



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2015
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Produção de lipase de <i>Pseudozyma hubeiensis</i> e aplicação na biocatalise de biodiesel
<b>Autor</b>	SOLON ANDRADES DA ROSA
<b>Orientador</b>	MARILENE HENNING VAINSTEIN

## Produção de lipase de *Pseudozyma hubeiensis* e aplicação na biocatálise de biodiesel

Solon Andrades da Rosa

Orientador: Marilene Henning Vainstein Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Os biocombustíveis, como o biodiesel, são alternativas renováveis e sustentáveis tão eficientes quanto os análogos de origem fóssil, apresentando propriedades semelhantes e características superiores como a biodegradabilidade, ausência de impurezas tóxicas e aplicação de variadas matérias-primas na produção. Os mesmos fazem parte de programas governamentais de incentivo, visando sua substituição em relação ao petróleo e derivados, devido a sua crescente escassez e problemas ambientais. O biodiesel é obtido por reações de esterificação e transesterificação de óleos e gorduras com álcoois de cadeia curta, catalisadas por agentes químicos ou biológicos. A catálise enzimática apresenta vantagens em relação à química tradicional, uma vez que necessita de condições menos extremas, as enzimas podem ser recuperadas e reutilizadas e não necessitam de matérias-primas purificadas. Por sua vez, a lipase obtida da levedura *Pseudozyma hubeiensis*, se comparada a biocatalisadores de origem animal e microbiana disponíveis no mercado, apresenta a vantagem de poder ser produzida em grandes quantidades pelo microrganismo, sendo secretada pelas células, não necessitando de etapas de extração, e também demonstrando-se capaz de realizar a catálise sem etapas anteriores de purificação, reduzindo os custos do processo.

O objetivo do trabalho, portanto, foi aprimorar a produção do biocatalisador obtido da levedura *P. hubeiensis* aplicando-o na produção de biodiesel e aperfeiçoar os parâmetros reacionais.

A produção de lipase foi realizada por incubação da levedura em meio indutor, em plataforma rotatória, sob agitação de 200 rpm, a 28° C, por 48 horas e em biorreator de 5L a 200 rpm, 28 °C, 1 vvm de oxigenação, por 24 horas. O cultivo foi centrifugado a 14.000 rpm por 10 minutos, e o sobrenadante submetido a diferentes tempos de liofilização. A caracterização da enzima foi feita pela determinação da atividade por protocolo padrão (atividade lipolítica) para cada tratamento, e apresentou resultados variando de 6 a 87 U/mg de proteína. Análises por eletroforese em gel SDS-PAGE e quantificação de proteínas pelo método de Bradford revelaram a presença de 4 bandas que variaram de 97 a 20 kDa e concentrações de proteínas variando de 1 a 4 mg/mL, respectivamente. Um zimograma utilizando substrato fluorescente sob luz UV está em teste, para determinação da atividade lipolítica em gel. A identificação das proteínas está em andamento por espectrometria de massas, por comparação *in silico* utilizando o software Mascot, buscando sequências proteicas homólogas. Os parâmetros avaliados durante a catálise nas próximas etapas serão: relação enzima substrato, temperatura da reação, possibilidade de solvência, razão molar álcool:óleo, tempo reacional e agitação. A purificação dos produtos ocorrerá por decantação, para separação dos componentes, evaporação e posterior adsorção em via seca, utilizando magnésol, seguido de filtração por gravidade. A análise qualitativa será por cromatografia em camada delgada e a quantitativa por cromatografia gasosa. Até o momento a avaliação da relação enzima/substrato revelou a existência de ésteres etílicos de biodiesel, obtendo uma conversão máxima de 10% da matéria-prima utilizada (óleo de soja).

A enzima tem se mostrado capaz de realizar as reações necessárias ao processo e produziu uma catálise com um rendimento superior a enzima comercial (lipase from porcine pâncreas - Sigma – Aldrich) utilizada como controle. Ao fim dos estudos pretende-se obter um biocatalisador capaz de promover uma reação com rendimento máximo, de baixo custo, sendo uma alternativa eficaz ao processo químico e superior aos produtos similares.