

Efeitos da concentração inicial de ácido oleico sobre a atividade hidrolítica de um meio fermentado por *Diutina rugosa* (ATCC 14830)

dos Santos, L. S. C.¹; Collaço, A. C. A.¹; Tinôco, D.²; Freire, D. M. G.¹

Filiações: ¹Instituto Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; ²Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: anacriscollaco@gmail.com.

Resumo

O uso de lipases em reações de síntese de biodiesel e biolubrificantes representa uma alternativa promissora aos catalisadores químicos, oferecendo vantagens tecnológicas, econômicas e ambientais. No entanto, sua aplicação na conversão em ésteres requer altas atividades hidrolíticas para torná-las comercialmente competitivas. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da concentração inicial de ácido oleico, usado como fonte de carbono, sobre a atividade hidrolítica da lipase extracelular produzida pela levedura *Diutina rugosa* (ATCC 14830). Inicialmente, as células foram crescidas em frascos agitados a 200 rpm, 30 °C, por 18 h, contendo meio YPD (10 g/L de extrato de levedura; 20 g/L de peptona; e 20 g/L de glicose) para geração de pré-inóculo, que foi adicionado a 10% (v/v) no meio reacional. Os ensaios de fermentação foram conduzidos em frascos agitados a 200 rpm, 30 °C, por 48 h, usando um meio de cultura contendo 15 g/L de KH₂PO₄; 5,5 g/L de K₂HPO₄; 4,0 g/L de (NH₄)₂SO₄; 1,0 g/L de MgSO₄·7H₂O; 10 mg/L de FeCl₃·6H₂O; 0,004 mg/L de inositol; 0,008 mg/L de biotina; e 0,2 mg/L de tiamina – HCl. Duas concentrações de ácido oleico foram testadas (2 e 5 g/L). A biomassa celular foi medida por espectrofotometria a 600 nm e correlacionada com a massa seca (Biomassa= 0,41*Absorbância). A atividade hidrolítica do meio fermentado foi determinada a partir de leitura de absorbância em espectrofotômetro empregando como substrato o *p*-nitrofenil laurato (0,025 M) nos tempos de 4, 24 e 48 h de cultivo. O aumento da concentração de ácido oleico de 2 para 5 g/L levou ao aumento da biomassa gerada, que alcançou uma concentração de aproximadamente 5,0±1,4 e 9,7±1,0 g/L em 48 h, respectivamente. O mesmo comportamento foi verificado para a atividade hidrolítica, que passou de cerca de 511±13 para 707±142 U/L em 48 h, respectivamente. Esses resultados sugerem uma produção de lipase por *D. rugosa* (ATCC 14830) associada ao crescimento microbiano, cujo controle é fundamental para melhorar o rendimento do bioprocessamento. Além disso, foi verificada uma redução da atividade hidrolítica entre 24 e 48 h em meio fermentado contendo inicialmente 2 g/L de ácido oleico, intervalo em que a célula se encontrava em fase estacionária de seu crescimento. Esse resultado sugere que esta levedura é capaz de assimilar o próprio produto para se manter viável quando a fonte de carbono é exaurida. Portanto, a atividade hidrolítica do preparado enzimático fermentado por *D. rugosa* (ATCC 14830) depende diretamente da concentração inicial de ácido oleico, que

Efeitos da concentração inicial de ácido oleico sobre a atividade hidrolítica de um meio fermentado por *Diutina rugosa* (ATCC 14830)

dos Santos, L. S. C.¹; Collaço, A. C. A.¹; Tinôco, D.²; Freire, D. M. G.¹

Filiações: ¹Instituto Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; ²Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: anacriscollaco@gmail.com.

deve ser mantido sob controle para permitir uma produção de lipase potencialmente aplicável em reações de esterificação.

Palavras-chave: Lipase; Biolubrificante; Fermentação submersa; Atividade enzimática; Preparado enzimático.

Referências

CERMAK, S. C.; ISBELL, T. A.; EVANGELISTA, R. L. Síntese e propriedades físicas de estolídeos a partir de ácidos oleico e ricinoleico e de seus ésteres metílicos. **Industrial Crops and Products**, v. 33, 2011.

CHANDRA, P.; SINGH, R.; ARORA, A. Por que as lipases merecem atenção na biocatálise? Uma revisão de atualizações recentes. **Biotechnology Reports**, v. 27, 2020.

DE MARIA, P. D.; CARBONI, A.; SINISTERRA, J. V. As lipases de *Candida rugosa*: propriedades catalíticas e aplicações em síntese orgânica. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 39, 2006.

GRECO-DUARTE, J.; TRINDADE, T.; LANGONE, M. A. P. Produção de biolubrificante por meio de esterificação enzimática do ácido ricinoleico utilizando lipase de *Candida rugosa*. **Industrial Crops and Products**, v. 96, 2017.