



RESUMO

ATIVIDADES DE ESTERIFICAÇÃO DE LIPASES FÚNGICAS FRENTE A DIFERENTES SUBSTRATOS E USO DAS MESMAS EM REAÇÕES DE ALCOÓLISE

AUTOR PRINCIPAL:

Tatiana Moresco Smaniotto

E-MAIL:

tati.ms@hotmail.com

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Pibic UPF ou outras IES

CO-AUTORES:

Lúisa Bortoluzzi, Juliana Rizzardi, Luciane Maria Colla

ORIENTADOR:

Christian Reinehr

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

Engenharia de alimentos

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

As lipases pertencem à família das hidrolases, atuam na interface orgânico-aquosa, catalisando a hidrólise de ligações éster-carboxílicas e liberando ácidos e álcoois orgânicos. Entretanto, a reação inversa, esterificação, pode ocorrer em ambientes com restrição de água. Dessa forma, as lipases constituem, atualmente, um importante grupo de enzimas com enorme potencial para aplicações biotecnológicas. As enzimas lipolíticas podem apresentar diferentes tipos de especificidades, tais como de substrato e posicional. Os objetivos deste trabalho foram realizar a produção de lipases com atividade de esterificação a partir da seleção de fungos filamentosos via fermentação em estado sólido, avaliar a influência de variáveis no processo de produção, avaliar a especificidade das lipases em relação aos substratos de reação de esterificação e avaliar a aplicação das lipases na reação de alcoólise de óleo vegetal.

METODOLOGIA:

O meio de cultivo foi preparado a partir de 80 % de farelo de soja e 20 % de casca de soja, umidade de 65%, óleo de soja como indutor (1%) e uréia como fonte de nitrogênio (1%). O meio de cultivo foi autoclavado e inoculado com 1 mL de solução de esporos fúngicos, seguido de incubação a 30 °C por 96 h. As condições de pH do meio de cultivo, do processo de obtenção da enzima e do substrato utilizado nas reações de esterificação foram variadas da seguinte forma: a) fungos: *Aspergillus niger* O4 e *Aspergillus fumigatus*; b) pH do meio: com e sem ajuste do pH do meio em 4,5; método de extração da enzima: uso do farelo fermentado liofilizado ou extração da enzima em tampão com posterior liofilização; d) substrato utilizado na reação de esterificação: ácido oleico, ácido butírico e ácido láurico. As enzimas obtidas também foram utilizadas em reações de alcoólise de óleo de soja segundo Faccio (2004), sendo os metil ésteres de ácidos graxos analisados através de cromatografia gasosa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A lipase produzida pelo fungo O4 (*Aspergillus niger*) apresentou especificidade pelos ácidos oléico (C18:1) e butírico (C4:0), com atividades máximas de 451, 50 U/g e 661, 43 U/g (Tabela 1), respectivamente, para as amostras obtidas a partir da fermentação sem ajuste de pH do meio e utilizando a enzima semi-imobilizada no próprio farelo fermentado liofilizado. A lipase produzida pelo fungo *Aspergillus fumigatus* apresentou especificidade pelo ácido oléico, com máxima atividade de 395,43 U/g (Tabela 2) na amostra obtida a partir da fermentação com ajuste do pH do meio em 4,5 e utilizando a enzima semiimobilizada no farelo fermentado liofilizado. Utilizando o ácido butírico como substrato na reação de esterificação, somente a lipase produzida em meio sem ajuste de pH e utilizando a enzima semi-imobilizada apresentou atividade de 410,75 U/g (Tabela 2). Na reação para produção de ésteres etílicos em solvente orgânico, a lipase produzida pelo fungo O4 (*Aspergillus niger*) apresentou maior conversão (5,32 %) na amostra em que o pH do meio era 4,5 e feito a extração e liofilização da enzima. Já a lipase produzida pelo fungo *Aspergillus fumigatus* conduziu maior conversão de 2,55 % na amostra em que o pH do meio era 4,5 e a enzima semi-imobilizada e liofilizada no farelo fermentado. As variáveis umidade, uréia, óleo de soja e farelo de soja avaliadas na produção de lipase mostraram influência sobre as atividades de esterificação, uma vez que variando os níveis estudados destas através de planejamentos fatoriais foi possível observar os efeitos que estas variáveis exercem sobre a atividade.

