



# PRODUÇÃO DE LIPASE POR *Geotrichum* sp. UTILIZANDO RESÍDUO INDUSTRIAL COMO FONTE DE NITROGÊNIO



*Panciera, A. L.\*; Maldonado, R.R.; Macedo, G.A.; Maugeri, F.; Rodrigues, M.I.*

Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas,  
Cidade Universitária Zeferino Vaz, 13083-970, Campinas-SP, Brasil

\*e-mail: andre06@fea.unicamp.br

## 1. Introdução

- A produção de lipase por microrganismos tem sido muito estudada devido a vários fatores, entre eles a sua utilização em processos de hidrólise em interface óleo-água.
- O interesse por lipases microbianas tem aumentado nos últimos anos devido ao seu amplo potencial de aplicação e a facilidade de obtenção destas enzimas a partir de fermentações.
- Vários estudos apontam para a utilização de diferentes fontes de carbono e nitrogênio para produção dessa enzima por microrganismos, especialmente por fungos tendo em vista que produzem enzimas extracelulares.

## 2. Objetivos

Este trabalho avaliou a influência de variáveis relacionadas à produção de lipase por *Geotrichum* sp. – condições de inóculo, do meio de fermentação e pH.

## 3. Materiais e Métodos

- O microrganismo utilizado no trabalho foi o *Geotrichum* sp., cujas cepas foram obtidas do Laboratório de Bioquímica de Alimentos/DCA/FEA da Unicamp.
- O inóculo foi obtido segundo a metodologia adotada por Maldonado (2006), com algumas modificações.
- As fermentações foram realizadas também a 30°C e 150 rpm em frascos agitados, com ajuste de pH inicial entre 5 e 7. Os meios de fermentação utilizados foram estabelecidos de acordo com o delineamento de Placket-Burman de 12 ensaios.
- *Placket-Burman*: O primeiro delineamento foi do tipo Placket-Burman de 12 ensaios (PB12) + 3 pontos centrais, com as variáveis independentes quantidade, volume e tempo de inóculo, concentração de água de maceração de milho (AMM), concentração de óleo de soja e pH inicial do meio. A Tabela 1 apresenta as condições dos ensaios.
- A segunda etapa no estudo da produção da lipase por *Geotrichum* sp. foi realizada com um delineamento fracionário 2<sup>4</sup>-1. A partir dos resultados obtidos no PB12 realizado na primeira parte do projeto, as variáveis tempo de inóculo, concentração de AMM, concentração de óleo de soja e pH inicial foram selecionadas e avaliadas segundo as faixas mostradas na tabela 2.
- As análises estatísticas foram realizadas no programa *Statistica v.6.0*.

Tabela 1 – Condições utilizadas no delineamento experimental PB12 + 3 pontos centrais para produção de lipase por *Geotrichum* sp.

Variáveis*						
Quant. inóculo (áreas circulares)**	Vol. inóculo (mL)	Tempo inóculo (horas)	[AMM]	[Óleo soja]	pH inicial	
1 (3)	-1 (50)	1 (20)	-1 (8%)	-1 (0,2%)	-1 (5)	
1 (3)	1 (150)	-1 (10)	1 (16%)	-1 (0,2%)	-1 (5)	
-1 (1)	1 (150)	1 (20)	-1 (8%)	1 (1%)	-1 (5)	
1 (3)	-1 (50)	1 (20)	1 (16%)	-1 (0,2%)	1 (7)	
1 (3)	1 (150)	-1 (10)	1 (16%)	1 (1%)	-1 (5)	
1 (3)	1 (150)	1 (20)	-1 (8%)	1 (1%)	1 (7)	
-1 (1)	1 (150)	1 (20)	1 (16%)	-1 (0,2%)	1 (7)	
-1 (1)	-1 (50)	1 (20)	1 (16%)	1 (1%)	-1 (5)	
-1 (1)	-1 (50)	-1 (10)	1 (16%)	1 (1%)	1 (7)	
1 (3)	-1 (50)	-1 (10)	-1 (8%)	1 (1%)	1 (7)	
-1 (1)	1 (150)	-1 (10)	-1 (8%)	-1 (0,2%)	1 (7)	
-1 (1)	-1 (50)	-1 (10)	-1 (8%)	-1 (0,2%)	-1 (5)	
0 (2)	0 (100)	0 (15)	0 (12%)	0 (0,6%)	0 (6)	
0 (2)	0 (100)	0 (15)	0 (12%)	0 (0,6%)	0 (6)	
0 (2)	0 (100)	0 (15)	0 (12%)	0 (0,6%)	0 (6)	

\* valores reais entre parêntesis.

\*\* 1 área circular = 0,79cm<sup>2</sup>

Tabela 2 – Condições utilizadas no delineamento fracionário 2<sup>4</sup> + 3 pontos centrais para produção de lipase por *Geotrichum* sp.

