

Área: Engenharia de Alimentos

FARELO DE ARROZ SUPLEMENTADO COMO SUBSTRATO PARA PRODUÇÃO DE LIPASE A PARTIR DE *Penicillium crustosum*: UMA VISÃO ECONOMICAMENTE VIÁVEL

Daniela Santos de Oliveira*, Aline Skovronski, Lenir Rigoli Ferraz, Marcell Fernandes Silva, Sheila Maria Predabon, Ricardo Verlindo, Debora Oliveira, Helen Treichel

Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias, URI-Erechim

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

RESUMO

A máxima atividade de lipase produzida por *Penicillium crustosum* em processo de fermentação em estado sólido usando como substrato o farelo de arroz suplementado foi estudada neste experimento. Observou-se uma atividade de esterificação da lipase de 161,88 U/g de substrato seco, onde o farelo de arroz foi suplementado com 1% AO, 1% OA, 4% AMM e 2% U, seguido de 141,36 U/g de substrato seco, onde foram usados 1% AO, 1% OS, 4% AMM e 4% Me. Os suplementos que apresentaram resultados significativos com 90% de significância foram azeite de oliva, óleo de soja e água de maceração de milho.

Palavras-chave: Lipases, *Penicillium crustosum*, farelo de arroz, suplementos.

1 INTRODUÇÃO

As lipases (E.C. 3.1.1.3) são glicerol éster hidrolases capazes de hidrolisar triacilgliceróis liberando ácidos graxos livres, glicerol, mono e diacilgliceróis atuando na interface óleo-água, onde ocorre um aumento da atividade da enzima através do mecanismo de ativação interfacial. Essas enzimas também catalisam reações de esterificação e transesterificação quando presentes em meio não aquoso (Saxena et al. 2003).

O farelo de arroz é um subproduto da indústria de arroz contendo cerca de 87% de matéria seca, 11 a 15% de proteína bruta, 15 a 20% de lipídios e cinzas 6,5%-10% (Juliano &

Becthel, 1994; Rostagno et al., 2000). Ele também contém proteínas com um bom equilíbrio de aminoácidos para os animais monogástricos. O baixo preço do farelo de arroz permite a redução do custo final da ração de suínos e aves, mas pode também ser utilizado como uma fonte economicamente viável para a produção de enzimas como a lipase.

Justifica-se a realização deste trabalho visando a utilização de resíduos agroindustriais como substratos na produção de lipases, agregando valor a materiais de baixo custo no mercado, reduzindo assim o preço final da enzima.

Este experimento teve como objetivo estudar a produção de lipases extracelulares por fermentação em estado sólido em farelo de arroz com diferentes suplementos utilizando o fungo *Penicillium crustosum*.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 Substrato

O farelo de arroz foi fornecido pela empresa Polisul da região de Santa Vitória do Palmar, RS. Este farelo é um subproduto agroindustrial destinado muitas vezes à alimentação animal como bovinos, suínos e aves.

2.1.2 Micro-organismo

O *Penicillium crustosum* foi repicado em frascos erlenmeyer (500 mL), contendo 100 mL de PDA esterilizado e após retirou-se 0,5 mL de suspensão de esporos e incubou-se por 7 dias a 30°C. Para a coleta dos esporos adicionou-se 10 mL de solução aquosa de Tween 80 (0,1% v/v) e pérolas de vidro estériles ao frasco para remoção dos esporos. Para a contagem dos esporos na câmara de Neubauer (Prolab), 1 mL da suspensão foi retirado asépticamente e diluído de 10 a 1000 vezes em solução aquosa esteril de tween 80.

2.1.3 Suplementos

Neste experimento foram utilizados como suplementos o azeite de oliva (AO), óleo de arroz (OA) e óleo de soja(OS) nas concentrações de 0, 1 e 0,5%, água de maceração de milho (AMM) e melação (Me) 0, 2 e 4%, uréia (U) de 0, 1 e 2%.

2.1.4 Fermentação em estado sólido

Para a inoculação dos fungos utilizou-se 2,5 mL de inóculo com concentração de esporos ajustada para se obter 10⁸ esporos/g de substrato. Os béqueres foram incubados a 30 °C, em câmara climatizada (Tecnal TE-410) por 48h em béquer de polipropileno de 600 mL tampados com manta acrílica hidrofóbica, contendo 10 g de farelo de soja seco com umidade ajustada para 60% com água destilada e adicionados de suplementos, e após foi realizada a esterilização (121°C, 15 min).

2.1.5 Atividade enzimática

O processo de extração foi realizado em erlenmeyeres de 250 mL, onde ao meio fermentado era adicionado tampão fosfato de sódio 100 mM pH 7,0 na razão 1:4 (10 g de farelo fermentado para 40 mL de tampão). Estes frascos foram incubados por 30 min a 35 °C e 160 rpm em Shaker. Após incubação, as amostras foram filtradas, utilizando-se tecido de nylon e pressão manual obtendo-se o extrato bruto enzimático para determinação da atividade de esterificação. A partir do extrato enzimático bruto liofilizado quantificou-se a reação de esterificação do ácido oléico e etanol, que foi conduzida a 40 °C, 160 rpm por 40 min onde 0,1 g de enzima foi dissolvida em etanol e ácido oléico. Alíquotas de 500 µL foram retiradas em triplicata no início da reação. A cada amostra foram adicionados 20 mL de uma solução de acetona-etanol (1:1) (v/v) para paralisar a reação e extração do ácido oléico. A quantidade de ácido consumida foi determinada por titulação com NaOH 0,033M. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima que consome 1 µmol de ácido graxo/min, nas condições de ensaio determinadas (Cavalcanti et al., 2005).

