

# IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS LIPOLÍTICAS ISOLADAS DE ÓLEOS VEGETAIS E DE COMPOSTAGEM UTILIZANDO SEQUENCIAMENTO DE DNA RIBOSSOMAL

Luisa Lautert Santos<sup>1</sup>, Débora Vom Endt<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bolsista Inicie, <sup>2</sup> Professora Orientadora

e-mail da orientadora: debora-endt@uergs.edu.br

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS)

## INTRODUÇÃO

Um dos mais proeminentes recursos energéticos alternativos é o biodiesel, produzido pela transesterificação de triglicerídeos e álcoois na presença de um catalisador. Lipases extracelulares e intracelulares são capazes de catalisar a reação de forma vantajosa. Isso justifica a busca por novos microrganismos produtores de lipases, a partir de amostras ambientais.

## OBJETIVO

- ✓ Verificar o potencial lipolítico das bactérias isoladas através do método quantitativo colorimétrico baseado na capacidade de hidrólise do p-nitrofenilpalmitato;
- ✓ Identificar os isolados bacterianos, utilizando a amplificação e sequenciamento do gene codificante de RNA ribossomal 16S.

## METODOLOGIA EXPERIMENTAL

### Isolamento dos microrganismos:

Em projeto anterior, foram isoladas 54 bactérias, das quais 26 apresentaram atividade lipolítica em Rodamina B.

