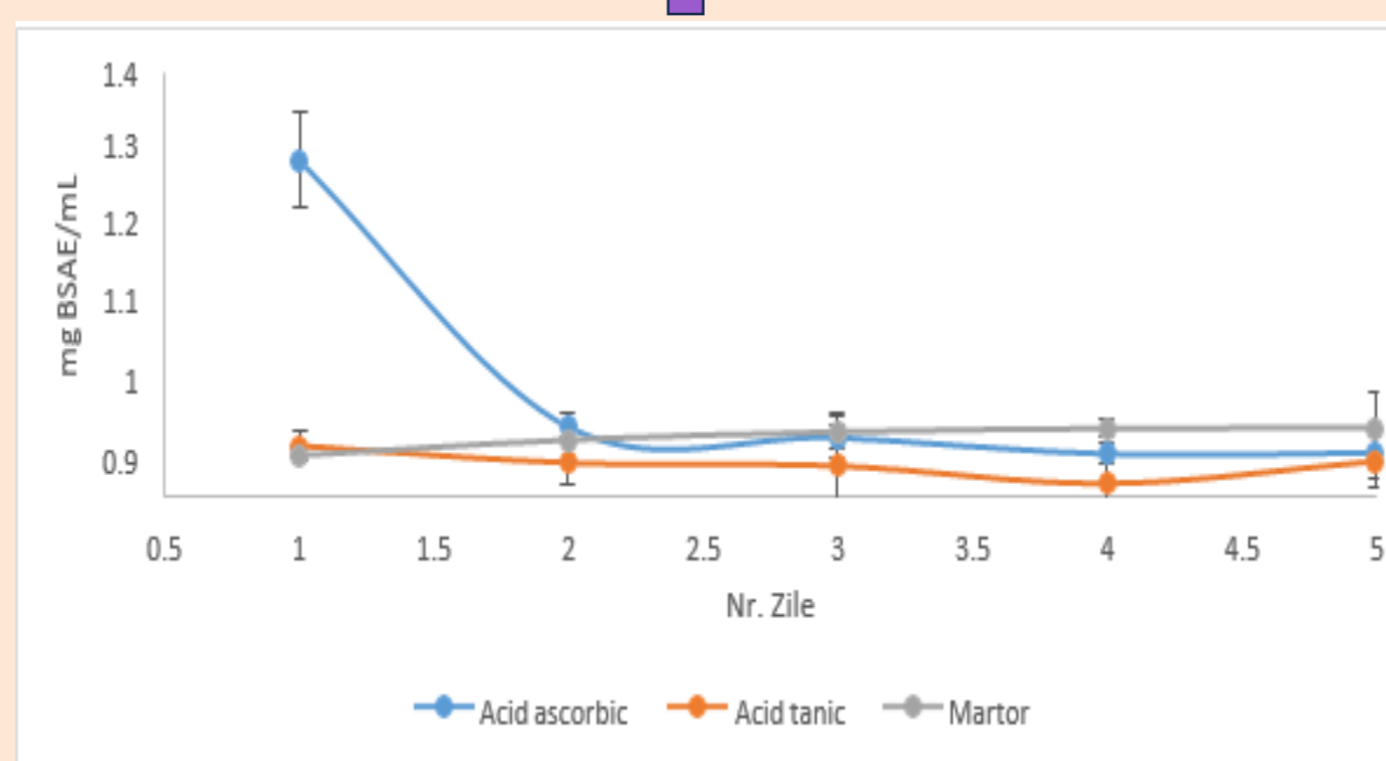


Fig.7 Influența acidului ascorbic și a acidului tanic asupra concentrației de proteine solubile secretate de *P. chrysogenum* la 28°C în mediu acid

