

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA E CIENTÍFICA DA UTILIZAÇÃO DE LIPASES MICROBIANAS PARA TRATAMENTO DE EFLUENTES

João Vítor Maia Leite Garrido¹; Cristina Ferraz Silva^{2*}

^{1 2} Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil.

Rec.:29.02.2016. Ace.:22.09.2016.

RESUMO

As lipases são enzimas que atuam na hidrólise de lipídios em meio aquoso e em diversas reações de esterificação em meio não-aquoso. Uma das aplicações mais atuais das lipases está na utilização das enzimas para o tratamento de efluentes industriais com altos teores de gorduras. No presente trabalho, foi realizada uma prospecção tecnológica e científica da aplicação de lipases microbianas no tratamento de efluentes gordurosos. A pesquisa foi realizada nas bases Espacenet, WIPO, USPTO, INPI e nos bancos de periódicos Web of Science, Scopus, SciELO e Periódicos Capes. As palavras-chave utilizadas foram selecionadas para que variassem de expressões mais gerais até mais específicas. Foram encontradas 2 patentes diretamente relacionadas ao tema desta prospecção, uma proveniente da China e outra do Brasil. Além disso, os dados demonstraram que a produção científica na área é recente, com Brasil, China e Índia figurando como os países que mais realizam publicações científicas na área.

Palavras-chave: Prospecção. Tratamento enzimático. Lipase. Efluente.

ABSTRACT

Lipases are enzymes that hydrolyze lipids on aqueous media and catalyze esterification reactions on non-aqueous media. One of lipases' newest applications is its use on high fatty wastewater treatment. In the present work a technological foresight about the application of microbial lipases on the wastewater treatment of high fatty effluents was done. The research was done at the patent databases of Espacenet, WIPO, USPTO, and INPI and at the periodicals databases of Web of Science, Scopus, SciELO and Periódicos Capes. The keywords used on this work were selected ranging from general expressions to specific ones. It was found 2 patents related to the foresight's scope – one from China and another from Brazil. Furthermore, data showed that the scientific production at the area is relatively new and Brazil, China and India are the countries with the majority of scientific publications in this area.

Keywords: Technological foresight. Enzymatic treatment. Lipase. Effluent.

Área Tecnológica: Biotecnologia Industrial.

* Autor para correspondência: E-mail ferrazcristina@ufs.br

INTRODUÇÃO

Lipases são enzimas que catalisam reações de hidrólise em triglicerídeos, formando como principais produtos ácidos graxos e glicerol. Além disso, as lipases são capazes de catalisar também a reação inversa, bem como reações de transesterificação, interesterificação e alcoólise (FALONY et al., 2006; FLEURI et al., 2014). Por atuarem como biocatalisador em uma gama de reações diferentes, as lipases são aplicadas em diversas áreas, incluindo as indústrias de detergentes, têxtil e alimentícia (MENONCIN et al., 2009).

A versatilidade das lipases possibilita que elas sejam utilizadas nos mais diversos processos químicos. Algumas de suas aplicações mais atuais incluem a seleção de enantiômeros específicos, atuando, por exemplo, na síntese de drogas (MACHADO et al., 2011; VALLIKIVI et al., 2003; SHARMA et al., 2001). Outra aplicação inclui a produção de biodiesel onde as lipases são usadas como biocatalisadores em reações de esterificação e transesterificação, apresentando vantagens e reduzindo custos com relação aos catalisadores alcalinos convencionais (AGUIEIRAS et al., 2015; FJERBAEK et al., 2009). Com capacidade de catalisar reações de hidrólise, as lipases também podem ser empregadas no tratamento de efluentes com elevados teores de óleos e graxas, hidrolisando as gorduras presentes nesse tipo de rejeito (CAMMAROTA; FREIRE, 2006).

Processos industriais que geram efluentes ricos em gorduras, a exemplo das indústrias de laticínios e abatedouros, produzem resíduos dificilmente degradáveis que podem prejudicar as etapas do seu tratamento. Os preços para o tratamento adequado desses efluentes podem contribuir para a manutenção de seu descarte inadequado, principalmente em indústrias de pequeno porte (CAMMAROTA; FREIRE., 2006; LEAL et al., 2006). Para atenuar tal problema, uma etapa de pré-tratamento dos óleos e gorduras presentes nesses efluentes é uma alternativa interessante, e a hidrólise enzimática utilizando lipases vem se destacando como um campo promissor a ser explorado (CAMMAROTA; FREIRA, 2006).

