

V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO COM DIFERENTES INDUTORES PARA PRODUÇÃO DE LIPASES A PARTIR DO FUNGO *ASPERGILLUS NIGER*

AUTOR PRINCIPAL: João Felipe Freitag

CO-AUTORES: Naiara Elisa Kreling e Lucas Kovaleski

ORIENTADOR: Luciane Maria Colla

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO

A contaminação de solos por compostos oleosos ocorre principalmente devido a acidentes ambientais, derramamentos e vazamentos em sistemas de tancagem, requerendo tratamento adequado. Para isto, podem-se utilizar técnicas de biorremediação, que incluem a adição de biocompostos, como enzimas, para degradar substâncias tóxicas, gerando produtos menos nocivos ao meio ambiente (DECESARO, 2013).

As lipases são enzimas aplicadas na degradação de substratos oleosos. Dentre os fungos filamentosos, o *Aspergillus niger* caracteriza-se por ser eficiente produtor de lipase devido a sua capacidade de adaptação a condições ambientais e nutricionais adversas. Para o cultivo desta cepa, pode-se priorizar o uso de resíduos agroindustriais como fonte de nutrientes, agregando valor aos resíduos e reduzindo custos com o bioprocessos.

Objetivou-se selecionar a melhor condição de cultivo para a produção de lipases a partir de *Aspergillus niger*.

DESENVOLVIMENTO

Foi utilizada uma cepa previamente isolada do fungo *Aspergillus niger*, mantida sob refrigeração a 4 °C.

O inóculo foi preparado através da adição de 10 mL de solução de Tween 80 a 0,1% ao tubo contendo a cepa isolada de *A. niger* para a formação de uma solução de esporos. Posteriormente, 5 mL desta solução foram adicionados em um erlenmeyer de 1 L contendo 100 mL de meio ágar-batata-dextrose (PDA) previamente esterilizado em autoclave a 121°C por 20 minutos e já solidificado. O microrganismo foi incubado em estufa a 30 °C por 5 dias.

O meio de cultivo foi composto por uma massa total de 25 g, contendo como macronutrientes 85,7% de farelo de trigo e 14,3% de sabugo de milho moído e peneirado, a fim de aumentar a transferência de oxigênio ao meio de cultivo, e 1% de

V SEMANA DO CONHECIMENTO

CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



ureia. Ao meio também foi adicionado 71% (v/p) de solução salina (BERTOLIN et al., 2001) como fonte de micronutrientes.

A fim de avaliar a produção de lipases, utilizaram-se como indutores para a produção de lipase biodiesel e óleo de soja na concentração de 3%. A umidade do meio foi ajustada para 60% e os meios de cultivo foram esterilizados em autoclave a 121°C por 20 minutos. O cultivo foi realizado por 4 dias a 30 °C, e a atividade lipásica foi mensurada nos tempos inicial e final de cultivo, em duplicata.

A atividade lipásica foi determinada conforme o método proposto por Colla (2009), baseando-se na titulação com NaOH dos ácidos graxos liberados pela ação da enzima lipase presente no extrato enzimático sobre os triacilgliceróis do azeite de oliva emulsionados na goma arábica.

A atividade lipásica obtida configura-se como sendo a quantidade de enzima que libera 1 μmol de ácidos graxos por minuto por mL de extrato enzimático ($1\text{U} = 1 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$), de acordo com a Equação 1 presente no Anexo.

No cultivo com o indutor biodiesel *Aspergillus niger* produziu maior quantidade de lipases do que no meio fermentado contendo óleo de soja. No quarto dia, no meio contendo o biodiesel obteve-se atividade lipásica de 420,715 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g}$, enquanto que no meio com óleo de soja, 356,58 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g}$ (Figura 1). Isto pode ser explicado pois a estrutura química do biodiesel é mais complexa que a do óleo de soja, o que levou a maior produção de lipases pelo fungo para que seja possível a quebra das estruturas químicas e, conseqüentemente, a utilização do mesmo como fonte nutricional de carbono. Ainda, o número de carbonos presente nas múltiplas cadeias ésteres do biodiesel é sumariamente maior que a quantidade de carbonos presentes nas moléculas dos ácidos graxos, como no caso do óleo de soja.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Constatou-se que a maior produção de lipases pelo fungo *Aspergillus niger* ocorreu quando utilizado o indutor biodiesel na concentração de 3%. A lipase produzida pode ser utilizada para remediar contaminações ambientais por óleos, e os custos de produção desta enzima podem ser diminuídos com uso de resíduos agroindustriais, utilizados como fonte de nutrientes para o fungo produtor.

REFERÊNCIAS

BERTOLIN et al., T.E.; COSTA, J.A.V.; PASQUALI, G.D.L. Glucoamylase production in batch and fed-batch solid state fermentation: effect of maltose or starch addition. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 11, n. 1, p. 13-16, 2001.

COLLA, L. M. **Otimização da produção biotecnológica de lipases e correlação com a produção de biossurfactantes**. 2009. 202 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 2009.

V SEMANA DO CONHECIMENTO

CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



DECESARO, A. **Bioestimulação de solo contaminado por compostos oleosos com biomassa microalgal inativa.** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Engenharia Ambiental. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2013.

ANEXO

Equação utilizada para o cálculo de Atividade Lipásica ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$).

$$AL = \frac{v(mL) * M * 11000}{T * massaFF(g)} \quad (1)$$

Sendo,

v (mL) = Volume do titulante utilizado

M ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) = concentração do titulante

t (min) = tempo de agitação na mesa giratória

massa FF (g) = massa de farelo fermentado adicionado

Figura 1. Resultados de atividade lipásica obtidos no dia inicial e em 4 dias de cultivo.

