



## Otimização da reação de lipases em substrato alternativo

Projeto Bioref

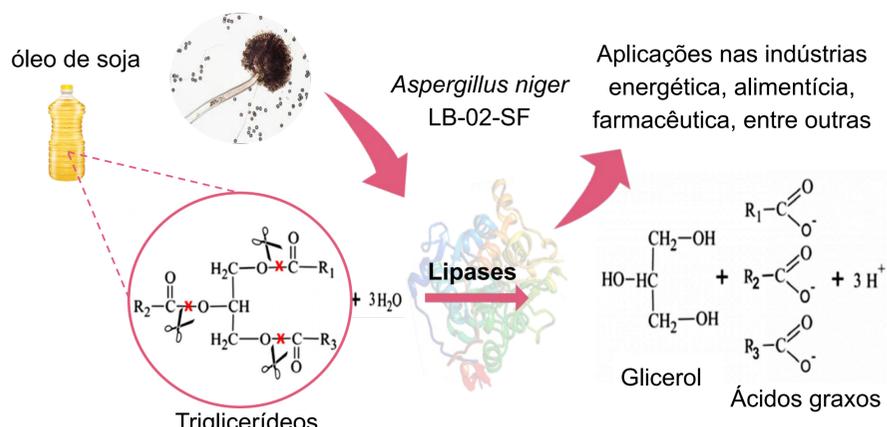
PIBIC-CNPq

Larissa P. Machado, Larissa F. F. Costa, Virgínia Tamiosso, Sabrina Carra, Eloane Malvessi

Laboratório de Bioprocessos - Instituto de Biotecnologia



### INTRODUÇÃO / OBJETIVO



**Objetivo:** avaliar a ação de lipases de *Aspergillus niger* LB-02-SF empregando óleo de soja como substrato.

COSTA, 2023; MARTINS 2021.

### METODOLOGIA

#### 1 Cultivo em agitador de bancada

250 rpm  
30 °C  
96 horas



#### 2 Centrifugação

2000 xg  
por 15 minutos



#### 3 Delineamento experimental

Fatorial do tipo design composto central (DCC); matriz gerada com cinco variáveis e em triplicata

#### 4 Reação enzimática

##### Condições variáveis

Temperatura: 28 a 36°C  
Agitação: 60 a 180 rpm  
pH: 6,0 a 8,0  
Tempo: 30 a 180 minutos

##### Condições fixas

óleo de soja: 1 a 5% (m/v) + 2 mL tampão Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0,1 mol.L<sup>-1</sup>) + 10 mL extrato bruto



#### 5 Reação encerrada

5 mL solução de acetona, etanol e água (1:1:1)

#### 6 Quantificação da atividade lipolítica

Titulação de ácidos graxos

NaOH 0,1 mol/L + fenolftaleína



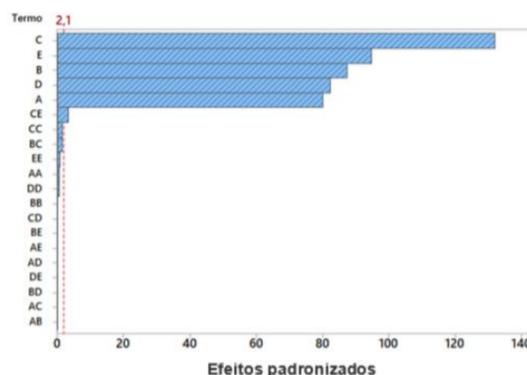
COSTA, 2023; REGINATTO, 2022.

### RESULTADOS

Fatores codificados e decodificados resultantes do uso da ferramenta Composto Central para avaliar os efeitos da temperatura, agitação, pH, concentração de substrato e tempo na atividade da enzima lipase de *Aspergillus niger* LB-02-SF.