Para a aplicação de lipases no pré-tratamento de efluentes, é usual optar-se pela utilização de enzimas microbianas obtidas de extratos brutos ao invés de enzimas comerciais (SILVA et al., 2013). Essa predileção deve-se ao fato de que os extratos brutos podem representar uma redução significativa dos custos de obtenção das enzimas e ampliar industrial das mesmas (ROVEDA et al., 2010).

Por conta das vantagens proporcionadas, a aplicação de lipases microbianas no tratamento de efluentes gordurosos tem se tornado um campo de pesquisa muito promissor. No presente trabalho, foi realizado um estudo de prospecção tecnológica e científica a fim de mapear as publicações existentes na área e analisar as perspectivas acerca do tema.

METODOLOGIA

A prospecção tecnológica foi realizada entre os meses de novembro de 2015 e janeiro de 2016, por meio de buscas nas bases de patentes gratuitas do European Patent Office (EPO), chamada de Espacenet; do World Intellectual Property Organization (WIPO); do United States Patent and Trademark Office (USPTO) e do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI). A prospecção científica foi realizada através da busca de artigos, teses, resumos e demais publicações nos portais de periódicos Web of Science, Scopus, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Periódicos Capes.

Os termos pesquisados foram escolhidos com base em palavras-chave que aparecem com frequência em artigos relacionados à área e na avaliação da relevância dos resultados de termos pesquisados anteriormente. As palavras-chave pesquisadas foram “*lipase*”, “*enzymatic treatment*

GARRIDO, J.V. M. L.; SILVA, C. F. Prospecção tecnológica e científica da utilização de lipases microbianas para tratamento de efluentes.

and wastewater”, “*enzymatic treatment and effluent*”, “*microbial lipase*”, “*microbial lipase and wastewater treatment*” e “*microbial lipase and effluent treatment*”. Todos os termos foram usados para as bases internacionais e suas respectivas traduções em português foram utilizadas para as pesquisas na base brasileira.

As expressões foram selecionadas de forma que variassem de termos mais gerais até termos mais específicos, a fim de comparar e mapear as produções científicas e tecnológicas do tratamento de efluentes com outras aplicações das enzimas lipases. O conectivo *and* presente em algumas das expressões foi utilizado a fim de obter-se resultados nos quais ambas as palavras-chave estivessem presentes ao mesmo tempo, otimizando a busca. As palavras-chave e expressões selecionadas foram utilizadas nos campos “*Title or Abstract*” no Espacenet, “*Front Page*” no WIPO, “*All Fields*” no USPTO, no campo Título no INPI, no campo “*Article Title, Abstract, Keywords*” do Scopus, no campo “*Topic*” no Web of Science, em “*Todos os Índices*” no SciELO e no campo “*Qualquer*” do Periódicos Capes. Todas as buscas foram realizadas sem restringir intervalos de tempo, a fim de se obter as publicações e patentes publicadas em qualquer ano.

As publicações foram organizadas com base no número encontrado por termo de busca e no somatório total de trabalhos nos bancos utilizados. Além disso, as patentes encontradas com o uso dos termos mais específicos foram analisadas com base na Classificação Internacional de Patentes (CIP). Por fim, os trabalhos científicos onde foram detectadas expressões mais acuradas foram organizados com base nos países de origem e também na distribuição temporal de suas publicações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prospecção tecnológica e científica foi realizada por meio de coleta, tratamento e análise das informações contidas nos documentos de patentes e das publicações científicas encontradas.

Os dados obtidos para a busca de patentes são expostos na Tabela 1. Ao utilizar os termos mais gerais como “*lipase*” e “*microbial lipase*” na busca por patentes, é possível notar uma grande disparidade quando comparadas ao número de patentes encontrado com o uso de termos mais refinados. Essa diferença no resultado obtido para os termos gerais e específicos utilizados se deve a ampla possibilidade de aplicações das enzimas lipases nas mais diversas áreas do conhecimento.

Tabela 1. Número de patentes encontradas pela busca de diferentes termos nos bancos de dados internacionais e nacional.