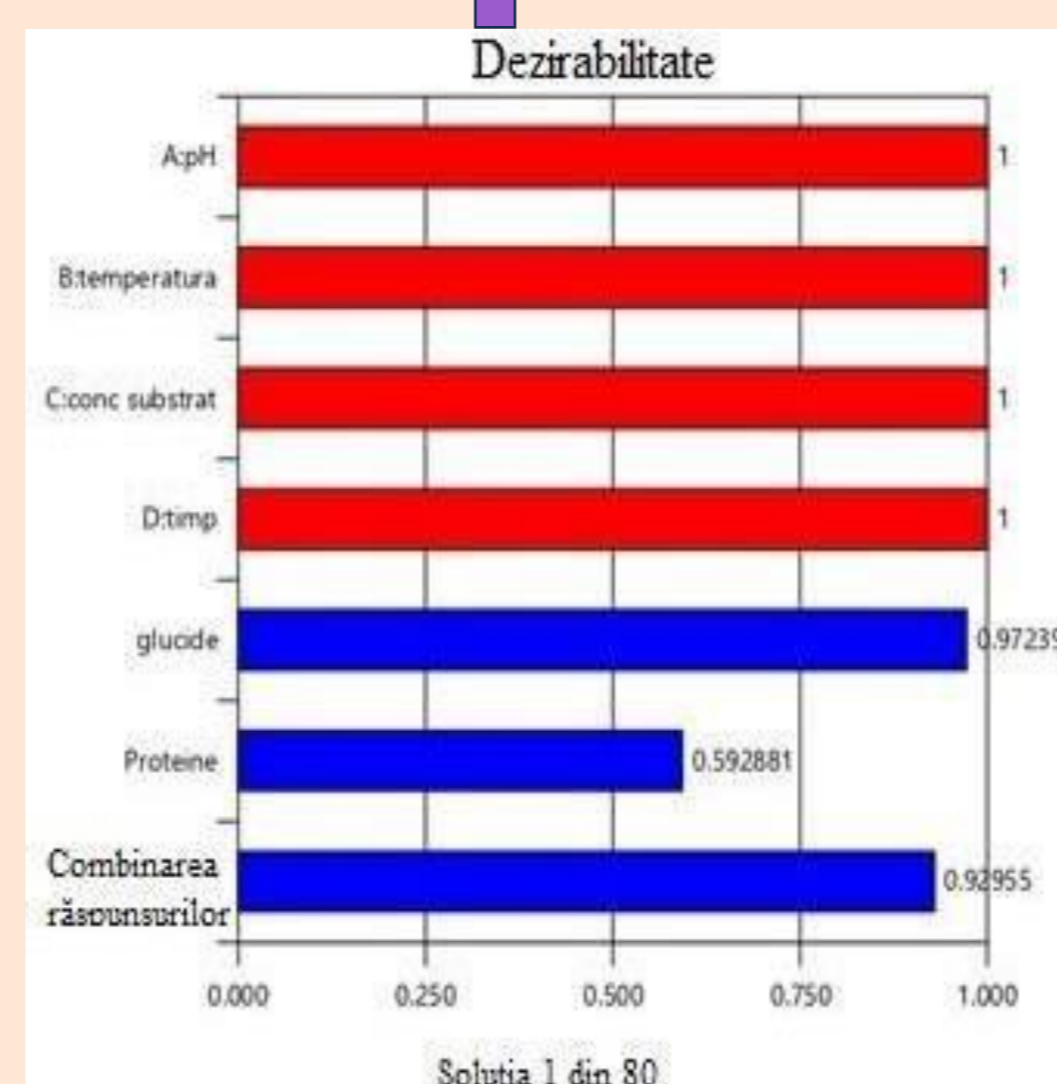


Fig.6 Soluția pentru optimizarea răspunsului multiplu - grafic cu bare de desirabilitate și optimizare combinată a răspunsurilor

Selectarea tulpinii producătoare de celulaze de pe substrat lemnos și cuantificarea totalului de proteine solubile și monoglucide

- *P. chrysogenum* a prezentat cea mai bună activitate enzimatică de hidroliză a caxoximetil celulozei
- Ulterior prin varierea condițiilor de mediu (pH, cantitatea de substrat, temperatură), s-au cuantificat proteinele solubile și glucidele reducătoare din mediul extracelular.

Diagrama de diagnoză a modelului (glucide)

- Diagrama (figura 4) indică faptul că cea mai influentă variabilă este concentrația de substrat (C), în timp ce pH-ul (A), timpul (D) și temperatura (B) s-au dovedit a avea o influență mai mică.

