

Produção de lipases por linhagens fúngicas termofílicas para produção de biodiesel etílico

Bárbara G. São José * (IC), Thiago H. K. Ohe (PG), Ana Lucia Ferrarezi (PG), Marcos R. Siqueira (IC), Janaina P. Borges (PG), Mauricio Boscolo (PQ), Eleni Gomes (PQ), João Claudio Thoméo (PQ), Roberto da Silva (PQ). *babygsj@hotmail.com.

Universidade Paulista Julio de Mesquita Filho (Unesp), Campus São José do Rio Preto

Palavras Chave: bioenergia, biodiesel, lipase, atividade hidrolítica.

Introdução

O emprego da biotecnologia utilizando óleos e gorduras tem tido um crescente interesse em diversos setores¹, especialmente para área de biocombustíveis. O biodiesel representa uma fonte energética promissora para substituição do diesel já que advém de uma fonte renovável e gera menos poluente². Os principais processos de produção de biodiesel por catálise enzimática incluem a hidrólise de glicerídeos, esterificação e transesterificação³. A bioprospecção de enzimas estáveis para aplicação nesses processos é um grande desafio, pois são normalmente de interesse enzimas termoestáveis e que não percam funcionalidade quando imobilizadas em suportes naturais e/ou sintéticos. Assim sendo, as lipases termofílicas tem sido objeto de destaque nos meios científico e industrial. O presente trabalho teve como objetivo determinar a atividade hidrolítica das lipases produzidas por linhagens fúngicas termoestáveis F2 1.2 e T 6.2 (ainda não identificadas) com a finalidade de empregá-las futuramente na produção de biodiesel etílico, foco do grupo de pesquisa.

Resultados e Discussão

As linhagens fúngicas foram pré inoculadas em meios de cultura contendo 0,1% peptona, 1%(NH₄)₂SO₄, 1% KH₂PO₄, 0,5% elemento traço, 0,05% MgSO₄.7H₂O, 0,1% CaCl₂ e 3% Agar mantidas à 45°C. Após 72h, 5x10⁵ de esporos foram adicionados em sacos de polipropileno com 5g de bagaço e 25mL de solução nutriente. A partir de então a cada 24h retiravam-se amostras (triplicatas) pelo decorrer de 5 dias (120h) para posterior hidrólise. A hidrólise foi realizada a 45°C durante 1 minuto utilizando o substrato sintético *p*-nitrofenil palmitato na concentração de 3mg por mL de álcool iso-propílico em meio aquoso contendo 2g de Triton X-100 e 0,5g de goma arábica para 450mL de tampão fosfato 0,05mol/L, pH 7,0. Padronizou-se uma unidade de atividade hidrolítica (U) como sendo a liberação de 1µmol de *p*-nitrofenol por minuto, sendo a leitura realizada no espectrofotômetro com comprimento de onda 410nm. As linhagens termofílicas em estudo apresentaram completo crescimento microbiano dentro das 120h, o que inclui as fases Lag, a exponencial, estacionária e finalmente a de declínio. A lipase obtida na fermentação da linhagem F2 1.2 teve atividade hidrolítica relativamente maior durante todo o tempo (Figura 1). Esta, já nas primeiras 24h apresentou

atividade hidrolítica de 1,74 U/g enquanto aquela sintetizada pela linhagem T 6.2 atingiu apenas 0,534U/g. Os picos de atividade também diferiram com valores de 3,83U/g em 72h para a linhagem F2 1.2 e 2,04 U/g em 96h para a linhagem T 6.2. A referida reação de hidrólise envolve ataque na ligação éster do *p*-nitrofenil palmitato, na presença de moléculas de água, liberando *p*-nitrofenol e palmitato em igual proporção. O *p*-nitrofenol, um composto cromogênico, gera coloração amarelada podendo ser quantificado após hidrólise.

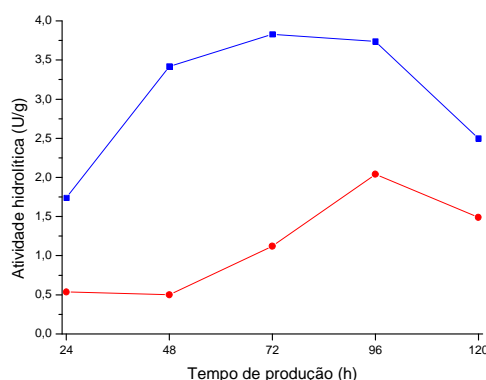


Figura 1. Curva de crescimento F2 1.2 (■) e T 6.2 (●).

Conclusões

A produção das lipases por diferentes microrganismos pode influenciar suas características funcionais, principalmente em relação à especificidade. Neste caso, a lipase sintetizada pelo microrganismo F2 1.2 atuou mais eficientemente na hidrólise do substrato em relação àquela sintetizada pelo fungo T 6.2. Essas enzimas prosseguirão para avaliação das reações de esterificação, transesterificação e produção de biodiesel, tendo suas condições de produção e ação otimizadas.

Agradecimentos

CNPq e Fapesp pelas bolsas e apoio financeiro.

1 Malcata, F. X.; Reyes, H. R.; Garcia, H. S.; Hill, C. G. e Amundson, C. H. *Journal of the American Oil Chemist Society*. **1990**, v.67, 890-910.

2 Murayama, T. *Evaluating vegetable oils as a diesel fuel*. **1994**, Inform. v.5, n.10, 1138-1145.

3 Prazeres, D. M. F.; Garcia, F. A. P. e Cabral, J. M. S. *Biotechnology and Bioengineering*. **1993**, v. 41, 761-770.