Termos pesquisados	Espacenet	USPTO	WIPO	INPI
<i>Lipase</i>	10.159	20.518	8.728	95
<i>Enzymatic treatment and wastewater</i>	29	98	27	0
<i>Enzymatic treatment and effluent</i>	26	247	38	1
<i>Microbial lipase</i>	65	165	197	1
<i>Microbial lipase and wastewater treatment</i>	2	0	1	0
<i>Microbial lipase and effluent treatment</i>	0	0	0	0
Total de patentes	10.281	21.028	8.991	97

Fonte: Autoria própria.

Nos bancos de dados internacionais, o Espacenet retornou duas patentes e o WIPO apenas uma ao utilizar-se o termo “*microbial lipase and wastewater treatment*”, a expressão mais refinada da pesquisa. Das duas patentes encontradas no Espacenet, uma delas é a que está disponível no WIPO. Portanto, são apenas duas patentes internacionais registradas, ambas de origem chinesa.

Considerando as duas patentes chinesas, uma delas é intitulada “*Lipase for treating oil pollutants as well as encoding gene and application thereof*”, com data de publicação em 2011. O trabalho apresenta a codificação de um gene que expressa uma produção de lipases utilizadas posteriormente no tratamento de óleos poluentes. Os registros no CIP (Classificação Internacional de Patentes) incluem A62D3/02, o qual abrange processos para tornar agentes químicos inócuos ou menos nocivos, efetuando uma transformação química nas substâncias por métodos biológicos e processos utilizando enzimas e microrganismos; C02F3/00, referente ao tratamento biológico de água, águas residuais e esgotos; C12N15/55, classificação para enzimas do tipo hidrolases obtidas por meio de engenharia genética; C12N15/63, utilizado para classificar introdução de material genético exógeno utilizando vetores; C12N9/20, abrange a cisão de triglicérides utilizando enzimas; A62D101/28, utilizado para classificar substâncias nocivas tornadas menos nocivas por meio de transformação química e que contém oxigênio, enxofre, selênio ou telúrio em sua composição e; por fim, C02F101/34, que abrange o tratamento de águas residuais, esgoto ou águas cujo contaminante contém oxigênio.

Uma patente brasileira foi encontrada no banco do INPI ao se pesquisar o termo “*enzymatic treatment and effluent*”, com pedido datado de 2000 e publicação em 2002. A patente apresenta o título “*Tratamento de efluentes domésticos e industriais com elevado teor de gorduras, proteínas e/ou carboidratos, bem como recuperação de reatores biológicos, caixas de gordura e fossas sépticas colmatados por esses materiais*” e trata da utilização de um preparado enzimático contendo lipases, proteases e amilases obtidas por fermentação em estado sólido para utilização em pré-tratamento de efluentes domésticos ou industriais. Suas classificações no CIP compreendem C02F 3/30, onde estão inseridos processos aeróbicos e anaeróbicos para o tratamento biológico de águas, águas residuais e esgotos; C02F 103/32, que classifica a água a ser tratada como proveniente de alimentos ou da indústria alimentícia; C02F 101/30, que classifica o contaminante como um composto orgânico e C12N 9/98 onde estão inseridos processos de preparação e composições de enzima de livre fluxo ou granulares. Portanto, considerando a descrição e as CIPs das patentes encontradas, ambas se encaixam na proposta de busca desse trabalho.

A outra patente chinesa compreende o título “*Preparation method of microbial nutrition agent for wastewater biochemical treatment*” e foi publicada em 2013. Uma análise mais aprofundada da patente por meio de seu *Abstract* demonstrou que ela trata de um processo para a preparação de um método de nutrição microbiana para tratamento bioquímico de efluentes. Portanto, mesmo que se refira ao uso de lipases no tratamento de efluentes, a referida patente não apresenta uma relação direta com a utilização da enzima de interesse no pré-tratamento de efluentes gordurosos.

Os resultados das buscas por publicações científicas estão apresentadas na Tabela 2. Analisando os resultados, é possível observar a diferença do número de produções científicas quando compara-se o termo “*lipase*” com os termos mais específicos da pesquisa. Além disso, é importante ressaltar que mesmo ao refinando ao máximo a pesquisa, alguns artigos encontrados ainda apresentam objetivos diferentes dos apresentados no presente trabalho. Isso se deve ao fato de alguns dos trabalhos encontrados utilizarem efluentes gordurosos como meio de isolamento de microrganismos ou como substrato para a produção de enzimas lipases, levando os mecanismos de busca a apresentá-los como resultados por apresentarem as palavras-chave “*lipase*” ou “*efluente*” em seus textos. Entretanto, mesmo que algumas publicações não atendam a presente proposta de prospecção,

muitos dos trabalhos encontrados demonstram a ampla aplicabilidade das lipases no tratamento de efluentes.