Figura 1 – Teste em Rodamina B

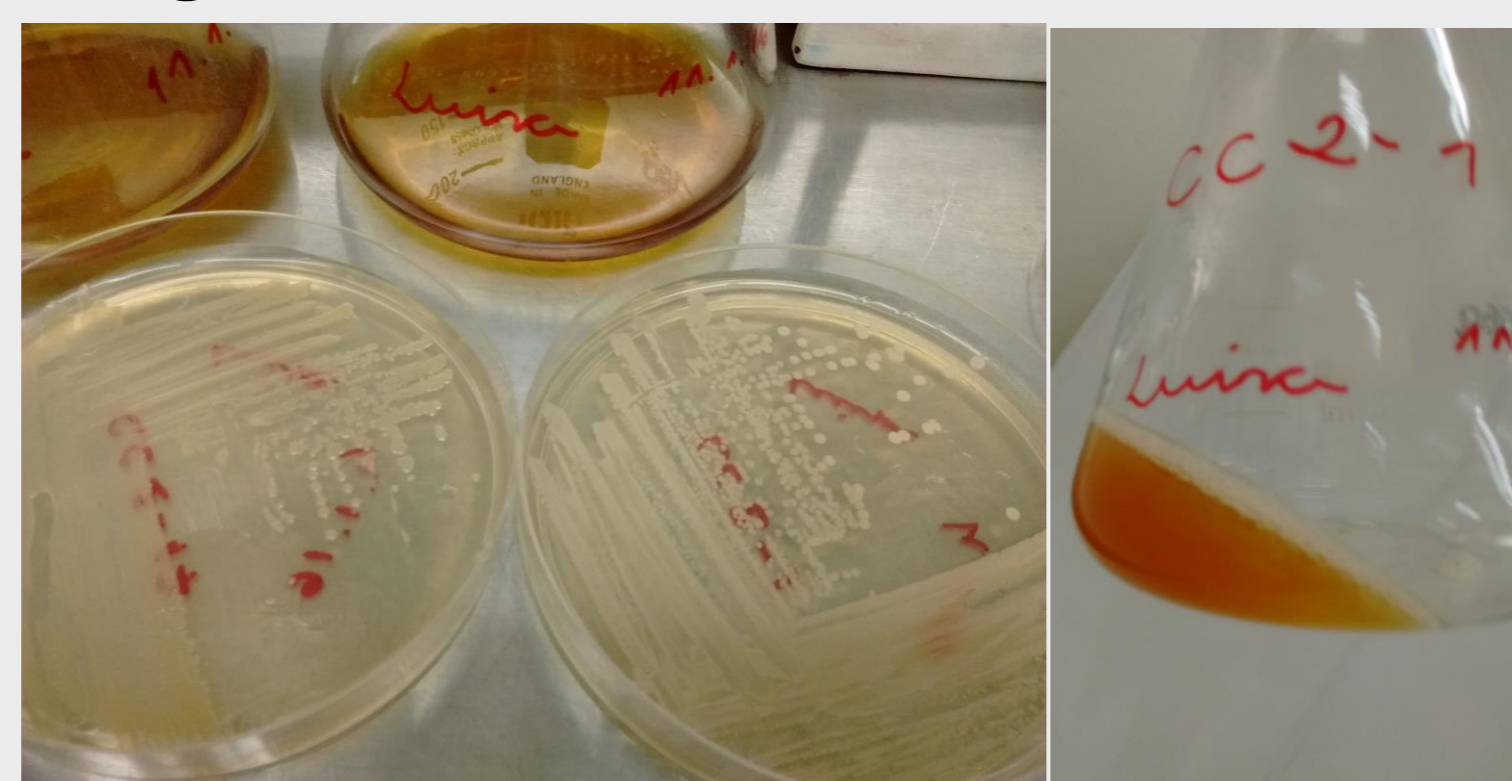


Fonte: SALVAGNI, A. e ZIMMERMANN, M. (2012)

### Condições de cultivo:

Os isolados desenvolveram-se nas condições de 28 °C de temperatura, com agitação de 120 rpm em meio de cultura Circle Grow e Ágar Nutriente, em aproximadamente 16h.

Figura 2 – Cultivo bacteriano



Fonte: Autoras (2015)

### Contagem das UFC:



### Quantificação da atividade lipolítica:

Foi realizado teste com substrato sintético p-nitrofenilpalmitato. As absorbâncias são transformadas em unidade de lipase por volume a partir da equação:

$$U_{LV} = \frac{Y \cdot F}{a \cdot T_{inc}}$$

Onde:

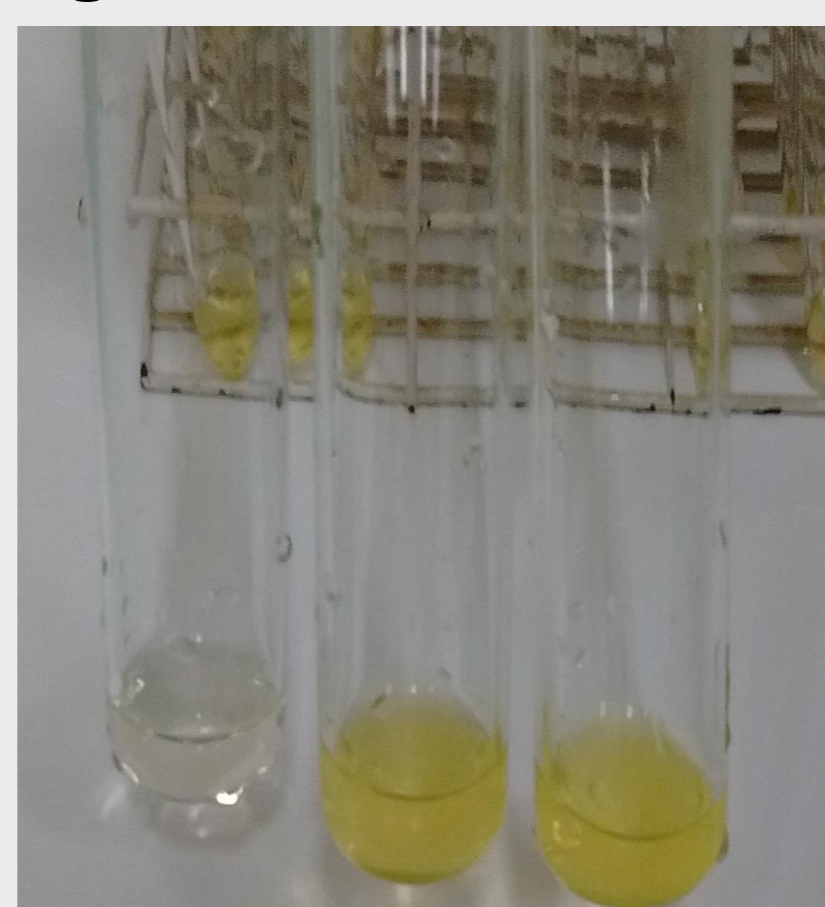
Y é a absorbância de cada amostra a 410 nm;

F é o fator de diluição;

a é o coeficiente angular da curva padrão;

Tinc é o tempo de incubação.