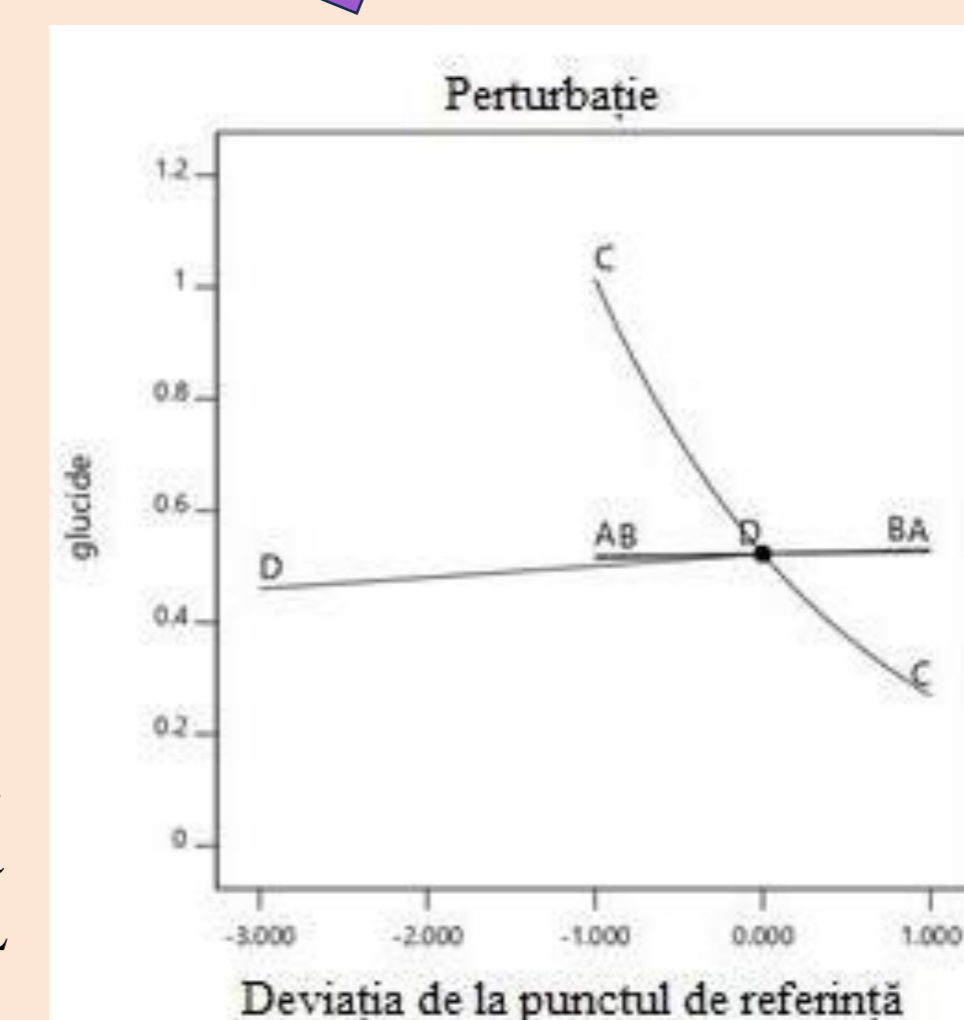


Fig.4 Diagrama de diagnoză a modelului: Influența variației concentrației de substrat, pH, temperatură și timp asupra valorii răspunsului prezis de model.

Diagrama de diagnoză a modelului (proteine)

- Diagrama (figura 5) indică faptul că pH-ul (A) și temperatura (B) sunt cele mai influente variabile, în timp ce concentrația de substrat (C) și timpul (D) de incubare s-au dovedit a avea o influență mai mică.

