

Pré-purificação de lipase de *Geotrichum candidum* e aplicação em hidrólise enzimática de óleo de soja

Alexandro de Jesus Ribeiro^{1*}, Renan da Silva Manera², Rafael Resende Maldonado³

¹Faculdades Integradas Maria Imaculada (IC), ²Faculdades Integradas Maria Imaculada (IC),

³Faculdades Integradas Maria Imaculada e Universidade Estadual de Campinas (PQ)

* alexandro.cebola@ig.com.br

Faculdades Integradas Maria Imaculada, Rua Paula Bueno, n. 340, Centro, Mogi Guaçu, SP.

Departamento de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Rua Culto à Ciência, n.177, Botafogo, Campinas, SP.

Palavras Chave: lipase, purificação, hidrólise, óleo de soja.

Introdução

Lipases podem ter diversas aplicações industriais como, por exemplo, em indústrias de alimentos, medicamentos, couro, detergentes, óleos e gorduras, biocombustíveis, etc. Para muitas destas aplicações é necessário um nível de atividade enzimática elevada de modo a melhorar a eficiência do processo. Este trabalho teve por objetivo realizar processo de pré-purificação (concentração) da lipase de *Geotrichum candidum* NRRLY-552 através da precipitação salina e por adição de solvente e aplicar o concentrado enzimático para hidrólise de óleo de soja.

Resultados e Discussão

A precipitação da lipase de *Geotrichum candidum* NRRLY-552 foi realizada com adição de sulfato de amônio, $\text{NH}_4(\text{SO}_4)_2$, até 80% de saturação a 4°C, seguida de centrifugação e liofilização. Outro método aplicado utilizou etanol como agente precipitante. O solvente foi adicionado ao caldo bruto na velocidade de 3,5 mL/min, a 2°C, na razão 2:1 (solvente:caldo bruto) e agitação magnética. Após a precipitação, o material foi centrifugado e liofilizado. A atividade lipolítica foi determinada pela titulação dos ácidos graxos liberados pela ação da enzima¹ e calculou-se os fatores de recuperação (FR) e de purificação (FP). Os resultados obtidos para diferentes lotes de enzimas estão apresentados na **tabela 1**. Os resultados apontam que ambos os métodos levaram a obtenção de alta atividade lipolítica, sendo que a precipitação com sulfato proporcionou uma hiperativação da enzima, ou seja, um aumento na atividade total da enzima (U) em relação a quantidade inicial. Enquanto isso, a precipitação com etanol levou a fatores de concentração ligeiramente mais altos e o tempo de processo muito menor. A precipitação com etanol dura no máximo 2 horas enquanto a precipitação com sulfato de amônio precisa de *overnight* de 24 horas. A lipase concentrada por etanol (LEt) foi utilizada para hidrólise de óleo de soja em reator de bancada, com agitação magnética sob condições

estudadas anteriormente em frascos agitados (46 U LEt/g óleo; 5% m/m LEt; 15% m/m de água e 37°C)², obtendo-se 53% de hidrólise após 48 horas de reação conforme indicado na **figura 2**.

Tabela 1. Atividade enzimática de diferentes lotes de preparados enzimáticos.

Lote	Método	Atividade inicial (U/mL)	Atividade final (U/g)	FR	FP (%)
1	Sulfato de amônio	14,0	789	56,4	123
2		14,0	623	44,5	132
3		8,0	407	50,9	162
4	Etanol	10,0	632	63,2	63,2
5		14,0	925	66,0	56,3

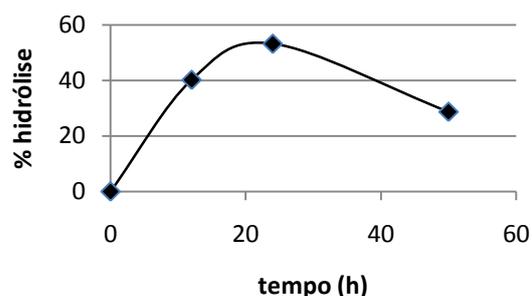


Figura 1. Percentual de hidrólise de óleo de soja com lipase de *Geotrichum candidum* em reator com agitação magnética.

Conclusões

Os resultados obtidos são promissores tanto como etapa inicial de purificação da enzima como na aplicação para hidrólise enzimática em processos que não exigem alto grau de pureza enzimática, como na indústria de biocombustíveis.

¹ Maldonado et al. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. **2012**, 1, 147-151.

² Maldonado et al. *New Biotechnology*, **2009**, 25S, 291.