Figura 3 – P-nitrofenol

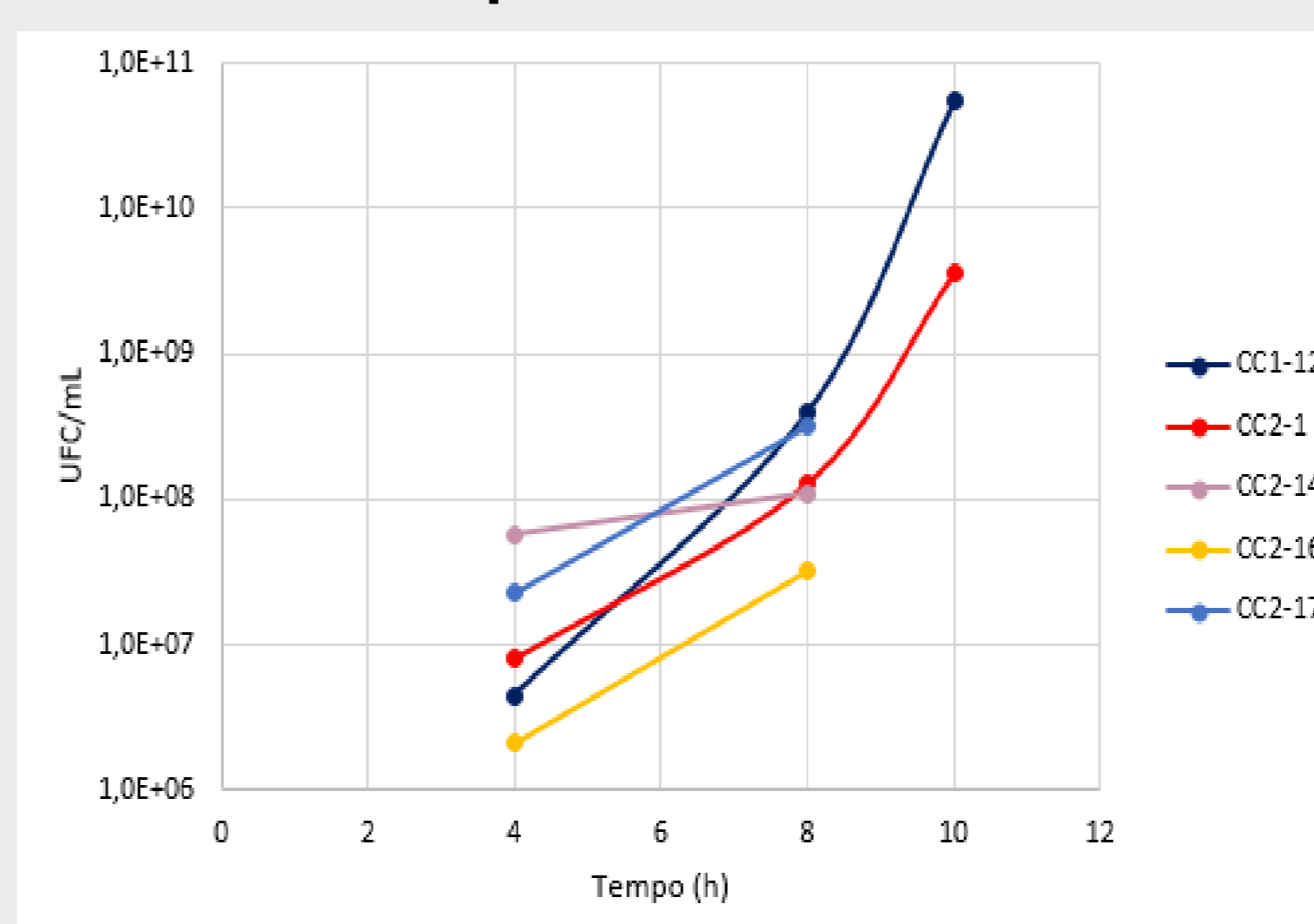


Fonte: Autoras (2015)