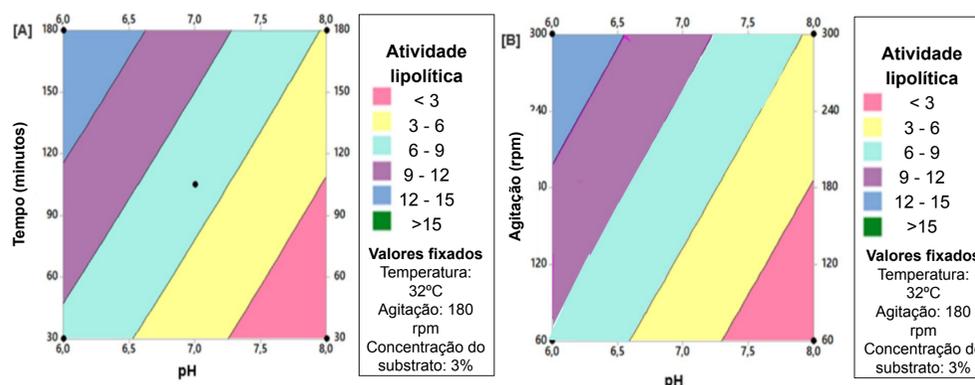
Teste	Temperatura (°C)	Agitação (rpm)	pH	Substrato (% m/v)	Tempo (minutos)	Atividade lipolítica (U.mL <sup>-1</sup> )
1	28 (-1)	60 (-1)	6 (-1)	1 (-1)	180 (1)	0,75
2	36 (1)	60 (-1)	6 (-1)	1 (-1)	30 (-1)	3,77
3	28 (-1)	60 (-1)	8 (1)	1 (-1)	30 (-1)	1,43
4	36 (1)	60 (-1)	8 (1)	1 (-1)	180 (1)	0,29
5	28 (-1)	300 (1)	6 (-1)	1 (-1)	180 (1)	3,71
6	36 (1)	300 (1)	6 (-1)	1 (-1)	180 (1)	3,66
7	28 (-1)	300 (1)	8 (1)	1 (-1)	30 (-1)	1,27
8	36 (1)	300 (1)	8 (1)	1(-1)	30 (-1)	1,43
9	28 (-1)	60 (-1)	6 (-1)	5 (1)	30 (-1)	5,77
10	36 (1)	60 (-1)	6 (-1)	5 (1)	180 (1)	1,02
11	28 (-1)	60 (-1)	8 (1)	5 (1)	180 (1)	0,27
12	36 (1)	60 (-1)	8 (1)	5 (1)	30 (-1)	0,93
13	28 (-1)	300 (1)	6 (-1)	5 (1)	180 (1)	16,60
14	36 (1)	300 (1)	6 (-1)	5 (1)	180 (1)	6,18
15	28 (-1)	300 (1)	8 (1)	5 (1)	30 (-1)	0,43
16	36 (1)	300 (1)	8 (1)	5 (1)	30 (-1)	1,43
17	32 (0)	180 (0)	7 (0)	3 (0)	105 (0)	2,22
18	32 (0)	180 (0)	7 (0)	3 (0)	105 (0)	2,38
19	32 (0)	180 (0)	7 (0)	3 (0)	105 (0)	2,63

Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para a atividade lipolítica de *Aspergillus niger* LB-02-SF.



Fator	Nome
A	Temperatura
B	Agitação
C	pH
D	Concentração do substrato
E	Tempo

Curva de contorno da atividade lipolítica de *Aspergillus niger* LB-02-SF e interação de variáveis independentes. [A] Atividade lipolítica obtida em função das variáveis pH e tempo, a 32°C, 180 rpm e concentração de substrato de 3% (m/v). [B] Atividade lipolítica obtida em função das variáveis pH e agitação, a 32°C, 105 minutos e concentração de substrato de 3% (m/v).



### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, investigou-se a influência de parâmetros como pH, temperatura, agitação, tempo e concentração de substrato na catálise do óleo de soja por lipase de *Aspergillus niger* LB-02-SF. A otimização desses parâmetros foi baseada na metodologia de superfície de resposta. As atividades lipolíticas variaram de 0,27 a 16,60 U.mL<sup>-1</sup> e as condições que promoveram maior atividade lipolítica foram 28°C, pH 6,0, 300 rpm, 180 minutos e 5,0% (m/v) de substrato. Dentre esses fatores, o pH, o tempo e a agitação destacaram-se como os mais importantes na ação catalítica de lipases. Esses resultados indicam a importância do controle de parâmetros da reação de lipases, dependendo do substrato utilizado, para favorecer a eficiência catalítica durante a sua aplicação.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA, L.F.F (2023). Dissertação de Mestrado, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, Brasil.  
MARTINS, P. A. PACHECO, T.F.; CAMARGO, B.R.; DE MARCO, J.L.; SALUM, T.F.C. 2021. Prep. Biochem. Biotechnol. v. 51, p. 1-10.  
REGINATTO, C. (2023). Tese de Doutorado. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, Brasil.

APOIO