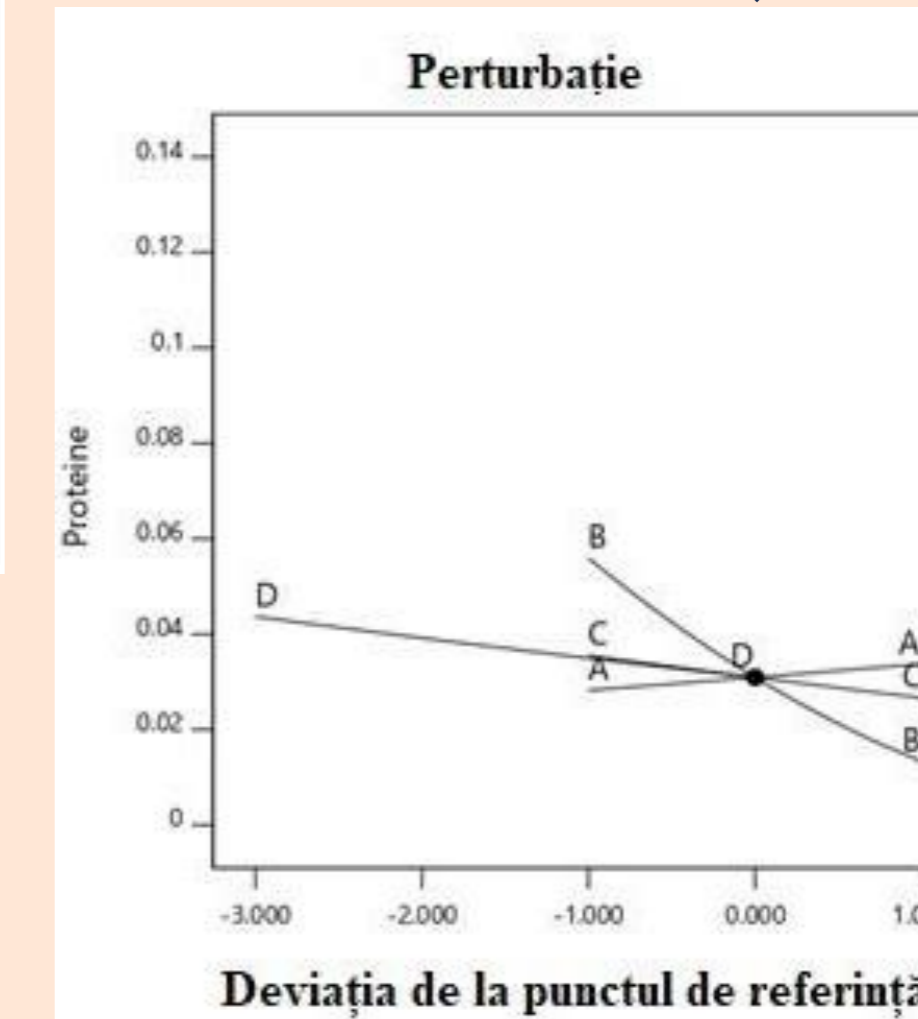


Fig.5 Diagrama de diagnoză a modelului: Influența variației celor patru factori (cantitate substrat, pH, temperatura și timp) asupra valorii răspunsului prezis de model

Tabelul 1. Soluțiile generate de *soft* pentru obținerea unor valori de dizeabilitate cât mai apropiate de optim conform criteriilor selectate

Nr	pH	Temp.	Conc. Substr.	timp	glucide	Proteine	Dezirabilitate
1	4.000	28.000	0.10	5	1.054	0.054	0.930
2	4.000	28.000	0.100	5	1.054	0.054	0.929
3	4.014	28.000	0.100	5	1.054	0.054	0.929
4	4.000	28.000	0.100	5	1.054	0.054	0.928
5	4.038	28.004	0.100	5	1.052	0.054	0.928
6	4.000	28.074	0.100	5	1.054	0.053	0.927
7	4.002	28.000	0.104	5	1.038	0.054	0.927
8	4.000	28.000	0.100	5	1.053	0.054	0.927
9	4.000	28.000	0.106	5	1.031	0.055	0.927
10	4.000	28.079	0.105	5	1.036	0.054	0.925

Soluții generate de *soft* conform funcției de dizeabilitate

- Criterii selectate: grad de biodegradabilitate ridicat (conținut ridicat de monoglucide reducătoare), concentrația de proteine solubile maximizată
- Parametrii optimi: pH acid, temperatura de 28°C, concentrație de 0,1 g/mL timp de incubare - 5 zile.

CONCLUZII

În urma *screening*-ului calitativ, a fost selectată o tulpină de *P. chrysogenum* producătoare de celulaze, pentru care au fost optimizate condițiile pentru o biodegradare maximă și o producție maximă de celulaze, reprezentate de o fermentație în mediu acid, la temperatura de 28°C, timp de 5 zile. Acidul ascorbic a inhibat activitatea enzimatică celulozitică, în timp ce în cazul acidului tanic s-a observat o creștere a activității enzimatiche. Aceste rezultate reprezintă o primă etapă pentru optimizarea modelului experimental care va fi utilizat pentru studiul influenței conservanților /principii active utilizate pentru obținerea unor ambalaje alimentare active, asupra activității enzimatiche a fungilor biodeteriogeni, respectiv asupra biodegradabilității ambalajelor celulozice utilizate în industria alimentară.