Tabela 2. Número de trabalhos científicos encontrados pela busca de diferentes termos nos bancos de periódicos citados.

Termos pesquisados	Web of Science	Scopus	SciELO	Periódicos Capes
<i>Lipase</i>	84.217	62.710	367	57.857
<i>Enzymatic treatment and wastewater</i>	592	711	10	1.017
<i>Enzymatic treatment and effluent</i>	433	531	11	426
<i>Microbial lipase</i>	2.338	1.815	26	3.604
<i>Microbial lipase and wastewater treatment</i>	30	34	0	33
<i>Microbial lipase and effluent treatment</i>	16	16	1	16
Total de trabalhos	87.626	65.817	415	62.953

Fonte: Autoria própria.

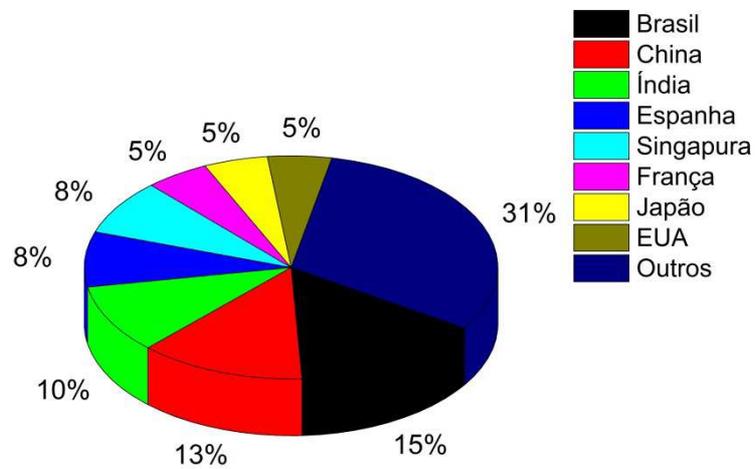
Como amostragem, foram analisados mais a fundo os dados referentes às buscas pelas palavras-chave “*microbial lipase and wastewater treatment*” e “*microbial lipase and effluent treatment*” no banco de periódicos Scopus.

Considerando o termo “*microbial lipase and wastewater treatment*”, a busca do Scopus apresentou um resultado de 34 trabalhos, sendo 29 artigos científicos, 3 artigos de revisão, 1 artigo publicado em conferência e 1 revisão publicada em conferência. Os países com maior número de publicações foram: Índia, com 6 publicações, China, com 5 e o Brasil, com 4.

A pesquisa do termo “*microbial lipase and effluent treatment*” no Scopus retornou 16 resultados, sendo 12 artigos científicos, 2 artigos publicados em conferência, 1 artigo de revisão e 1 artigo de revisão em conferência. Dentre os países com maior número de publicações, lideram novamente o Brasil, com 5 trabalhos publicados, a Índia, com 4 e a China com 2.

Os dados encontrados na pesquisa de publicações científicas no banco Scopus foram distribuídos por países e os resultados são apresentados nas Figuras 1 e 2. A análise dos dados da distribuição de publicações por países (Figuras 1 e 2) possibilita evidenciar que os três países de maior destaque são o Brasil, a China e a Índia, todos considerados “emergentes” e que fazem parte do bloco conhecido como BRICS (PABIS, 2014). O fato desses países possuírem mais estudos científicos voltados à aplicação de lipases no tratamento de efluentes pode ser atribuído à existência de indústrias alimentícias bem desenvolvidas. Portanto, pesquisas de processos que minimizem o impacto dessas indústrias no ambiente apresentam-se como uma tendência que esses países emergentes vêm seguindo.

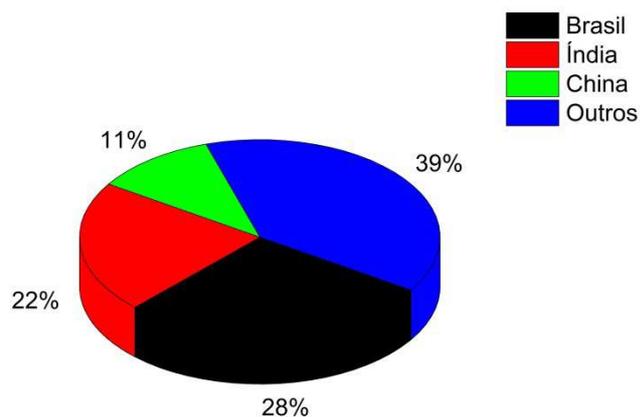
Figura 1. Distribuição de trabalhos disponíveis no **Scopus** com os termos “*microbial lipase and wastewater treatment*” por país de publicação.