Variáveis			
Tempo inóculo	[AMM]	[Óleo Soja]	pH inicial
-1 (8)	-1 (10%)	-1 (0,5%)	-1 (4)
1 (16)	-1 (10%)	-1 (0,5%)	1 (6)
-1 (8)	1 (20%)	-1 (0,5%)	1 (6)
1 (16)	1 (20%)	-1 (0,5%)	-1 (4)
-1 (8)	-1 (10%)	1 (1,5%)	1 (6)
1 (16)	-1 (10%)	1 (1,5%)	-1 (4)
-1 (8)	1 (20%)	1 (1,5%)	-1 (4)
1 (16)	1 (20%)	1 (1,5%)	1 (6)
0 (12)	0 (15%)	0 (1%)	0 (5)
0 (12)	0 (15%)	0 (1%)	0 (5)
0 (12)	0 (15%)	0 (1%)	0 (5)

\* valores reais entre parêntesis.

- A determinação da atividade lipolítica foi feita pelo método descrito por Freire *et al.* (1997),

## 4. Resultados e Discussão

Através dos resultados obtidos no planejamento PB12+3 (Tabela 1), verificou-se que a máxima atividade lipolítica foi observada após 16 horas de fermentação na condição do ensaio 8 (1 área circular de inóculo, 50 mL de volume do meio de inóculo, 20 horas de incubação, 16% de água de maceração de milho, 1% de óleo de soja e pH inicial do meio igual a 5,0) com uma atividade em torno de 20 U/mL. Os resultados das análises dos efeitos é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 – Análise de efeitos pelo erro padrão para produção de lipase por *Geotrichum* sp. após 16 horas de fermentação.

Variável	Efeito (U/mL)	Erro padrão (U/mL)	t(8)	p-valor
<b>Média</b>	<b>13,05</b>	<b>0,42</b>	<b>31,00</b>	<b>&lt;0,01</b>
Quantidade de inóculo	-1,56	0,94	-1,66	0,13
Volume de inóculo	-1,84	<b>0,94</b>	<b>-1,96</b>	<b>0,09</b>
Tempo de inóculo	0,17	0,94	0,18	0,86
AMM	1,47	0,94	1,56	0,16
Óleo de soja	<b>4,28</b>	<b>0,94</b>	<b>4,55</b>	<b>&lt; 0,01</b>
pH inicial	-1,84	<b>0,94</b>	<b>-1,95</b>	<b>0,09</b>

As variáveis quantidade de inóculo e volume de inóculo foram fixadas (em 1 área circular e 50 mL, respectivamente) e as demais variáveis foram estudadas em segundo delineamento experimental do tipo fracionário 2<sup>4</sup>-1, conforme descrito na tabela 2, sob temperatura de 30°C e agitação de 150 rpm.

A partir dos resultados obtidos a partir das condições estabelecidas na matriz do delineamento 2<sup>4</sup>-1, verificou-se que para esse experimento que a máxima atividade lipolítica foi observada após 24 horas de fermentação nas condições dos ensaios dos pontos centrais. Os resultados da análise dos efeitos para o delineamento 2<sup>4</sup>-1 estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Análise de efeitos pelo erro padrão para produção de lipase por *Geotrichum* sp. após 24 horas de fermentação.

Variável	Efeito (U/mL)	Erro padrão (U/mL)	p-valor
<b>Média</b>	<b>22,36</b>	<b>1,09</b>	<b>&lt;0,01</b>
Curvatura	6,59	4,17	0,18
Tempo de inóculo	0,44	2,44	0,86
AMM	-2,92	2,44	0,28
Óleo de soja	-1,31	2,44	0,61
pH	-1,91	2,44	0,46

Pela análise dos efeitos principais, é possível perceber que nenhuma das variáveis analisadas foi estatisticamente significativa com nível de confiança de 90% após 24 horas de processo, dentro da faixa estudada.

Tais resultados são comparáveis à outros estudos nos quais verificou-se tal atividade variando entre 2 a 18 U/mL com o mesmo microrganismo.

## 5. Conclusões

Concluiu-se que o estudo das condições do meio de inóculo e composição do meio de fermentação são muito importantes para obter maiores níveis de atividade lipolítica para esse microrganismo e devem ser estudadas em conjunto para obter condições otimizadas.

O objetivo do projeto que era obter uma alta produção de lipase para aplicação na produção de biodiesel futuramente foi alcançado.

## 6. Referências

- Maldonado, R.R. **Produção, purificação e caracterização da lipase de *Geotrichum candidum* obtida a partir de meios industriais**. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2006.
- Freire, D.M.; Gomes, P.M.; Bon, E.P.S.; Lippel San't Anna Jr., G.L. **Lipase production by a new promising strain *Penicillium restrictum***. Revista de Microbiologia, v.28, n.1, p.6-12. 1997.