

## Produção de Lipases Fúngicas por Fermentação em Estado Sólido para Tratamento de Efluentes de Laticínio

Jaine Daiane de Moura<sup>1</sup>

Jéssyca Ketterine Carvalho<sup>2</sup>

Cleide Viviane Buzanello Martins<sup>3</sup>

Maria Luiza Fernandes Rodrigues<sup>4</sup>

Mauricio Ferreira da Rosa<sup>5</sup>

### Reaproveitamento, Reutilização e Tratamento de Resíduos

#### *Resumo*

Os óleos e graxas (O&G) representam uma classe de poluentes com baixa afinidade com a água nos setores de produção de produtos lácteos. Buscar alternativas inovadoras de tratamento representa uma contribuição significativa para a sustentabilidade operacional e econômica no setor de laticínios. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é utilizar a lipase fúngica, isolada do rio Toledo-PR, produzida por Fermentação em Estado Sólido (FES), na biorremediação de efluentes com alta carga de gorduras, resultantes do processamento de laticínios. O microrganismo utilizado neste trabalho é uma linhagem de fungo filamentosos, denominado J2017, isolado do rio Toledo, na Cidade de Toledo-PR. A lipase foi produzida por FES utilizando farelo de semente de girassol (*Helianthus annuus*) como substrato, com granulometria de entre 10 e 16 mesh, 55% umidade,  $10^8$  esporos por grama a 28 °C. A lipase produzida por FES foi utilizada nos experimentos de biorremediação (shaker a 150 rpm, 37 °C e 168 h) para redução de O&G de um efluente de laticínio de Marechal Candido Rondon-PR. Nos experimentos de FES, nota-se que a maior atividade lipolítica (210,2 U ou 21,02 U gss<sup>-1</sup>) foi obtida após 96 horas de fermentação. Nos experimentos de biorremediação, obteve-se uma redução de 91,6 % de O&G no efluente de laticínio utilizado. Diante dos resultados, verificou-se neste trabalho um tratamento eficiente onde águas residuárias da indústria de produtos lácteos poderão ser utilizadas para fins de reuso no processo industrial e minimizar a geração de efluentes nas estações de tratamento da indústria de produtos lácteos.

Palavras-chave: Biorremediação; Enzimas; Efluentes.

<sup>1</sup> Mestranda em Ciências Ambientais – Unioeste, Campus Toledo-PR, [jainedemoura@hotmail.com](mailto:jainedemoura@hotmail.com).

<sup>2</sup> Mestre em Ciências Ambientais – Unioeste, Campus Toledo-PR, [jessycakcarvalha@gmail.com](mailto:jessycakcarvalha@gmail.com).

<sup>3</sup> Profa. Dra. Unioeste- Campus Toledo-PR, [cvbmartins@gmail.com](mailto:cvbmartins@gmail.com).

<sup>4</sup> Profa. Dra. Unioeste- Campus Toledo-PR, [mlmfernandes@hotmail.com](mailto:mlmfernandes@hotmail.com).

<sup>5</sup> Prof. Dr. Unioeste- Campus Toledo-PR, [mauriciofrosa@yahoo.com.br](mailto:mauriciofrosa@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

O setor lácteo encontra-se em expansão no Brasil, porém, na atual situação de escassez no abastecimento de água, esse cenário poderá representar um problema futuro para estas indústrias, uma vez que as mesmas consomem grandes volumes de água para o processamento de seus produtos e higienização dos equipamentos. Um processo de reutilização de águas dentro de uma indústria é altamente vantajoso, tanto sob o aspecto econômico como o ambiental. Entretanto, depende da disponibilidade de tecnologias de processos adequados para sua purificação.

O Brasil é o quarto maior produtor de leite do mundo, com uma estimativa de produção de mais de 34,3 bilhões de litros (WORLD ATLAS, 2018). Entretanto, o grande volume de água necessário para produzir produtos lácteos coloca a indústria de laticínios como uma das principais geradoras de efluentes. A água residual de laticínios é basicamente composta de carboidratos (lactose), proteínas e gorduras. Assim, é caracterizado por grande quantidade de moléculas orgânicas, gorduras, óleos e graxas (FOG), juntamente com leite sólidos, detergentes, desinfetantes, resíduos de leite, dentre outros (ADULKAR & RATHOD, 2014).

