

Comparação entre métodos de triagem para a seleção de fungos Amazônicos produtores de lipase com atividade sintética.

Sandra P. Zanotto^{*} (PQ), Patrícia M. Albuquerque¹ (PQ), Israel P. Romano¹ (PG), Soraya F. da Silva¹ (IC), Fabiana de A. Lima¹ (IC), Sergio Duvoisin Jr.¹ (PQ).

*sandrazanotto@pq.cnpq.br

Laboratório de Biorgânica, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, Universidade do Estado do Amazonas – UEA. Av. Carvalho Leal, 1777, prédio anexo, 4º andar. Cachoeirinha, Manaus-AM, 69065-001. Tel. (92) 36113530

Palavras Chave: triagem, fungos amazônicos, lipase.

Introdução

A demanda industrial por novas fontes de lipases tem estimulado o isolamento e a triagem de novos microrganismos lipolíticos¹. Considerando a imensa diversidade biológica amazônica e a importância dos fungos como fornecedores de enzimas, a busca por novos biocatalisadores passíveis de aplicação em processos biotecnológicos é de grande relevância². A triagem destes é um passo-chave no desenvolvimento dos processos de biocatálise. Portanto, a escolha de um método particular dependerá, sobretudo, da reação de interesse³. Neste trabalho foram avaliados 14 fungos da região Amazônica para cinco métodos de triagem, visando selecionar potenciais produtores de lipase com atividade sintética.

Resultados e Discussão

Foram utilizados dois métodos qualitativos: ensaio com tributirina¹ (TB) e ensaio com óleo de oliva⁴ (OO). Ambos foram realizados em placas de petri, onde foi verificando a capacidade dos fungos em hidrolisar os substratos, mediante o aparecimento de halo. Três métodos quantitativos também foram avaliados: síntese de oleato de pentila (OP) e de linoleato de dodecila (LD) via reações de esterificação e síntese do palmitato de *p*-nitrofenila (PpNF) via transesterificação. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Desempenho de fungos amazônicos nos diferentes métodos de triagem.

Isolate	TB ^a	OO ^a	OP ^b (%)	LD ^b (%)	PpNF ^b (%)
UEA_027	+	+	72	12	23
UEA_001	+	+	88	43	79
UEA_017	+	+	50	1	5
UEA_115	+	+	91	94	24
UEA_041	+	-	45	78	18
UEA_053	+	-	24	38	15
UEA_016	+	-	2	16	29
UEA_028	+	+	37	50	52
UEA_023	+	+	6	34	40
UEA_006	+	-	24	68	0

UEA_007	+	+	8	98	87
UEA_012	+	-	1	8	51
UEA_015	+	-	16	50	4
UEA_018	+	-	0	0	18

^a Teste positivo: aparecimento de halo. ^b Conversões (%) determinadas por HPLC (Varian ProStar 310, UV@210nm, coluna Microsorb C4, eluente acetoneitrila/água).

Os isolados UEA_001, UEA_007, UEA_028, UEA_041 e UEA_115, apresentaram resultados positivos nos ensaios hidrolíticos e obtiveram percentagens de conversão comparáveis aos da enzima comercial Novozym 435 com 100% de conversão. Estas cepas podem ser consideradas as mais versáteis dentre as estudadas e, conseqüentemente as mais promissoras para serem empregadas em biocatálise. Os isolados UEA_006, UEA_012, UEA_015, UEA_016, UEA_018, UEA_041 e UEA_053 apresentaram resultado positivo no ensaio hidrolítico com o substrato TB e resultado negativo no ensaio com OO. Apesar destas cepas não hidrolisarem este substrato, muitas delas apresentam atividade sintética significativa. Sendo assim, os resultados sugerem que o ensaio hidrolítico com o substrato OO não foi um método adequado para a triagem preliminar de lipases com aplicação em síntese orgânica, visto que estes sete fungos seriam eliminados durante a seleção hidrolítica.

Conclusões

Com estes resultados confirma-se a dificuldade em se obter um método universal para a seleção de microrganismos produtores de lipases, já que para cada substrato específico e tipo de reação empregada pode-se encontrar um biocatalisador adequado junto a biodiversidade.

Agradecimentos

UEA, CNPq, CAPES e FAPPEAM.

¹ Torres, M.; Dolcet, M. M.; Sala, N. e Canela, R. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3328.

² Carvalho, P. O.; Calafatti, S. A.; Marassi, M.; Silva, D. M.; Contesini, F. J.; Bizaco, R. e Macedo, G. A. *Quim. Nova* **2005**, *28*, 614.

³ Beisson, F.; Tiss, A.; Riviere, C. e Verger, R. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2000**, *133*.

⁴ Colen, G. Tese de Doutorado. PPG em Ciência dos Alimentos – UFMG, **2006**.