

## TÉCNICAS DE CONCENTRAÇÃO DA ENZIMA LIPASE DE *Aspergillus niger* COM POSTERIOR APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE ÓLEOS RESIDUAIS

**KARINA PAULA PRECZESKI<sup>1,2\*</sup>, ANGELA B. KAMANSKI<sup>1,2</sup>,  
VANUSA ROSSETTO<sup>1,2</sup>, SIMONE MARIA GOLUNSKI<sup>1,2</sup>, HELEN TREICHEL<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim; <sup>2</sup>Grupo de Estudos em Agroenergia e Linhas de  
Pesquisas em Bioprocessos e Aplicação em Bioenergias

\*Autor para correspondência: Karina Paula Preczeski (karinapreczeski@gmail.com)

### 1 Introdução

As lipases (EC 3.1.1.3) são enzimas capazes de hidrolisar as moléculas de triglicerídeos. Visando potencializar a aplicação destas enzimas, técnicas de precipitação podem ser muito promissoras. A precipitação de proteínas com sais e solventes é considerada uma ferramenta importante para a concentração de proteínas, promovendo a separação de proteínas dos demais compostos do meio, facilitando processos subsequentes (MARTINS, 2001).

Uma possibilidade de aplicação das enzimas *homemade* concentradas é no tratamento de efluentes ou resíduos. O uso de enzimas microbianas hidrolíticas em óleo residual de fritura pode acelerar a degradação dos óleos e facilitar o tratamento desses rejeitos visando reduzir os impactos negativos desses óleos devido ao descarte inadequado no ambiente (KUMAR et al., 2012).

### 2 Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração da enzima lipase produzida por *Aspergillus niger* por fermentação em estado sólido, com posterior aplicação no tratamento de óleos residuais de fritura.

### **3 Metodologia**

#### **Produção da enzima lipase**

A lipase foi produzida utilizando o fungo *Aspergillus niger* e torta de canola como substrato, empregando fermentação em estado sólido (TREICHEL et al, 2016).

#### **Determinação da atividade hidrolítica**

A atividade hidrolítica da lipase foi determinada de acordo com metodologia proposta por Treichel et al. (2016).

#### **Determinação da proteína total**

A concentração da proteína total foi determinada seguindo o método de Bradford et al. (1976) utilizando albumina de soro bovino (ASB) como substrato.

#### **Avaliação da concentração das lipases**

Os efeitos da concentração de solvente (10-90%), da concentração de NaCl (0-1,0 mol/L) e da vazão da bomba (0,76-19,24 mL/min) foram analisados por Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR 2<sup>3</sup>). Estes níveis foram definidos com base em trabalhos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa.

#### **Reação hidrolítica do óleo residual de fritura**

A hidrólise do óleo residual de fritura foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Mulinari et al. (2017).

### **4 Resultados e Discussão**

Os resultados do planejamento de experimentos para avaliar as condições da precipitação das lipases são apresentados na Tabela 1.

A atividade específica do extrato enzimático bruto foi de 2,9 U/mg. É observado um incremento na atividade específica para a maioria dos ensaios depois da precipitação. É importante destacar também que quase a totalidade dos ensaios apresentaram Rendimento (R) superior a 100%, sugerindo que a precipitação está removendo os inibidores enzimáticos,

muito encontrados em meios fermentativos. Os menores rendimentos foram encontrados nos ensaios 3, 4, 7, 8 e 12, devido ao uso de concentrações elevadas de solventes, acarretando possivelmente na desnaturação enzimática.

Com exceção dos testes 3, 4, 7, 8 e 12, todos os demais pontos apresentaram Fator de Purificação (FP) maior que 1, mostrando que a precipitação pode gerar diferentes graus de purificação. O maior FP para a acetona foi obtido no ensaio 10 (11,60 vezes) e no ensaio 9 para o álcool etílico.

**Tabela 1:** Matriz do planejamento de experimentos (valores reais e codificados) e respostas em termos de atividade específica, fator de purificação (FP) e rendimento (R).