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

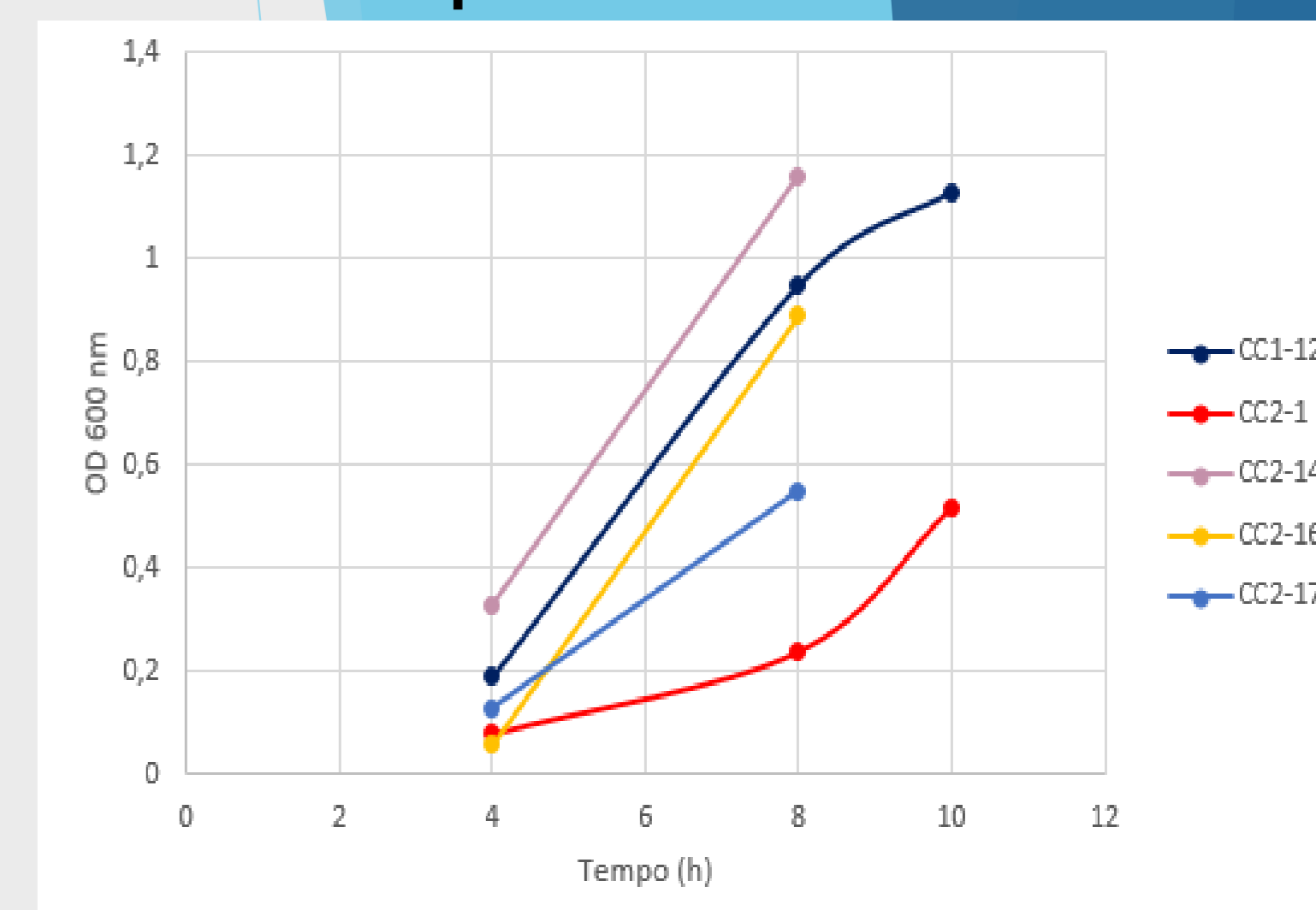
### Contagem das UFC:

