



## Seleção de Microrganismos Produtores de Lipase Isolados de Solos Contaminados com Óleo Diesel

*Aparecida Selsiane Sousa Carvalho, Vanessa Vicente Vieira Andrade, Fernando Reynel Fundora Tellechea, Meire Lelis Leal Martins, Marco Antonio Martins, Luana Pereira de Moraes*

As lipases (EC 3.1.1.3) são enzimas que hidrolisam os triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol e são utilizadas nos diferentes setores industriais como alimentício, farmacêutico e químico. Assim, objetivou-se com o presente estudo selecionar microrganismos capazes de produzir lipases. Para tanto, 17 isolados microbianos provenientes de regiões de derramamento de óleo foram crescidos no meio de cultura contendo tributirina ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ), ágar ( $20 \text{ g.L}^{-1}$ ), NaCl ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ), extrato de levedura ( $3 \text{ g.L}^{-1}$ ), peptona ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ) e Tween 80 ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ) diluídos em água destilada (1 L). A solução foi homogeneizada manualmente, o pH foi ajustado em 7,5 e, em seguida, esterilizada em autoclave à  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  por 15 minutos. Após resfriamento do meio de cultura, placas foram preparadas e a colônia isolada foi repicada em triplicata com auxílio de uma alça de níquel-cromo e incubadas em estufa bacteriológica à  $37^\circ\text{C}$  por 48 horas. As colônias dos microrganismos que promoveram a hidrólise da tributirina, indicada pela formação de um halo transparente ao redor da colônia, foram considerados como produtoras de enzimas lipolíticas. Um teste de Tukey a 5% de probabilidade foi aplicado no programa Statistic 5.0 para diferenciar o tamanho dos halos formados. Os microrganismos selecionados como produtores de lipase que apresentaram os melhores resultados foram estudados com relação à sua atividade lipolítica no meio líquido. Para isso, foram estriados em placas de Petri e inoculados no meio de cultura composto de óleo de soja da marca Liza® ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ), NaCl ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ), extrato de levedura ( $3 \text{ g.L}^{-1}$ ), peptona ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ), Tween 80 ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ) e água destilada (1 L) para o teste da produção da enzima em cultivo submerso por 36h a 150 rpm na temperatura de  $37^\circ\text{C}$ . A atividade enzimática foi realizada pelo método titulométrico. Dos 17 isolados microbianos, 9 apresentaram halos com valores variando de 0,73 mm a 1,89 mm. Com relação ao cultivo submerso, pode-se observar que os microrganismos que apresentaram as maiores atividades foram o 3 ( $0.820 \pm 0.004 \text{ U/min.mg proteína}$ ), 11 ( $0.996 \pm 0.139 \text{ U/min.mg proteína}$ ) e 13 ( $1.46 \pm 0.195 \text{ U/min.mg proteína}$ ). A partir dos resultados, conclui-se que os microrganismos isolados de solo contaminado com óleo diesel apresentam potencial para produção de enzimas lipolíticas.

Palavras chave: Lipase, Tributirina, Microrganismos.