

DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE LIPOLÍTICA DE BIOMASSA PRODUZIDA A PARTIR DE SORO DE LEITE UTILIZANDO YARROWIA LIPOLYTICA

MAYARA KUASNEI^{1*}, THAINARA AMANDA DUARTE VENDRUSCOLO¹, HIGOR CUSTODIO¹, VANESSA G. SILVA¹, THIAGO B. BITENCOURT¹

¹Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul;

*Autor para correspondência: Mayara Kuasnei (mayara_kuasnei@hotmail.com)

1 Introdução

A indústria de alimentos gera muitos resíduos, tendo como exemplo o soro do leite também conhecido como *Wheyprotein*, que é extraído durante o processo de fabricação do queijo. Esse resíduo possui alto valor nutricional, pois contém aminoácidos essenciais, apresenta também alto teor de cálcio e peptídeos bioativos. Por isso a importância dos resíduos de serem reaproveitados, pois podem servir como fonte de proteínas e enzimas (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006).

As enzimas são proteínas globulares solúveis sintetizadas pelos organismos de seres vivos com a finalidade específica de catalisar reações bioquímicas, que não ocorreriam sob as condições fisiológicas habituais. Elas agem sob condições moderadas, o que as tornam catalisadores ideais para tecnologia de alimentos (KOBBLITZ, 2008). Elas fornecem substrato, ajudam na produção de flavor, além de criar estrutura de alimentos. As enzimas podem estar presentes nos alimentos de forma natural, sendo responsáveis por modificações nos mesmos que podem ser benéficas ou prejudiciais (ORDÓÑEZ, 2005).

As lipases são enzimas hidrolíticas presentes em diversos organismos, incluindo animais, plantas, fungos e bactérias (COSTA; AMORIM, 1999). São conhecidas por catalisarem em seu meio natural, a hidrólise de ésteres, especificamente triacilgliceróis em ácidos graxos livres, di e monoacilglicerol e glicerol (FABER, 2005). Em alimentos elas agem na maturação acelerada de queijos, na melhora a textura de pães, aumentando a capacidade de retenção de água e diminuindo a sinérese, o que prolonga a vida de prateleira do mesmo (KOBBLITZ, 2008).

A *Yarrowia lipolytica*, segundo Coelho et al. (2010), é um microrganismo que está sendo muito estudado pois é uma levedura estritamente aeróbica capaz de produzir metabolitos importantes e possui atividade secretora intensa, o que justifica esforços no sentido de utilizá-lo na indústria. Um dos produtos mais importantes segregados por este microrganismo é a lipase, uma enzima que atrai o interesse dos cientistas, podendo ser explorada para várias aplicações nas indústrias de alimentos.

2 Objetivo

O presente trabalho tem como principal objetivo medir a potencial aplicação de *Yarrowia lipolytica* na produção de enzimas com atividades lipolíticas utilizando resíduo agroindustrial (soro do leite).

3 Metodologia

3.1 Preparo do inóculo

Em um balão volumétrico foi preparado uma solução aquosa de glicose (2%), peptona (1%), extrato de levedura (0,5%), ágar (2%) e água destilada. Essa mistura foi autoclavada e então distribuídos em placas de Petri (já esterilizadas) dentro da capela de fluxo laminar. Após aplicação do GYP nas placas foi realizado a repicagem da levedura por esgotamento. As placas foram transferidas para uma estufa com 30°C para o crescimento das leveduras.

A contagem de células (10^7 células) foi realizada em solução salina 0,9% utilizando a escala de turbidez de McFarland.

3.2 Meio de cultivo e condições experimentais/Produção de lipases

Para a produção de lipases foi utilizado como fonte de carbono o soro do leite nas concentrações de 5%, 10% e 15%, o qual foi suplementado com os seguintes nutrientes: NaNO_3 (1%), KH_2PO_4 (0,1%), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,05%), e Tween 20 (1%).

Os experimentos foram realizados em colunas de Rambault (15 mL) com volume inicial de meio de cultivo com cerca de 14 mL. Logo após a adição da levedura, estes foram submetidos a banho Dubnoff sem agitação por 9 dias a uma temperatura de 30 °C.

3.3 Quantificação da atividade enzimática

A atividade enzimática foi determinada com base na hidrólise enzimática do acetato de isoamila o qual dispensa sistemas de emulsão por se tratar de um éster de cadeia curta (FABER, 2005). Após a fermentação foi adicionado 1,0 g do éster (7,7 mmol), 60 mL de água destilada. Esta mistura foi submetida a banho Dubnoff por 1 hora a 150 rpm.

Ao término da reação, as misturas reacionais foram tituladas com uma solução de NaOH (0,5 M) na presença do indicador fenolftaleína até o aparecimento da cor rosa. A atividade lipolítica preliminar foi determinada como quantidade de enzima que liberou 1 μ mol de ácido carboxílico por minuto.

4 Resultados e Discussão

A determinação da atividade enzimática foi realizada em triplicatas. A amostra com 5% de soro do leite apresentou média de atividade enzimática de 3,067 U/g, a amostra de 10% apresentou média de 3,666 U/g e a amostra de 15% atingiu uma média de 4,64 U/g. Na determinação de atividade enzimática em diferentes concentrações 5%, 10% e 15% verificou-se que a levedura *Yarrowia lipolytica* apresentou melhor rendimento na concentração de 15% de soro do leite.

5 Conclusão

A cultura brasileira na indústria de alimentos está provocando muitas perdas de resíduos no seu processamento, diminuindo a disponibilidade de recursos para a população. Uma alternativa que vem crescendo é o aproveitamento de resíduos, que podem ser incluídos na alimentação humana como um subproduto. Nesse trabalho foi observado que a utilização do resíduo (soro do leite), empregado a levedura *Yarrowia lipolytica* para a produção de enzimas, fornecerá extensas aplicações na indústria de alimentos, diminui os altos custo de produção.

Palavras-chave: enzimas; lipases; resíduos industriais.

Fonte de Financiamento

PIBIC – CNPq

Referências

COELHO, Z. A. M. AMARAL, F. F. P. BELO I. **Yarrowia lipolytica: an industrial workhorse. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, 930-944, 2010.

COSTA, U. E. V.; AMORIM, N. L. H.; **O emprego de lipases como agentes de resolução cinética de enantiômeros em síntese orgânica: aspectos gerais sobre a influência do solvente. Instituto de Química Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 22(6), 91501-970, 1999.

FABER, K.; KROUTIL, W. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, 9, (2): 181-187, 2005.

HARAGUCHI, Fabiano Kenji; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 479-488, Aug. 2006.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. 1. ed., Guanabara, 2009.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. 1. ed.. Porto Alegre: Artmed, 2005.