Ensaio	VARIÁVEIS			ACETONA			ÁLCOOL ETÍLICO		
	Vazão (mL/min)	Conc. Solv. (%)	Sal NaCl (mol/L)	Ativ. Espec. (U/mg)	FP	R (%)	Ativ. Espec. (U/mg)	FP	R (%)
<b>Bruta</b>	-	-	-	2,90	1,00	100,00	2,90	1,00	100,00
1	-1 (4,5)	-1 (26)	-1 (0,2)	12,21	4,21	115,10	15,27	5,26	157,31
2	1 (15,5)	-1 (26)	-1 (0,2)	28,31	9,76	263,78	13,95	4,81	131,41
3	-1 (4,5)	1 (74)	-1 (0,2)	9,06	3,12	63,31	0,00	0,00	0,00
4	1 (15,5)	1 (74)	-1 (0,2)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	-1(4,5)	-1 (26)	1 (0,8)	14,80	5,10	152,51	6,73	2,32	66,18
6	1 (15,5)	-1 (26)	1 (0,8)	18,69	6,44	192,00	10,21	3,52	98,80
7	-1 (4,5)	1 (74)	1 (0,8)	5,36	1,85	11,76	0,00	0,00	0,00
8	1 (15,5)	1 (74)	1 (0,8)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	-1,68 (0,76)	0 (50)	0 (0,5)	21,02	7,25	167,51	28,50	9,82	156,73
10	1,68 (19,24)	0 (50)	0 (0,5)	33,63	11,60	221,39	7,03	2,42	40,16
11	0 (10)	-1,68 (10)	0 (0,5)	4,13	1,43	56,82	5,18	1,79	61,71
12	0 (10)	1,68 (90)	0 (0,5)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	0 (10)	0 (50)	-1,68 (0)	5,75	1,98	40,16	14,35	4,95	100,96
14	0 (10)	0 (50)	1,68 (1)	19,23	6,63	143,63	14,13	4,87	100,96
15	0 (10)	0 (50)	0 (0,5)	30,70	10,58	173,39	19,21	6,62	128,53
16	0 (10)	0 (50)	0 (0,5)	30,46	10,50	164,57	16,42	5,66	89,20
17	0 (10)	0 (50)	0 (0,5)	28,64	9,87	164,57	19,57	6,75	104,55

\* FP: Fator de Purificação; R: Rendimento.

Depois de otimizados os processos de precipitação das lipases, a melhor condição do planejamento para acetona e etanol foi utilizada para testar a degradação do óleo residual de fritura com as condições otimizadas por Mulinari et al. (2017), utilizando uma relação

óleo:solvente de 1:3 e concentração enzimática de 15%. Os resultados mostraram uma liberação de 421,60  $\mu\text{mol/mL}$  de ácidos graxos livres para a acetona e de 753,07  $\mu\text{mol/mL}$  para o etanol, mostrando que esta pode ser uma eficiente técnica de pré-tratamento de óleos residuais de fritura.

## 5 Conclusão

O emprego da mudança da força iônica do meio seguida de precipitação com solventes orgânicos gerou a ativação das enzimas, provavelmente devido à remoção de inibidores. A hidrólise do óleo residual de fritura catalisada pela lipase pré-purificada pode ser considerada uma ótima estratégia de tratamento, pois consegue converter significativas concentrações de triglicerídeos em ácidos graxos livres.

## Referências

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v.72, p.248-254, 1976.
- KUMAR, S.; et al. Bioremediation of waste cooking oil using a novel lipase produced by *Penicillium chrysogenum* SNP5 in solid medium containing waste grease. **Biosource Technology**, v. 120, p. 300-304, 2012.
- MARTINS, T. S. **Produção e purificação de lipases de *Yarrowia lipolytica***. Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.
- MULINARI, J.; et al. Ultrasound-assisted hydrolysis of waste cooking oil catalyzed by homemade lipases. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 35, p. 313-318, 2017.
- TREICHEL, H.; et al. Lipase Production from a newly Isolated *Aspergillus Niger* by Solid State Fermentation using Canola Cake as Substrate. **Current Biotechnology**, v.5, p.1-7, 2016.

**Palavras-chave:** Enzimas; Solventes orgânicos; Óleo de fritura.

## Fonte de Financiamento

PIBIC – CNPq/UFFS