

Área: Engenharia de Alimentos

USO DE DIFERENTES SUPLEMENTOS NO FARELO DE SOJA PARA MELHORAR A PRODUÇÃO DE LIPASES POR *Penicillium crustosum*

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

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

*E-mail: danideolive@hotmail.com

RESUMO

Lipases são enzimas pertencentes ao grupo das hidrolases, cuja principal função biológica é catalisar a hidrólise de triacilgliceróis insolúveis em ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis e glicerol. O objetivo deste trabalho foi a utilização de diferentes fontes de suplementos para se obter a maximização da produção de lipase produzida por *Penicillium crustosum* em processo de fermentação em estado sólido usando como substrato o farelo de soja. Observou-se uma máxima produção de 238,38 U/g de substrato seco (gss) com adição de azeite de oliva a 1%, óleo de arroz a 1%, água de maceração de milho a 4% e 2 % de uréia. Este trabalho permite concluir que o *Penicillium crustosum* é um micro-organismo promissor para produção de lipases com atividade de esterificação usando diferentes resíduos agroindustriais como substratos.

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

1 INTRODUÇÃO

As lipases tem um grande número de aplicações biotecnologias devido às diferentes reações que elas são capazes de catalisar, sendo considerado o mais versátil biocatalisador (Reetz, 2002).

Atualmente o plantio de soja no Rio Grande do Sul vem crescendo, e com isso os resíduos fornecidos pelas industrias também, estes muitas vezes são destinados a alimentação animal, como bovinos, suínos e aves. Mas estes resíduos podem ser usados como substratos

sendo economicamente viável para a produção de lipases em processo de fermentação em estado sólido com a suplementação de fontes de carbono e nitrogênio baratas e simples.

Fermentação em estado sólido (FES) é definida como o processo que envolve a matriz sólida e é realizada em ausência ou quase ausência de água livre, no entanto, o substrato possui umidade suficiente para sustentar o crescimento e metabolismo do microrganismo (Singhania et al, 2009).

Este trabalho tem como justificativa a utilização de meios economicamente viáveis para a produção de lipases a partir da FES, pois esta tem se mostrado como uma alternativa na produção de enzimas microbianas, devido à possibilidade de utilização de resíduos e subprodutos da agroindústria como fonte de nutrientes e suporte para o desenvolvimento do micro-organismo.

O objetivo foi estudar a suplementação do meio de produção de lipase em FES por *P. crustosum* visando à utilização de resíduos agroindustriais para se obter um processo mais econômico quando aplicado em diferentes reações de interesse biotecnológico.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

Substrato

Utilizou-se como substrato o farelo de soja - FS (gentilmente doado pelo OLFAR, Erechim, RS, Brasil). Os suplementos foram aproveitados, óleo de soja (OS), óleo de arroz (OA) azeite de oliva (AO), uréia (U), melão de cana (Me), Água de Maceração de Milho (AMM). Utilizou-se o *Penicillium crustosum* com ajuste da quantidade de esporos a uma concentração de 108 esporos/g de farelo de seco (Freire et al., 1997).

Produção de Lipase

A suplementação da produção de lipases por *P. crustosum* foi realizada em 48 horas de fermentação em estado sólido, para o farelo de soja, a 30°C e 60 % de Umidade.

Determinação da atividade de síntese

A síntese de ésteres catalisada pelo extrato bruto seco enzimático foi seguida por ensaios de titulação (Oliveira et al., 2006). Após incubação em agitador por 40 min. a 40 ° C e 160rpm, o teor de ácidos graxos remanescentes na alíquota foram extraídos pela adição de 20 mL de uma solução acetona/etanol (1:1 v / v). Todos os ensaios foram realizados em duplicata e os resultados são expressos em termos de unidades por grama de matéria seca de extrato bruto enzimático (U/g). 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 μ mol de ácido graxo /min, nas condições de ensaio (Cavalcanti et al.2005).

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

SUPLEMENTAÇÃO DO FARELO DE SOJA

A atividade de esterificação mais alta foi obtida com 2,6% (p/p) de AO e 2,3% (p/p) de uréia (186,26U/g), seguida da triplicata do ponto central com 1,5% (p/p) de AO e 5,5% (p/p) de uréia (152,76; 157,46 e 155,11U/g), onde se atingiu a otimização do processo. Rigo et al. (2009), avaliando a cinética do processo fermentativo utilizando *Penicillium* sp., mostraram que a suplementação melhorou o meio de produção da enzima. Uma ótima produção de lipase foi encontrada no farelo de soja suplementado com 6g/kg de uréia e óleo de soja (C/N 6,11), em diferentes pH, a uma temperatura de 20°C.

Ferraz (2010) et al. observaram as maiores atividades de esterificação (174,80 U/g de substrato seco (gss)) do *Penicillium crustosum* por FES utilizando farelo de soja como substrato. Pesquisando os micro-organismos P58 e P74, Rigo et al. (2010) mostraram a possibilidade de produção de lipases com diferentes características alcalinas e ácidas. Em farelo de soja suplementados com uréia e óleo de soja, estes micro-organismo produziram 139,2 e 140,7 U/g de substrato seco em 48 h de fermentação, em condições ácidas e alcalinas, respectivamente.

3 CONCLUSÃO

A utilização dos resíduos agroindustriais como fontes alternativas de substratos para produção de enzimas podem auxiliar na redução da poluição ambiental, além de reduzir o custo global de produção, levando em conta que o Brasil é um país rico, em se tratando destes resíduos, o que justifica a investigação dos mesmos na obtenção de produtos de alto valor agregado.

REFERÊNCIAS

- CAVALCANTI, E.A.C., GUTARRA, M.L., FREIRE, D.M.G, CASTILHO, L.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 solido utilizando resíduos agroindustriais. 3º Simpósio de Segurança Alimentar. *Anais 3º Simpósio de Segurança Alimentar*, Florianópolis, 2010.
- FREIRE, DMG, TELES, EMF, BON, EPS. *Appl Biochem Biotech* V:63, 409p, 1997.
- OLIVEIRA, D, FEIHRMANN, AC, RUBIRA, AF, KUNITA, MH, DARIVA, C, OLIVEIRA, JV. Assessment of two immobilized lipases activity treated in compressed fluids. *J Supercrit Fluids* V.38,p.127-133, 2006.
- REETZ ,M T. Lipases as practical biocatalysts. *Curr Opin Chem Biol* 6(2):145–50, 2002.
- RIGO, E., NINOW, J. L., POLLONI, A. E., REMONATTO, D., ARBTER, F., VARDANEGA, R., OLIVEIRA, D., TREICHEL, H., DI LUCCIO M. Improved lipase biosynthesis by a newly isolated *Penicillium* sp. grown on agricultural wastes. *Industrial Biotechnology*. V:5, p1-5, 2009.
- RIGO, E., NINOW, J. L., DI LUCCIO, M., OLIVEIRA, J. V., POLLONI, A. E., REMONATTO, D., ARBTER, F., VARDANEGA, R., OLIVEIRA, D., TREICHEL, H. Lipase production by solid fermentation of soybean meal with different supplement. *Food Science and Technology*.2010.
- SINGHANIA, R.R, PATEL, A.K, SOCCOL, C. R., PANDEY,A. Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 44, 13–18, 2009.