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior atividade de esterificação da lipase foi 161,88 U/g de substrato seco, onde o farelo de arroz foi suplementado com 1% AO, 1% OA 4% AMM e 2% U, seguida de 141,36 U/g de substrato seco onde foram adicionados 1% AO, 1% OS, 4% AMM e 4% Me. Ferraz, et al. (2010) estudando a produção de lipase por *Penicillium crustosum* em FES e utilizando como substrato o farelo de arroz encontraram atividade de esterificação de 112,28 U/g de substrato seco (gss). Kempka et al. (2008) investigando a produção lipase por *Penicillium verrucosum* encontraram cerca de 40 U/g de substrato seco. Através desses resultados observa-se que há necessidade de suplementação no farelo de arroz para se obter uma maior produção de lipase.

A Figura 1 demonstra os suplementos que apresentaram resultados significativos com 90% de significância (azeite de oliva, óleo de soja e água de maceração de milho), os outros componentes apresentaram efeito significativo negativo.

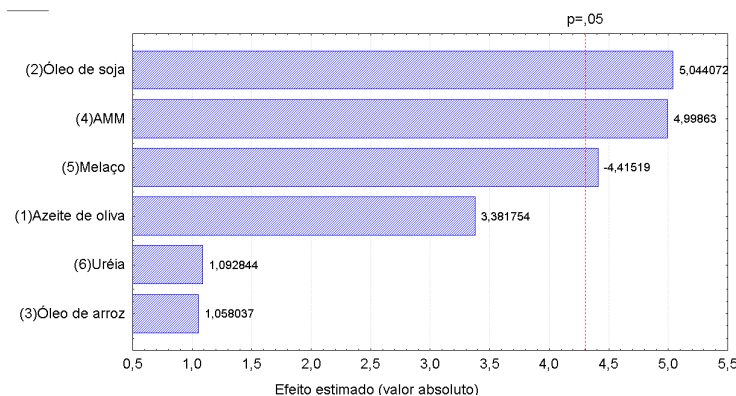


Figura 1- Diagrama de Pareto para análise dos suplementos utilizados no farelo de arroz para melhorar a produção da lipase.

Martins et al. (2008) utilizaram como substrato o farelo de arroz e a casca de arroz em FES junto com 1% de óleo de soja como suplemento e encontraram uma atividade máxima de produção de lipase para o fungo *Phialemonium* de 129,5 U/g de substrato seco e para o fungo *Aspergillus fumigatus* de 119,40 U/g de substrato seco.

3 CONCLUSÃO

O uso de suplementos simples e barato é possível para se produzir uma alta atividade de esterificação utilizando como substrato o farelo de arroz. Os resultados encontrados neste experimento são promissores porque o fungo *Penicillium crustosum* pode produzir atividades de lipases em meio economicamente viável como farelo de arroz, pois este substrato é uma resíduo de baixo custo melhorando assim o preço final da enzima.

REFERÊNCIAS

- CAVALCANTI, E.A.C., GUTARRA, M.L., FREIRE, D.M.G, CASTILHOL.R., SANT'ANNA, G.L. Lipase production by solid-state fermentation in Fixed-Bed bioreactors. Brazilian Archives of Biology and Technology, 48, 79-84, 2005.
- FERRAZ, L.R., OLIVEIRA, D.S, SILVA, M.F., TREICHEL, H., OLIVEIRA, D. Produção de lipase microbiana por fermentação em estado sólido utilizando resíduos agroindustriais. 3º Simpósio de Segurança Alimentar. Anais 3º Simpósio de Segurança Alimentar, Florianópolis, 2010.
- JULIANO, B. O., & BECHTEL, D. B.. The rice grain and its gross composition. In Rice chemistry and technology (pp. 17–57). St. Paul, Minnesota, USA: The American Association of Cereal Chemists, 1994.
- KEMPKA, A. P., LIPKE, N. R., PINHEIRO, T. L. F., MENONCIN, S., TREICHEL, H., FREIRE, D. M. G., ET AL. Response surface method to optimize the production and characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* in solid-state fermentation. Biop. and Biosyt. Eng., 31, 119–125. 2008.
- MARTINS, V.G ET AL. Co-produção de lipase e biosurfactante em FES para utilização em biorremediação de óleos vegetais e hidrocarbonetos. Química Nova, Vol 31, 2008.
- ROSTAGNO, H. S., ALBINO, L. F. T., DONZELE, J. L., FERREIRA, A. S., OLIVEIRA, R. F., & LOPES, D. C. IN H. S. ROSTAGNO (ED.), Tabelas Brasileiras para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais. Vicosa UFV p. 141, 2000.
- SAXENA, R.K., DAVIDSON, W.S., SHEORAN, A., GIRI, B., Purification strategies for microbial lipases. Journal of Microbiology Methods, 52, 1-18, 2003.