

Propriedades físico-químicas e influência de íons metálicos na atividade da lipase de *Botryosphaeria ribis*

Bruna Z. da Costa¹ (IC), Arnaldo F. da Silva Filho¹ (IC), Josana M. Messias¹ (PG), Maria Inês Resende¹ (PQ), Valéria M. G. de Lima² (PQ), Robert F. H. Dekker³ (PQ), Aneli M. Barbosa¹ (PQ). aneli@uel.br.

¹Depto de Bioquímica e Biotecnologia, CCE, Universidade Estadual de Londrina, CEP 86051-990, CX Postal 6001, Londrina –PR, Brasil. ²Universidade Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Campus de Assis – SP. ³Universidad de Castilla-La Mancha, IRICA, 13071 Ciudad Real, España

Palavras Chave: lipase, *Botryosphaeria ribis*

Introdução

O gênero *Botryosphaeria* é agente causal de cancrios e morte súbita em diversas espécies vegetais. Além de secretar amilase, celulase, pectinase, lacase e exopolissacarídeo^{1,2}, também produz lipase (E.C.3.1.1.3). Esta última enzima hidrolisa triacilglicerol de cadeia longa e possui amplas aplicações biotecnológicas³, podendo ser utilizada na produção de biodiesel, detergentes, medicamentos, cosméticos e também na indústria alimentícia. O *B. ribis* estudado neste trabalho foi selecionado previamente como produtor de lipase, dentre sete isolados do mesmo gênero, após terem sido cultivados em oito tipos de óleos vegetais e também em glicerol. O óleo de soja (1,0 %, v/v) foi a melhor fonte de carbono indutora de lipase para este fungo. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência do pH, temperatura e íons metálicos na atividade enzimática, além de verificar sua estabilidade à diferentes temperaturas.

Resultados e Discussão

O *Botryosphaeria ribis* foi mantido em meio sólido de Vogel⁴ a 4,0 °C. Para a produção da enzima, o fungo foi cultivado em meio mínimo de Vogel com 1,0% (v/v) de óleo de soja, em frascos de Erlenmeyer mantidos sob agitação a 180 rpm, 28 °C, por 5 dias. A atividade de lipase foi determinada pelo método da hidrólise do palmitato de *p*-nitrofenila (*p*NPP)⁵, acompanhada a 410 nm. A unidade de atividade lipásica foi definida como 1 μmol de *p*-nitrofenol liberado por minuto, por mL da solução de enzima. O pH e temperatura ótimos da atividade de lipase foram 8,0 (tampão fosfato) e 55°C, respectivamente. Para avaliar a estabilidade da lipase à diferentes temperaturas, o extrato enzimático foi incubado em tampão fosfato 0,05 mol/L, pH 8,0, na ausência de substrato e em temperaturas entre 30 e 85 °C durante 3 horas (Figura 1). Em determinados intervalos de tempo, alíquotas foram removidas e ensaiadas para a atividade lipásica. Quanto à influência de íons metálicos (1,0 mMol/L) na atividade da enzima observou-se um aumento desta na presença de MnCl₂ (42%), MgCl₂ (41%), CaCl₂ (31%), KCl (18%), ZnCl₂ (11%), NaCl

(10%), BaCl₂ (8%), AgNO₃ (7%), KCN (4%) e CoCl₂ (4%).

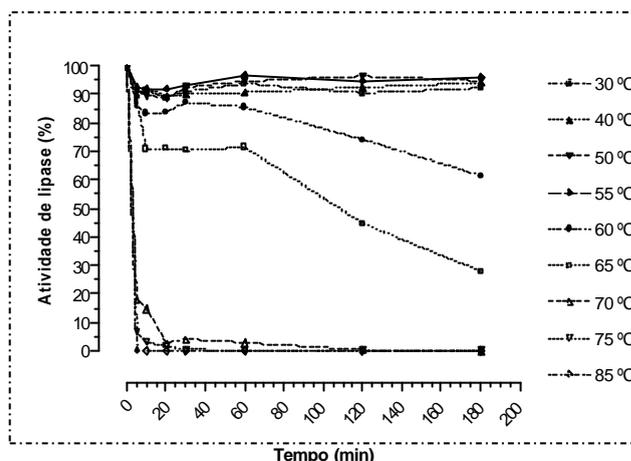


Figura 1. Estabilidade da lipase do *B. ribis* em diferentes temperaturas por um período de 3 horas.

Houve inibição da atividade enzimática em 18% e 34% na presença de CuSO₄ (1,0 mMol/L) e HgCl₂, (10,0 mMol/L), respectivamente.

Conclusões

As propriedades físico-químicas da lipase do *B. ribis* avaliadas revelaram que esta é alcalina, tem atividade ótima a 55 °C, permaneceu praticamente com 90% da atividade quando incubada por 3 horas até 55°C e os íons Mn²⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺ foram os melhores cofatores para a atividade da enzima.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação Araucária, CNPq-PIBIC-UDEL, PRPPG-IC-UDEL pelas bolsas IC concedidas.

¹Barbosa, A .M.; Steluti R. M.; Dekker R. F. H.; Cardoso, M. S.; Corradi, M. L. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 1691

²Barbosa, A .M.; Dekker R. F. H.; Hardy, G. E. *Lett. Appl. Microbiol.* **1996**, 23, 93.

³Sharma, R.; Chisti, Y.; Banerjee, U. C. *Biotechnol. Adv.* **2001**, 19, 627

⁴Vogel, H. J. *Genetic Bull.* **1956**, 13, 42-43.

⁵Lima, V.M.G.; Krieger, N.; Sarquis, M.I.M.; Mitchell, D.A.; Ramos, L.P.; Fontana, J.D. *Food Technol. Biotechnol.* **2003**, 41, 105.