Entre os poluentes encontrados em águas residuais das indústrias de produtos lácteos merece atenção os FOG, um grupo de substâncias orgânicas de alto peso molecular e baixo coeficiente de biodegradabilidade, e de difícil remoção por tratamentos convencionais (PINTOR *et al.*, 2016). Diante da problemática da geração de elevadas proporção de efluente pelas indústrias de laticínios, é inevitável buscar métodos corretamente ecológicos para a tratabilidade e redução do teor lipídico nesses efluentes. A exploração de biorremediação enzimática, pelo uso de biocatalisadores como as lipases, tem mostrado potencial promissor. As lipases são catalisadores versáteis com aplicação aprimorada na biotecnologia, por se tratar de uma tecnologia limpa (*white biotechnology*), onde as condições de reação são brandas, sua alta especificidade e fácil disponibilidade.

Objetiva-se com este trabalho utilizar a lipase fúngica, isolada do Rio Toledo-PR, produzida por Fermentação em Estado Sólido (FES), na biorremediação de efluentes com alta carga de gorduras, resultantes do processamento de laticínios.

## METODOLOGIA

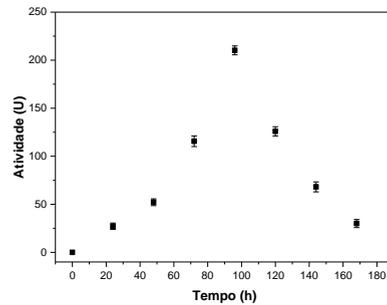
O microrganismo que foi utilizado neste trabalho é uma linhagem de fungo filamentosos, denominado J2017, isolado do Rio Toledo, na Cidade de Toledo-PR. O microrganismo já foi enviado para identificação por Biologia Molecular.

A lipase foi produzida por FES utilizando farelo de semente de girassol (*Helianthus annuus*) como substrato. Os ensaios de FES foram realizados conforme metodologia descrita por RODRIGUES *et al.* (2015). Para a FES, foi realizado um estudo cinético de 168 h, com 10,0 g de farelo de semente de girassol (*Helianthus annuus*) com granulometrias entre 1,19 mm (16 Mesh) e 2,0 mm (10 Mesh), umidade de 55% (tampão fosfato 50 mM pH 7,0),  $10^8$  esporos por grama, 28°C. Os experimentos foram realizados em triplicata.

A produção de lipase foi acompanhada pela dosagem da atividade lipolítica pelo método titulométrico no material fermentado (0 a 168 horas), segundo RODRIGUES *et al.*, 2015. A atividade lipolítica é expressa como unidades de atividade enzimática por grama de sólido fermentado ( $U\ gSS^{-1}$ ). Uma unidade de atividade lipolítica foi definida como a quantidade de enzima que é liberada em 1  $\mu$ M de ácido graxo por minuto, sendo assim o resultado é expresso em  $U\ gSS^{-1}$ . Nos ensaios de biorremediação, utilizou-se 26 g do sólido fermentado (546,52 U) em 1000 mL do efluente de laticínio de Marechal Candido Rondon-PR, sendo que os experimentos foram realizados em duplicata. A cinética de biorremediação foi observada por 168 horas, retirando-se pontos a cada 24 horas. As reações de biorremediação foram realizadas em *shaker*, 150 rpm e 37 °C. Para cada ponto determinou-se os valores de óleos e graxas totais ( $O\&G_T$ ), segundo a metodologia de APHA (2012) método 5520D.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

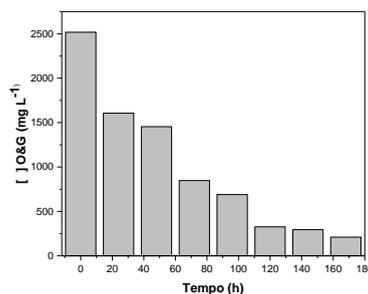
Nos estudos prévios avaliou-se a cinética de produção de lipases por FES. Os resultados da cinética de produção de lipases estão apresentados na Figura I.



