



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76

Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL HIDROLÍTICO DE FILMES ATIVOS INCORPORADOS COM LIPASE MICROBIANA

Bruna Moreno da Silva¹; Geany Peruch Camilloto²

1. Bolsista PIBIC/FAPESB, Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: brunamorenosilva.bm@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: geanyperuch@yahoo.com.br

PALAVRAS-CHAVE: Enzima, maturação, imobilização.

INTRODUÇÃO

O processo de maturação é de alto custo pois demanda, em geral, instalações especiais com temperatura e umidade controladas; além disso, diminui o capital de giro do produtor por retardar a comercialização do produto. Em alguns casos, por pressões financeiras e comerciais têm levado produtores brasileiros a vender seus queijos antes do tempo adequado de maturação, acarretando falta de homogeneidade e perda de qualidade do produto (PERRY, 2004).

Para aumentar a velocidade das reações bioquímicas e químicas que ocorrem no período de maturação do queijo, é necessário utilizar uma tecnologia de aceleração que não altere a qualidade do produto final. Pesquisas com estas finalidades fundamentam-se em processos indiretos, com aumento da atividade de enzimas presentes nos queijos, por meio de modificações na composição e elevação da temperatura de maturação e em processos diretos, com adição de enzimas exógenas, uso de culturas lácticas adjuntas selecionadas e modificadas, que promovam elevação dos níveis e/ou aumento da liberação de enzimas (WILKINSON, 2002; KILCAWLEY, 2005).

Uma das formas de imobilização de enzimas é o confinamento em matriz polimérica, que consiste em “confinar” uma proteína em um polímero insolúvel ou não. A vantagem da utilização desta técnica é que a enzima não interage quimicamente com o polímero evitando, assim, a desnaturação (VILLENUEVE et al., 2000).

O presente plano de trabalho teve como objetivo produzir filmes de acetato de celulose incorporados com lipase microbiana e avaliar o efeito de atuação do filmes ativos enzimáticos na hidrólise de lipídeos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os filmes de acetato de celulose foram preparados pelo método casting. Os pellets de acetato de celulose foram adicionados à acetona numa proporção de 1:10 e deixado em repouso durante 24 h em recipientes de vidro com tampa. A mistura foi homogeneizada com auxílio de um bastão de vidro e incorporada com diferentes concentrações de enzima (0, 10,

20 e 30% v/p). As soluções filmogênicas foram mantidas em repouso durante 5 min para eliminação as bolhas de ar e, posteriormente, espalhadas sobre placas de vidro. Os filmes foram retirados das placas após evaporação do solvente, 3 - 5 minutos, e armazenados sob refrigeração ($7 \pm 1^\circ \text{C}$) para análises posteriores.

Para avaliar o potencial hidrolítico dos filmes ativos incorporados com lipase microbiana, foi feito um estudo do teor de ácido graxo liberado no creme de leite quando submetido em contato com os filmes ativos produzidos. Para isto, amostras de creme de leite foram acondicionadas em pequenos recipientes de vidro juntamente com os filmes ativos e com o filme controle (6 x 5 cm).

Os filmes foram esterilizados em luz UV, por 5 minutos, e o enchimento dos recipientes com o creme de leite foi feito em ambiente estéril. A quantificação do teor de ácido graxo liberado foi realizada nos tempos 0, 3, 6, 12, 18, 24 e 30 dias. Para cada filme produzido com o teor de enzimas inoculadas, foi utilizado um recipiente por tempo de armazenamento. Os recipientes foram armazenados em temperatura de refrigeração ($7 \pm 1^\circ \text{C}$). Para cada tempo, foi coletado 2 g de creme de leite, adicionando 25 mL de álcool absoluto e 2 gotas de fenolftaleína. A solução foi então titulada com KOH 0,02M e o volume gasto na titulação utilizado para o cálculo do teor de ácido graxo, segundo a Equação 1 por Aguiar et al. (2010). A análise foi realizada em triplicata.

$$\text{Teor de ácido graxo } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{V \cdot N \cdot M}{W} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

M = massa molecular do ácido oléico (mol);

N = normalidade da solução de KOH;

