

## Avaliação da produção de lipase por macrofungos cultivados em meio Agar-Torta-Dendê

Débora L. Sciuto<sup>1</sup>, Pedro A. Martins<sup>1</sup>, Cibele F. Santos<sup>1</sup>, Thais D. Mendes<sup>1</sup>,  
Dasciana S. R. Gambetta<sup>1</sup>, Thais F. C. Salum<sup>1</sup>, Félix G. Siqueira<sup>1</sup>

### Introdução

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*) é uma palmeira de origem africana, de cujos frutos (dendê) podem-se extrair dois tipos de óleo: 1) o óleo da polpa (extraído do mesocarpo do fruto), conhecido como óleo de dendê ou óleo de palma (*palm oil*) e 2) o óleo da amêndoa, conhecido como óleo de palmiste (*palm kernel oil*); ambos apresentam amplo emprego alimentar e industrial (Müller, 1980). Um dos resíduos gerados no processo de beneficiamento do dendê é a fibra de prensagem (proveniente do mesocarpo do fruto), também conhecida como torta de dendê. Esta torta é um subproduto rico em lipídeos, representando uma fonte alternativa para o crescimento de micro-organismos e indução da produção de suas enzimas.

As lipases são serina hidrolases que catalisam a hidrólise de ligações éster de triacilgliceróis (TAG), diacilgliceróis (DAG) e monoacilgliceróis (MAG) em ácidos graxos livres e glicerol (Ramos-Sánchez *et al.*, 2015). Dependendo das condições, as lipases também catalisam reações de síntese, como a esterificação, transesterificação e interesterificação, sendo a atividade de água ( $a_w$ ) do meio reacional um dos fatores determinantes para o equilíbrio da reação no sentido da hidrólise ou da síntese (Messias *et al.*, 2011). Lipases microbianas possuem diversas aplicações tecnológicas, sendo utilizadas no tratamento de efluentes, resolução de misturas racêmicas, indústria alimentícia, química, farmacêutica, detergentes, têxtil, polpa e papel, produção de biodiesel, entre outras (Hasan *et al.*, 2006). Consequentemente, há grande interesse na prospecção de enzimas alternativas, mais eficientes e estáveis. Desta forma, foi avaliado o crescimento micelial de macrofungos em meio Agar-Torta-Dendê (ATD) visando a seleção de agentes potenciais produtores de lipases.

### Métodos

Foram avaliados 14 macrofungos pertencentes à coleção de micro-organismos do Laboratório de Processos Bioquímicos (LPB), EMBRAPA Agroenergia: FPB05, FPB11, FPB21, FPB24, FPB25, FPB26, FPB34, FPB101, CC110, CC111, CC247, CC380, CC400 e CC425. Os

1 Laboratório de Processos Bioquímicos (LPB), Embrapa Agroenergia, PqEB, Av. W3 Norte (final), Brasília/DF, Brasil, 70770-901; debora.sciuto@colaborador.embrapa.br; felix.siqueira@embrapa.br; dasciana.rodrigues@embrapa.br

isolados foram cultivados em placas de Petri com meio BDA [Batata Dextrose Agar 3,9% (m/v)] e meio ATD [torta de dendê moída 10% (m/v) e agar 2% (m/v)]. As placas foram mantidas a 28 °C durante sete dias. O crescimento micelial dos macrofungos foi avaliado com auxílio de uma régua milimetrada.

Os fungos que apresentaram melhor crescimento no meio ATD foram cultivados por sete dias a 28 °C em placas de Petri contendo 5 meios diferentes: BDA, Agar-Trioleína (Azul de Nilo) [agar nutriente 2,3% (m/v), trioleína 0,38% (v/v) e azul de Nilo A 0,01% (m/v)], Agar-Óleo de Oliva (Rodamina B) [agar nutriente 2,3% (m/v), óleo de oliva 2% (v/v) e rodamina B 0,007% (m/v)], Agar-Torta-Dendê e Agar-Caroço-Algodão [caroço de algodão deslintado e moído 5% (m/v) e agar 2% (m/v)].

O meio BDA foi utilizado como controle do crescimento dos fungos. Os meios Agar-Trioleína e Agar-Óleo de Oliva foram utilizados como testes qualitativos para lipases, avaliando-se o halo de hidrólise formado ao redor das colônias fúngicas.

Os meios Agar-Torta-Dendê e Agar-Caroço-Algodão foram utilizados como substrato para o cultivo dos macrofungos e avaliação quantitativa da produção de lipase. Após o crescimento destes, a biomassa pastosa (meio fermentado) foi macerada e avaliada quanto à atividade de lipase por método titulométrico, utilizando emulsão de óleo de oliva como substrato. Além disso, a biomassa macerada foi homogeneizada com solução salina 2% (m/v) (30 °C / 150 rpm / 2 h) e, então, centrifugada (25 °C / 10.000 rpm / 10 min); o sobrenadante obtido, denominado extrato bruto, foi utilizado para determinação da atividade lipolítica pelo método colorimétrico de hidrólise do palmitato de p-nitrofenila (pNPP).

## Resultados e Conclusões

Com exceção da cepa FPB24, todos os macrofungos avaliados cresceram no meio Agar-Torta-Dendê. Os cinco fungos que apresentaram maior taxa de crescimento micelial (cm/dia) foram: FPB11 ( $1,45 \pm 0,00$ ), FPB25 ( $1,17 \pm 0,22$ ), FPB34 ( $0,68 \pm 0,05$ ), FPB101 ( $0,76 \pm 0,03$ ) e CC400 ( $0,62 \pm 0,02$ ).

Nos testes qualitativos para lipase, apenas o macrofungo CC400 (espécie comestível) apresentou halo de hidrólise quando cultivado em meio Agar-Óleo de Oliva, porém o halo não foi observado no meio Agar-Trioleína. Concomitante ao teste qualitativo, a atividade lipolítica foi avaliada quantitativamente nos meios Agar-Torta-Dendê e Agar-Caroço-Algodão, uma vez que a produção enzimática pode variar quando o organismo é cultivado em substratos distintos. Entretanto, também não foi observada atividade de lipase nos extratos brutos enzimáticos (método colorimétrico com pNPP) e biomassas pastosas (método titulométrico).

Outros macrofungos pertencentes à coleção da Embrapa Agroenergia ainda estão sendo avaliados quanto ao crescimento micelial e produção de lipase em meio ATD. A enzima obtida será, então, purificada e caracterizada quanto às suas propriedades bioquímicas.

## Apoio Financeiro

Este trabalho foi financiado com recursos do Projeto DendePalm (FINEP).

## Referências

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 39, n. 2, p. 235-251, 2006.

MESSIAS, J. M.; et al. Lipases microbianas: produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

MÜLLER, A. A. A Cultura do Dendê. **Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido**, Belém, Miscelânea n 5, 1980.

RAMOS-SÁNCHEZ, L. B.; et al. Fungal Lipase Production by Solid-State Fermentation. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, Los Angeles, v. 5, n. 203, p. 1-9, 2015.