**Figura I-** Cinética de produção de lipase fúngica por fermentação no estado sólido.

Os resultados demonstraram que inicialmente houve um aumento de atividade lipolítica com o tempo de fermentação devido ao maior crescimento do microrganismo em fase exponencial e maior disponibilidade de substrato. A maior atividade lipolítica (210,2 U ou 21,02 U gss<sup>-1</sup>) foi obtida após 96 horas de fermentação. Após, nota-se uma diminuição dos valores de atividade lipolítica, provavelmente devido à diminuição da fonte de carbono dos óleos presentes no substrato. A queda na atividade lipolítica ocorre provavelmente porque o fungo começa a produzir proteases para processar as outras fontes de carbono menos abundantes. Essas proteases são capazes de hidrolisar as ligações peptídicas presentes em proteínas e outras enzimas, desnaturando e diminuindo a concentração de lipases (OLIVEIRA, 2013).

Com relação aos experimentos de biorremediação, o parâmetro O&G<sub>T</sub> demonstrou o comportamento observado pela Figura II.



**Figura II-** Cinética de biorremediação enzimática do efluente de laticínio.

Na reação enzimática de hidrólise, os substratos são os óleos e graxas presentes no efluente, que possui alto teor lipídico ( $2517,3 \pm 25,82 \text{ mg L}^{-1}$ ). Ao final de 168 horas de biorremediação, a redução de O&G<sub>T</sub> foi de  $210,6 \pm 10,28 \%$ .

Segundo a resolução nº 430\2011 do CONAMA, para que ocorra o descarte de efluentes em rios, é necessário que o seu valor seja igual ou inferior a 50 mg L<sup>-1</sup>. Apesar da redução de O&G no processo de biorremediação ser elevada (91,63 %), os resultados obtidos neste estudo ainda não estão de acordo com os valores do CONAMA 2011, sendo necessária uma redução de 98% de O&G para atingir os valores da resolução do CONAMA.

## CONCLUSÕES

Verificou-se que o fungo filamentososo, isolado do Rio Toledo-PR, produziu lipase com pico máximo de produção em 96 horas de fermentação (210,2 U ou 21,02 U gss<sup>-1</sup>).

A lipase produzida por FES foi eficiente no processo de redução de O&G<sub>T</sub>, com uma redução de 91,63 % no efluente de laticínio. Sugere-se para trabalhos futuros, que seja realizada uma nova cinética de biorremediação acima de 168 horas.

## REFERÊNCIAS

- ADULKAR, T.V.; RATHOD, V.K., Ultrasound assisted enzymatic pre-treatment of high fat content dairy wastewater, Ultrasound assisted enzymatic pre-treatment of high fat content dairy wastewater. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p.1083-1089, 2014.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 22nd edition. Edited by RICE, E.W.; BAIRD, R.B.; EATON, A.D. AND CLESCERI, L.S. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF), Washington, D.C., USA. 2012.
- CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE–CONAMA. Legislação Ambiental Federal, **Resolução nº 430**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e de outras providências.
- OLIVEIRA, A.C. **Síntese enzimática do biodiesel de microalgas a partir de lipases produzidas por fungos endofíticos**. 108f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- PINTOR, A.M.A.; VILAR, V. J.P.; BOTELHO, C. M.S.; BOAVENTURA, R. A.R. Oil and grease removal from wastewaters: Sorption treatment as an alternative to state-of-the-art technologies. A critical review. **Chemical Engineering Journal**, v. 297, p. 229-255, 2016.
- RODRIGUES, M.L.F.; DA SILVA, E.A.; BORBA, C.E., OLIVEIRA, A.C.D.; KRUGER, C.; RAIMUNDO, R. W.; SILVA, L.P.; VANZIN, M.; STUANI, B.T. Produção de enzimas hidrolíticas pelo fungo endofítico *Penicillium sp.* Isolado das folhas de *Ricinus communis L.* **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v.4, p. 129- 145, 2015.
- World Atlas. **Top Cows' Milk Producing Countries in the World**, 2018.