

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

PRODUÇÃO DE ENZIMAS LIPÁSICAS A PARTIR DE CEPA FÚNGICA

AUTOR PRINCIPAL: Regina Migliavacca

CO-AUTORES: Victória Dutra Fagundes, Naiara Elisa Kreling

ORIENTADOR: Luciane Maria Colla

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO

Durante a exploração, o transporte e o armazenamento de combustíveis e biocombustíveis, acidentes envolvendo derramamentos e vazamentos podem ocorrer, ocasionando a contaminação de solos e rios (ANDRADE, 2010), requerendo tratamento adequado. As técnicas de biorremediação, como a aplicação de enzimas, são utilizadas no tratamento de solos contaminados por compostos oleosos. As enzimas podem ser obtidas através do cultivo de microrganismos e tem se mostrado boa opção pela possibilidade de serem produzidas em resíduos agroindustriais, reduzindo os custos de produção enzimática.

Os fungos filamentosos destacam-se na produção de lipases pelas características de metabolismo e morfologia, possuindo capacidade de adaptação em vários tipos de cultivo e pela produção extracelular da enzima, o que facilita sua recuperação após o cultivo (ELIBOL, 2002 apud MARTINS, 2008).

Objetivou-se avaliar a produção de enzimas lipolíticas na presença de diferentes concentrações e tipos de indutores.

DESENVOLVIMENTO

Microrganismo, inóculo e meio de cultivo:

Utilizou-se uma cepa isolada do fungo *Aspergillus niger*, armazenada a 4º C no Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos da Universidade de Passo Fundo.

A cepa isolada do fungo foi adicionado 10 mL de solução Tween 80 a 0,1% para formação de solução de esporos. Uma alíquota de 5 mL desta solução foi retirada e adicionada em erlenmeyer contendo 100 mL de meio Ágar Batata Dextrose (PDA) previamente esterilizado em autoclave a 121ºC por 20 min. O microrganismo foi encubado em estufa para crescimento a 30ºC durante 5 dias.

O meio de cultivo foi preparado com uma massa total de 25 gramas, composto de 20 g de farelo de trigo, 5 g de sabugo de milho moído, 0,75 g de nitrato como fonte de micronutrientes e 20 mL de solução salina composta por 2 g. L⁻¹ de KH₂PO₄- 1 g. L⁻¹ de MgSO₄ e 0 mL. L⁻¹ de solução de traço (BERTOLINI et al.,2001). A umidade do meio de cultivo foi corrigida para 60%. Após foram auto clavados a 121°C durante 20 minutos.

A fim de promover a produção de enzimas lipolíticas, foram avaliados os indutores óleo de soja e glicerol, na concentração de 1% e 3% (m/v). Os cultivos foram realizados durante 5 dias avaliando-se a produção enzimática nos tempos iniciais e finais do cultivo.

A atividade lipolítica foi obtida através do método de Burkert et al. (2004), na qual utiliza-se NaOH para titulação dos ácidos graxos liberados pela lipase presente no extrato enzimático sobre os triacilgliceróis do azeite de oliva.

A determinação da atividade lipásica foi realizada de acordo com a Equação 1, sendo uma unidade de atividade lipásica a quantidade de enzima que libera 1 µmol de ácidos graxos por minuto por grama de farelo fermentado (1U=µmol. Min⁻¹.g⁻¹).

$$AL=(v(\text{mL}).M.11000)/(t.\text{massa FF}(\text{g}))$$

Onde:

v (mL) = Volume do titulante utilizado

M (mol. L⁻¹) = concentração do titulante

t (min) = tempo de agitação na mesa giratória

massa FF (g) = massa de farelo fermentado adicionado

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Através das análises verificou-se que quanto maior a concentração de indutor no meio de cultivo, maior produção enzimática será necessária. De acordo com os resultados verificados nas Figuras 1 e 2, para o tempo inicial (0d) e final (5d) de cultivo, percebe-se que o melhor indutor foi o glicerol na concentração de 3%, com produção de lipase de 3481,61 U, seguido pelo indutor óleo de soja na concentração de 3% (3027,72 U). A adição de 1% de ambos indutores resultou em baixa produção enzimática.

As estruturas químicas destes indutores são de fundamental importância, pois se comparadas é possível notar que o glicerol possui estrutura de maior complexidade em relação ao óleo de soja, ou seja, o fungo filamentoso terá mais dificuldade em degradar o glicerol devido a sua estrutura química ser mais complexa e consequentemente terá que produzir maior número de enzimas lipolíticas (BAKKER, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de lipases pelo fungo *Aspergillus Niger* é viável quando utilizado o processo de fermentação em estado sólido.

O indutor verificado com maior produção de enzimas lipolíticas foi o glicerol, no percentual de adição 3% com resultado final de 3481,61 U.

REFERÊNCIAS

COLLA, Luciane Maria; REINEHR, Christian Oliveira; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Aplicações e produção de lipases microbianas. Revista CIATEC-UPF, v. 4, n. 2, p. 1-14, 2013.

REINEHR, Christian Oliveira et al. Produção de lipases de *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* através de fermentação em estado sólido, avaliação da especificidade do substrato e seu uso em reações de esterificação e alcoólise. *Quim. Nova*, v. 37, n. 3, p. 454-460, 2014.

RAIMBAULT, M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.1, n.3, 1998.

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): Número da aprovação.

ANEXOS

As Figuras 1 e 2 apontam os resultados verificados para o tempo inicial (0d) e final (5 d) de cultivo.