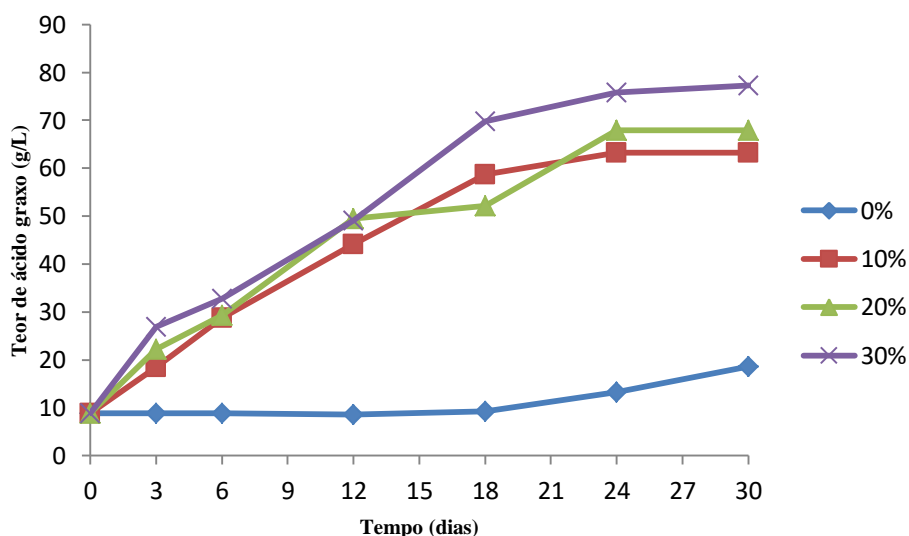
V = volume gasto de KOH (mL);

W = massa da alíquota titulada (g).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da hidrólise de lipídios em função do tempo de armazenamento do creme de leite em contato com os filmes (controle e incorporados com lipase) estão representados na Figura 1.

Figura 1 – Teor de ácido graxo em função do tempo no creme de leite acondicionado com os filmes produzidos.



Observa-se um aumento da hidrólise de lipídios até 18º dia de contato do creme de leite com os filmes ativos, notando-se uma tendência à estabilização em tempos posteriores. A hidrólise mais intensa ocorreu no creme de leite acondicionado com o filme incorporado com 30% de lipase, o que era esperado por ser o filme de maior concentração enzimática.

O aumento gradual da produção de ácido graxo no creme de leite ao longo do tempo demonstra que o filme ativo produzido atua como um sistema de liberação controlada da lipase.

Em relação ao filme controle, é possível perceber que a partir do 18º dia houve um aumento na produção de ácido graxo, isso pode ser explicado pela contaminação do ensaio por fungos que foi visualizada no 24º e 30º dias de armazenamento. Provavelmente, o fungo contaminante produziu lipases o que provocou um aumento do teor de ácido graxo no creme de leite. Fungos produtores de lipases podem ser isolados a partir de fontes diversas como: resíduos industriais e domésticos oleosos e ou gordurosos, solos contaminados com óleos e graxas, plantas e animais vivos ou mortos, sementes oleaginosas e outras (COLÉN et al., 2006; GRIEBELER et al., 2011; TURKI, 2013). Segundo Pimentel (1996), *Penicillium citrinum* isolado como contaminante do óleo de oliva apresentou o máximo de produção de lipase (409U/L), após 9 dias, quando cultivado no meio com óleo de oliva + extrato de levedura.

CONCLUSÃO

O potencial hidrolítico da lipase imobilizada nos filmes, confirmado pelo aumento do teor de ácido graxo no substrato (creme de leite), demonstra potencial de utilização dos filmes no processo de maturação de queijos. No entanto, sugere-se estudos mais aprofundados para verificar a possível atuação dos filmes em contato com queijos, visando confirmar sua eficiência no processo de maturação.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, R.O.; MONDARDO, R.M.; AGNES, E.J.; CASTRO, H.F; PEREIRA, E.B. Avaliação e comparação da eficiência de imobilização de lipase pancreática em quitosana para produção de ácidos graxos em frascos agitados. *Acta Scientiarum. Technology*, v. 32, n. 1, p. 15-19, 2010.

COLEN, G.; JUNQUEIRA, R.G.; MORAES-SANTOS, T. Isolation and screening of alkaline lipase-producing fungi from Brazilian savanna soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 8, p. 881-885, 2006.

GRIEBELER, N.; POLLONI, A.E.; REMONATTO, D.; ARBTER, F.; VARDANEGA, R.; CECHET, J.L.; DI LUCCIO, M.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.L.; RIGO, E.; NINOW, J. Isolation and screening of lipase-producing fungi with hydrolytic activity. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 4, p. 578-586, 2011.

KILCAWLEY, K. N. Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 6/9, p. 817-830, 2005.
PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, vol. 27, n. 02, p. 293-300, 2004.

PIMENTEL, M. C. B. Produção de lipases por fungos filamentosos: estudos cinéticos e síntese de ésteres. **Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, [SP: s.n]**, 1995.

TURKI, S. Towards the development of systems for high-yield production of microbial lipases. **Biotechnology Letters**, v. 35, n. 10, p. 1551-1560, 2013.

VILLENUEVE, P.; MUDERHWA, J. M.; GRAILLE, J.; HAAS, M. J. Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical molecular biological approaches. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 9, p.113-148, 2000.

WILKINSON, M. G. Use of enzyme preparations in cheesemaking (other than rennet). **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 371, p. 4, 2002