

Prospecção de microrganismos produtores de lipase a partir de frutos e de resíduos agroindustriais de dendê (*Elaeis guineensis*)

Pedro A. Martins^{1*}, Débora L. Sciuto¹, Fábio E. M. Lopes¹, Carolina M. Poletto¹, Thaís F. C. Salum^{1*}

Introdução

Lipases são enzimas capazes de catalisar a hidrólise de triacilgliceróis, produzindo glicerol e ácidos graxos, bem como promover as reações de esterificação, transesterificação, inter-esterificação, alcoólise e aminólise. Dentre diversas aplicações, as lipases podem ser utilizadas como catalisadoras da rota biológica de produção do biodiesel (CHRISTOPHER *et al.*, 2014; SALUM *et al.*, 2013). Muitos microrganismos capazes de produzir estas enzimas podem ser encontrados associados a ambientes ricos em lipídeos, como os frutos do dendê e os resíduos agroindustriais gerados no processo de extração do óleo destes frutos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi isolar microrganismos produtores de lipase e avaliar a atividade enzimática destes quando cultivados em fibra de prensagem (torta) de dendê como substrato para fermentação em estado sólido.

Métodos

Os frutos de dendê foram coletados de uma palmeira da Embrapa Cerrados. Foram utilizadas duas abordagens para o isolamento dos microrganismos: na primeira, os frutos foram esterilizados quimicamente na sua parte externa, de forma a se obter apenas os microrganismos endofíticos; na segunda, o fruto inteiro foi utilizado para obtenção dos microrganismos, englobando tanto endofíticos quanto epifíticos. Como fonte de microrganismos, foram utilizadas, também, amostras de fruto, cacho e fibra de prensagem de dendê, além de resíduos agroindustriais cedidos pela empresa Denpasa (Belém-PA). Nestes casos, as amostras foram empregadas para a prospecção sem nenhum tipo de esterilização prévia. As amostras foram incubadas em tampão PBS pH 7,4 a 30°C e agitação de 200rpm por 2h. Em seguida, a solução contendo os microrganismos foi utilizada para inocular os meios LB (bactérias), YPG 2% (leveduras) e BDA (fungos filamentosos), os quais foram incubados a 28°C. Após o crescimento dos microrganismos, cada um deles foi isolado até a obtenção de culturas puras. Os isolados foram avaliados quanto à capacidade de produção de lipase através de testes qualitativos em placa utilizando os meios Azul de Nilo

¹ Laboratório de Processos Bioquímicos (LPB), Embrapa Agroenergia, PqEB, Av. W3 Norte (final), Brasília/DF, Brasil, 70770-901;

* pedro.alves@colaborador.embrapa.br; thais.salum@embrapa.br

A e Rodamina B (DAMASO *et al.*, 2013). Aqueles que apresentaram resultados positivos para estes testes foram, então, cultivados em torta de dendê como substrato para fermentação em estado sólido e a sua produção de lipases foi avaliada quantitativamente por meio dos métodos colorimétrico (KRIEGER, 1995) e titulométrico (DIAZ, 2006).

Resultados e Conclusões

Ao todo, foram isolados 298 microrganismos, dentre os quais 180 bactérias, 18 leveduras e 100 fungos filamentosos. Do total de microrganismos isolados, 60 apresentaram halos positivos quando avaliados qualitativamente pelos testes de produção de lipases em placa utilizando os meios Azul de Nilo A e Rodamina B, sendo 40 fungos filamentosos, 18 bactérias e 2 leveduras. Até o momento, foram realizados os cultivos de 36 fungos filamentosos por fermentação em estado sólido. Quando avaliados quantitativamente por meio de ensaios enzimáticos dos sólidos fermentados e dos extratos enzimáticos, apenas os fungos filamentosos BDA 24, BDA-FI 7, BDA-FI 8.1, BDA-FI 11 e FPA 15 expressaram alguma atividade lipolítica, já que apresentaram uma acidez maior do sólido fermentado, quando avaliados por meio do método titulométrico. A análise dos sólidos fermentados inativados destes mesmos fungos revelou uma acidez menor do que quando avaliados os mesmos sólidos não inativados, indicando que a acidez observada inicialmente era devido à presença de lipases. Entretanto, testes posteriores ainda precisam ser realizados para confirmar e quantificar a atividade enzimática observada. As bactérias, leveduras e o restante dos fungos filamentosos ainda serão cultivados e avaliados.

Apoio Financeiro

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

Referências

- CHRISTOPHER, L. P.; KUMAR, H.; ZAMBARE, V. P. Enzymatic biodiesel: Challenges and opportunities. **Applied Energy**, Oxford, v. 119, p. 497-520, abr. 2014
- DAMASO, M. C. T.; SALUM, T. F. C.; TERZI, S. C.; COURI, S. Assay methods for lipase activity. In: VERMELHO, A. B.; COURI, S. (Ed.). **Methods to determine enzymatic activity**. Rio de Janeiro, RJ: Bentham Science, 2013, p. 161-194.
- DIAZ, J. C. M.; et al. Lipase from the thermotolerant fungus *Rhizopus homothallicus* is more thermostable when produced using solid state fermentation than liquid fermentation procedures. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 39, n. 5, p. 1042-1050, set. 2006.
- KRIEGER, N. **Produção, purificação e caracterização de lipases de *Penicillium citrinum***. 1995. 260 f. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- SALUM, T. F. C.; PIGHINELLI, A. L. M. T.; DAMASO, M. C. T. Produção de biodiesel por catálise enzimática. In: MACHADO, C. M. M. (Ed.). **Microrganismos na produção de biocombustíveis líquidos**. Brasília, DF: Embrapa, 2013, p. 257-276.