Fonte: Autoria própria.

Nota: O termo “Outros” indica 12 diferentes países com número de publicações igual a 1.

Figura 2. Distribuição de trabalhos disponíveis no **Scopus** com os termos “*microbial lipase and effluent treatment*” por país de publicação.

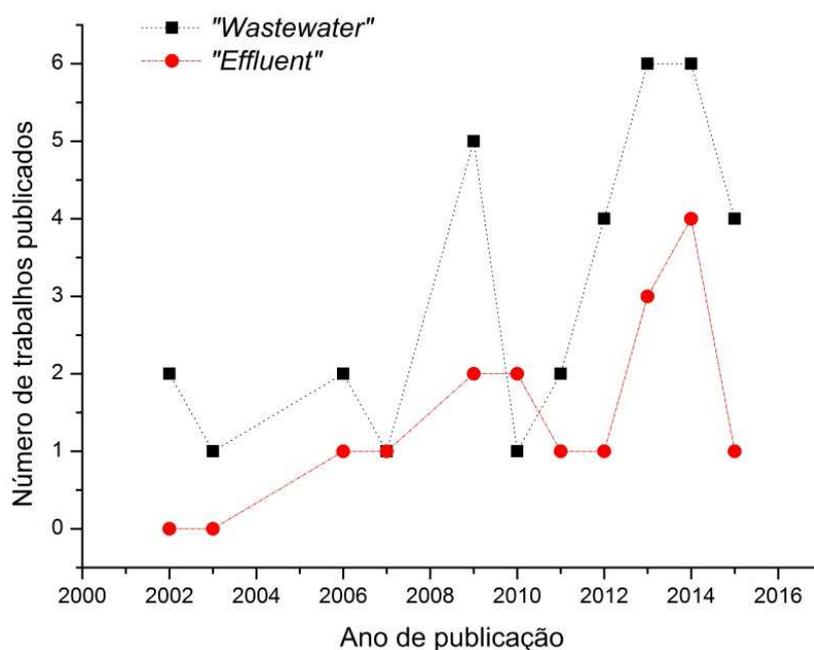


Fonte: Autoria própria.

Nota: O termo “Outros” indica 7 diferentes países com número de publicações igual a 1.

Considerando o período utilizado para a realização da presente pesquisa, o termo “*microbial lipase and wastewater treatment*” no Scopus apresenta a primeira publicação em 2002 e a última em 2015, denotando que as pesquisas na área são relativamente recentes. A Figura 3 relaciona a quantidade de trabalhos publicados por ano, demonstrando um crescimento máximo nos anos de 2009 (5 publicações) e entre os anos de 2013 (6 publicações) e 2014 (6 publicações). Para o termo de busca “*microbial lipase and effluent treatment*”, a primeira publicação registrada no Scopus data de 2006 e a última de 2015. Os anos com maior número de trabalhos publicados foram em 2013 (3 trabalhos) e em 2014 (4 trabalhos), como denota a Figura 3.

Figura 3. Número de publicações por ano de publicação para os termos de busca “*microbial lipase and wastewater treatment*” e “*microbial lipase and effluent treatment*” referentes à busca no Scopus.



Fonte: Autoria própria.

CONCLUSÃO

Os resultados da prospecção demonstraram que ainda existem poucas patentes que envolvem o uso de enzimas lipases no tratamento de efluentes, sendo encontradas apenas duas com propostas de métodos para o tratamento lipásico de efluentes com altos teores de gordura, enquadrando-se nos critérios desse trabalho. Além disso, as duas patentes encontradas são relativamente recentes, compreendendo o período entre 2000 e 2011, com procedência da China e do Brasil. Portanto, o desenvolvimento de novas técnicas para o tratamento de efluentes é um campo que ainda pode ser explorado.