CONCLUSÃO:

A maior atividade obtida foi com o O4 (*Aspergillus niger*) de 661, 43 U/g com o ácido butírico (Tabela 1), para as amostras de fermentação sem ajuste de pH do meio e utilizando a enzima semi-imobilizada no próprio farelo fermentado liofilizado. Obtendo a maior conversão de 5,32 % (Tabela 3) na amostra com pH 4,5, extração e liofilização da enzima.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

FACCIO, C. Estudo da produção de ésteres etílicos a partir da alcoólise de óleos vegetais.2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões ç URI, Erechim/RS.

PANDEY, A.; SELVAKUMAR, P.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P. Solid state fermentation for the production of industrial enzyme. *Current Science*. v. 77, n. 1, p.149-162, 1999.

Tabela 1- Resultados das atividades de esterificação do fungo *Aspergillus niger* (O4).

Amostra	Identificação	Tempo (h)	AE (U/g) *
1	A	96	185,52 ± 56,09
1	B	96	0
1	C	96	125,47 ± 16,73
2	D	96	119,39 ± 59,69
2	E	96	0
2	F	96	112,73 ± 51,05
3	G	96	451,50 ± 0
3	H	96	0
3	I	96	661,43 ± 15,93
4	J	96	450,59 ± 17,46
4	L	96	0
4	M	96	514,19 ± 52,29

*Resultados de média ± desvio padrão; Amostra 1 = meio de cultivo com pH 4,5, liofilização com o meio (PES); Amostra 2 = meio de cultivo com pH4,5, extração e liofilização; Amostra 3 = meio de cultivo sem ajuste de pH, liofilização com o meio (PES); Amostra 4 = meio de cultivo sem ajuste de pH, extração e liofilização; Identificação A, D, G e J = com ácido oléico; Identificação B, E, H e L = com ácido láurico; Identificação C, F, I e M = com ácido butírico.

Tabela 2- Resultados das atividades de esterificação do fungo *Aspergillus fumigatus*.

Amostra	Identificação	Tempo (h)	AE (U/g) *
5	N	96	395,43 ± 8,41
5	O	96	0
5	P	96	0
6	Q	96	375,48 ± 12,65
6	R	96	0
6	S	96	0
7	T	96	374,54 ± 0
7	U	96	0
7	V	96	410,75 ± 25,88
8	X	96	374,88 ± 7,97
8	Z	96	0
8	W	96	0

*Resultados de média ± desvio padrão; Amostra 5 = meio de cultivo com pH 4,5, liofilização com o meio (PES); Amostra 6 = meio de cultivo com pH4,5, extração e liofilização; Amostra 7 = meio de cultivo sem ajuste de pH, liofilização com o meio (PES); Amostra 8 = meio de cultivo sem ajuste de pH, extração e liofilização; Identificação N, Q, T e X = com ácido oléico; Identificação O, R, U e Z = com ácido láurico; Identificação P, S, V e W = com ácido butírico

Tabela 3- Conversões obtidas na alcoólise enzimática do óleo de soja em solvente orgânico do fungo *Aspergillus niger* (O4) e *Aspergillus fumigatus*.

Amostras	Microrganismos	Conversão (%) *
1	<i>Aspergillus niger</i>	1,76 ± 0,19
2	<i>Aspergillus niger</i>	5,32 ± 0,55
3	<i>Aspergillus niger</i>	0,75 ± 0,11
4	<i>Aspergillus niger</i>	2,04 ± 0,21
5	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2,55 ± 0,40
6	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2,28 ± 0,31
7	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2,19 ± 0,28
8	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,57 ± 0,14

*Resultados de média ± desvio padrão; Amostra 1 e 5 = meio de cultivo com pH 4,5, liofilização com o meio (PES); Amostra 2 e 6 = meio de cultivo com pH4,5, extração e liofilização; Amostra 3 e 7 = meio de cultivo sem ajuste de pH, liofilização com o meio (PES); Amostra 4 e 8 = meio de cultivo sem ajuste de pH, extração e liofilização

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador