



FÓRUM ENSINO · PESQUISA
EXTENSÃO · GESTÃO
FEPEG
UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS
Trabalhos científicos · Apresentações artísticas
e culturais · Debates · Minicursos e Palestras

REALIZAÇÃO:
Unimontes
Universidade Estadual de Montes Claros
APOIO:
FAPEMIG
FADENOR

24 a 27
setembro
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

www.fepeg.unimontes.br

Método de Identificação de Enzimas Lipolíticas usando Tributirina como Substrato Indutor

Amanda Souto Machado, Janete Maria da Silva Alves, Eloá Mangabeira Santos, Jéssica Simões Pereira, Maria Fernanda Silveira Santos, Luiz Felipe da Silva Xavier, Henrique Maia Valério

Introdução

Enzimas lipolíticas são biocatalisadores responsáveis por catalisar reações de hidrólise de ésteres de triglicerídeos. Tais reações ocorrem por clivagem sequencial dos grupos acila no glicerídeo, contendo na mistura reacional água, glicerol, ácidos graxos livres, monoacilgliceróis e diacilgliceróis. Além da hidrólise, elas também são capazes de catalisar reações reversas, como esterificação, transesterificação. As enzimas lipolíticas são produzidas preferencialmente a partir de fontes microbianas, devido ao aumento da capacidade produtiva durante os processos fermentativos, facilidade de aquisição e controle do processo, além dos baixos custos de obtenção [1].

Atualmente essas enzimas vêm atraindo uma grande atenção devido às suas potencialidades biotecnológicas, pois constituem o mais importante grupo de biocatalisadores para aplicações neste campo. O elevado potencial de aplicação das lipases microbianas é justificado por serem amplamente diversificadas em suas propriedades enzimáticas e especificidade do substrato, o que as torna muito atrativas para aplicação industrial [2]. As enzimas podem ser indutivas, ou seja, produzidas pelos microrganismos na presença de um indutor, que pode ser o próprio substrato ou o produto da sua hidrólise, o qual pode ser adicionado ao meio de cultivo a fim de estimular a produção [3].

Métodos para identificação de enzimas lipolíticas podem ser usados como ferramentas para aplicação industrial. Neste contexto o trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de identificação de enzimas lipolíticas em meio sólido contendo tributirina como substrato indutor.

Materiais e Métodos

A. Isolamento do fungo

O fungos utilizados neste estudo foram coletados de resíduos de bagaço e palha de cana-de-açúcar, bem como porções do solo (até 15 cm de profundidade) na região Norte de Minas, o isolamento foi efetuado a partir do processamento das amostras em meio de cultura BDA (2% Ágar, 20% Batata, 2% Dextrose), estrategicamente preparado com pH acidificado para 5,0 acrescido de antibiótico tetraciclina 100 µg/mL.

B. Avaliação dos isolados quanto à capacidade de produzir lipase

Os fungos isolados na etapa anterior foram testados quanto à habilidade de produzir lipase em ensaios realizados em placas de Petri contendo: 0,5 % peptona; 0,3% de extrato de levedura; 0,1% de tributirina; 2% de ágar (% m/v em água destilada), pH 6,0. As placas foram incubadas a 30 °C por 72 horas, e a produção de lipase foi identificada pela formação de um halo de hidrólise ao redor das colônias. Os raios (r) das colônias e os raios (R) dos halos provenientes da hidrólise do substrato do meio ao redor do fungo foram mensurados [3].

Resultados e Discussão

Foram isolados 89 fungos obtidos de resíduos de bagaço e palha de cana-de-açúcar em meio de cultura BDA, em seguida os isolados foram submetidos a testes em meio de cultura contendo tributirina como substrato indutor. Cerca de 80% das cepas testadas apresentaram atividade lipolítica, destas, 24 cepas foram selecionadas como melhores produtoras, uma vez que, apresentaram uma relação R/r maior do que dois. Os resultados obtidos neste estudo indicam que são muitos os fungos que produzem enzimas lipolíticas com tributirina como substrato indutor (Tab.1). Estes valores podem variar significativamente dependendo da composição do meio de cultivo e também de outras variáveis, tais como pH, temperatura de incubação e presença de indutores da síntese de lipase como os óleos vegetais [4]. Os resultados observados no trabalho foram semelhantes aos encontrados na literatura onde os fungos filamentosos são considerados bons produtores de enzimas [5], sendo o conhecimento de fungos produtores de enzimas lipolíticas de grande importância, pois os mesmos possuem aplicação industrial devido seu potencial biotecnológico.

Conclusão

Podemos concluir que os fungos isolados de solo de ambientes canavieiros e de resíduos de cana-de-açúcar têm a capacidade de produzir lipase em meio sólido contendo tributirina como substrato indutor, sendo este um método eficiente para o rastreamento de fungos produtores de lipase.

Agradecimentos

Agradecemos ao apoio financeiro da Petrobrás, e a *Biom Technology* pela doação da cepa utilizada neste estudo.



FÓRUM ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO
FEPEG
UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS

Trabalhos científicos • Apresentações artísticas
e culturais • Debates • Minicursos e Palestras

REALIZAÇÃO:
Unimontes
Universidade Estadual de Montes Claros

APOIO:
FAPEMIG
FADENOR

**24 a 27
setembro**
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

www.fepeg.unimontes.br

Referências

- [1] Feitosa, C.I. **Produção de enzimas lipolíticas utilizando bactérias isoladas de solo com histórico de contato com petróleo em fermentação submersa**. 2009.105p. (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos) - UNIT, Aracaju, 2009.
- [2] HASAN, F.; SHAH, A.A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006.
- [3] Roveda, M.; Hemkemeier, M.; Colla, M.L. **Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de microrganismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* vol.30 no.1 Campinas Jan./Mar. 2010[4] Carvalho, O.P. *et al.* **Potencial de biocatálise enantiosseletiva de lipases microbianas**. *Quím. Nova* vol.28 no.4 São Paulo Jul/Ag. 2005
- [5] MAIA, M. M. D. et al. Effect of culture conditions on lipase production by *Fusarium solani* in batch fermentation. *Bioresource Technology*, v. 76, n. 1, p. 23-27, 2001.



FÓRUM ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO
FEPEG

UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS

Trabalhos científicos • Apresentações artísticas
e culturais • Debates • Minicursos e Palestras



**24 a 27
setembro**
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

www.fepeg.unimontes.br

Tabela 1. Fungos que obtiveram maior relação R/r em meio sólido contendo tributirina como substrato indutor

Fungos isolados	r	R	R/r
s68	14,4	23,6	2,0
w9	16,3	40,0	2,4
w10	10,5	30,0	2,8
w11	17,9	38,0	2,1
w14	15,3	34,6	2,2
w24	10,2	20,9	2,0
w29	19,7	40,4	2,0
w37	10,8	23,1	2,1
w38	10,6	20,1	2,4
w39	8,1	19,1	2,3
w44	4,9	17,5	3,5
w50	4,5	14,0	3,0
w57	4,5	15,0	3,2
w58	4,1	16,8	4,0
w6	7,0	18,1	2,5
w60	9,8	19,7	2,0
w64	4,2	11,9	2,7
w67	6,0	27,0	4,4
w69	2,5	9,1	3,2
w71	5,7	14,0	2,4
w74	2,8	8,6	3,1
w78	9,5	24,2	2,5
w88	4,2	9,9	2,3