A quantidade de publicações científicas encontradas foi relativamente maior que o número de patentes, ressaltando que a produção científica supera a produção de novas tecnologias. Esse comportamento se deve ao fato de que nem sempre os resultados obtidos em pesquisas científicas são aplicáveis à geração de produtos tecnológicos e geração de patentes. Por fim, os trabalhos

científicos encontrados são de publicação recente, demonstrando que há um aumento na quantidade de trabalhos com autoria de pesquisadores de países com economia emergente.

PERSPECTIVAS

Devido à quantidade de publicações que possui na área de utilização das lipases para uso na degradação de gorduras presentes em efluentes, o Brasil tem grande potencial no desenvolvimento de pesquisas e tecnologias com essas enzimas, o que pode culminar na redução de custos do tratamento desses resíduos industriais e na mitigação de impactos ambientais. Os resultados obtidos nesse estudo de prospecção chamam atenção para o fato de que diversas pesquisas ainda podem ser realizadas para avaliar as várias técnicas da aplicação de enzimas lipases no tratamento de efluentes, podendo ser testadas, comparadas e combinadas, gerando grandes possibilidades de inovação nesse campo. Ademais, esse trabalho pode também servir de ponto de partida para empresas e pesquisadores que visam desenvolver ou aperfeiçoar processos ou reatores para o tratamento de efluentes gordurosos.

REFERÊNCIAS

- AGUIEIRAS, E. C. G.; CAVALCANTI-OLIVEIRA, E. D.; FREIRE, D. M.G. Current status and new developments of biodiesel production using fungal lipases. **Fuel** (Guildford), v. 159, p. 52-67, 2015.
- CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 2195-2210, 2006.
- FALONY, G.; ARMAS, J. C.; MENDOZA, J. C. D.; HERNÁNDEZ, J. L. M. Production of Extracellular Lipase from *Aspergillus niger* by Solid-State Fermentation. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, p. 235-240, 2006.
- FJERBAEK, L.; CHRISTENSEN, K. V.; NORDDAHL, B. A Review of the Current State of Biodiesel Production Using Enzymatic Transesterification. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 102, p. 1298-1315, 2009.
- FLEURI, L. F.; NOVELLI, P. K. ; DELGADO, C. O. ; PIVETTA, M. R. ; Pereira, M. S.; Arcuri, M.; CAPOVILLE, B. L. Biochemical characterization and application of lipases produced by *Aspergillus* sp. on solid-state fermentation using three substrates. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 1, p. 1-7, 2014.
- LEAL, M. C. M. R.; FREIRE, D. M. G.; CAMMAROTA, M. C.; SANT'ANNA JUNIOR, G. L. Effect of enzymatic hydrolysis on anaerobic treatment of dairy wastewater. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 1173-1178, 2006.
- MACHADO, A. C. O. ; SILVA, A. A. T. ; BORGES, C. P.; SIMAS, A. B. C.; Freire, D. M. G. Kinetic resolution of (*R,S*)-1,2-isopropylidene glycerol (solketal) ester derivatives by lipases. **Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic**, v. 69, p. 42-46, 2011.
- MENONCIN, S.; DOMINGUES, N. M.; FREIRE, D. M. G.; OLIVEIRA, J. V.; Di LUCCIO, M.; TREICHEL, H.; OLIVEIRA, D. Imobilização de lipases produzidas por fermentação em estado sólido utilizando *Penicillium verrucosum* em suporte hidrofóbicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 440-443, 2009.
- PABIS, J. L. Acorrentando Gúlliver: a atuação dos BRICS nas negociações sobre agricultura da Rodada Doha da OMC. **Anuario Mexicano de Derecho Internacional**, v. XV, 2015, pp. 659-699.
- GARRIDO, J.V. M. L.; SILVA, C. F. Prospecção tecnológica e científica da utilização de lipases microbianas para tratamento de efluentes.

ROVEDA, M.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de microrganismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 126-131, 2010.

SHARMA, R. CHISTI, Y. BANERJEE; U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 627–662, 2001.

SILVA, J. N.; GUTARRA, M. L. E.; FREIRE, D. M. G.; CAMMAROTA, M. C. Application of Home-Made Enzyme and Biosurfactant in the Anaerobic Treatment of Effluent with High Fat Content. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 3, p. 139-143, 2013.

VALLIKIVI, I.; LILLE, U.; LOOKENE, A.; METSALA, A.; SIKK, P.; TOUGU, V.; VIJA, H.; VILLO, L.; PARVE, O. Lipase action on some non-triglyceride substrates **Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic**, v. 22, p. 279-298, 2003.