Gráfico 1 - UFC/mL por tempo de crescimento



Fonte: Autoras (2015)

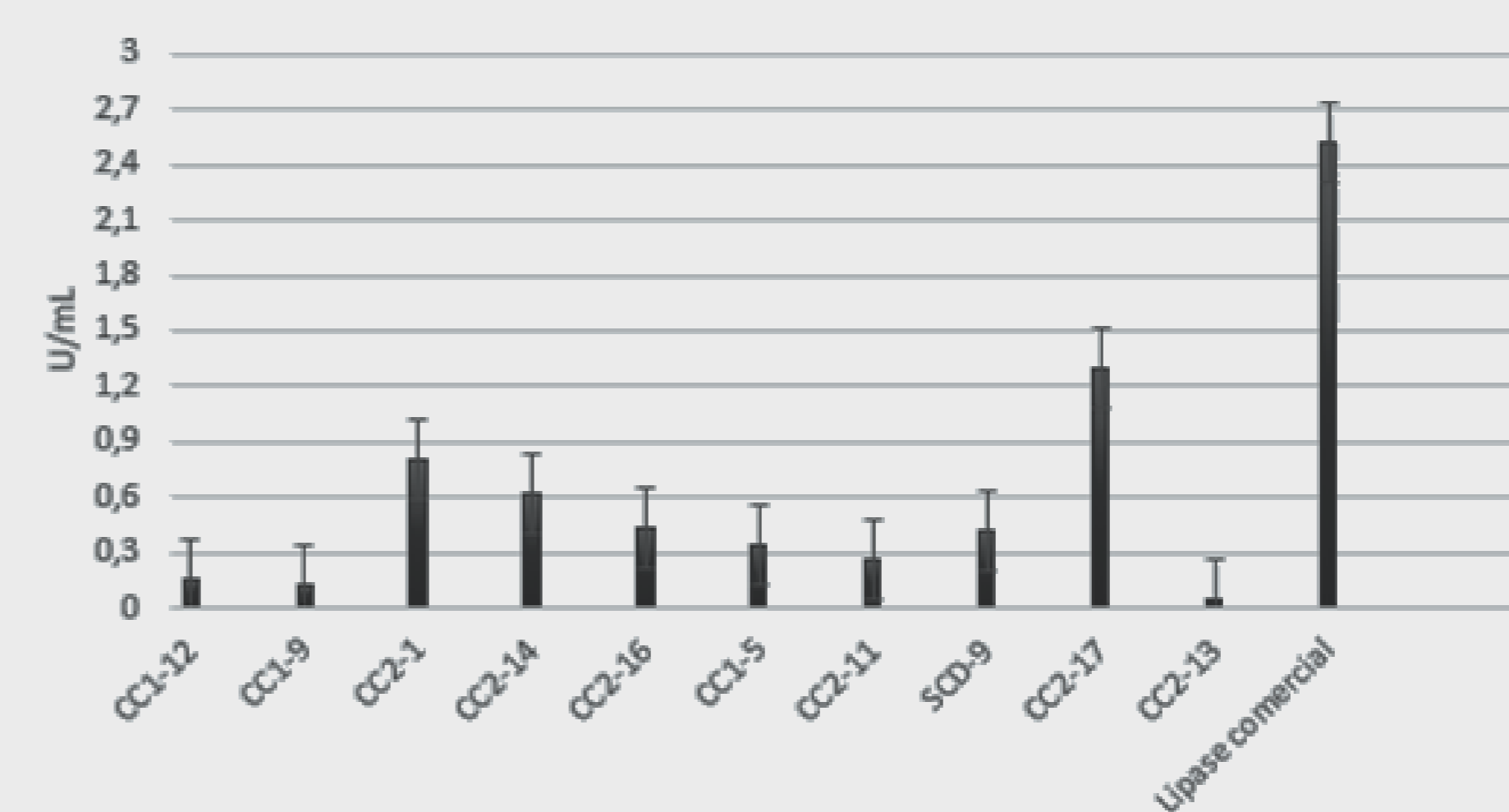
Gráfico 2 – OD 600 nm por tempo de crescimento



Fonte: Autoras (2015)

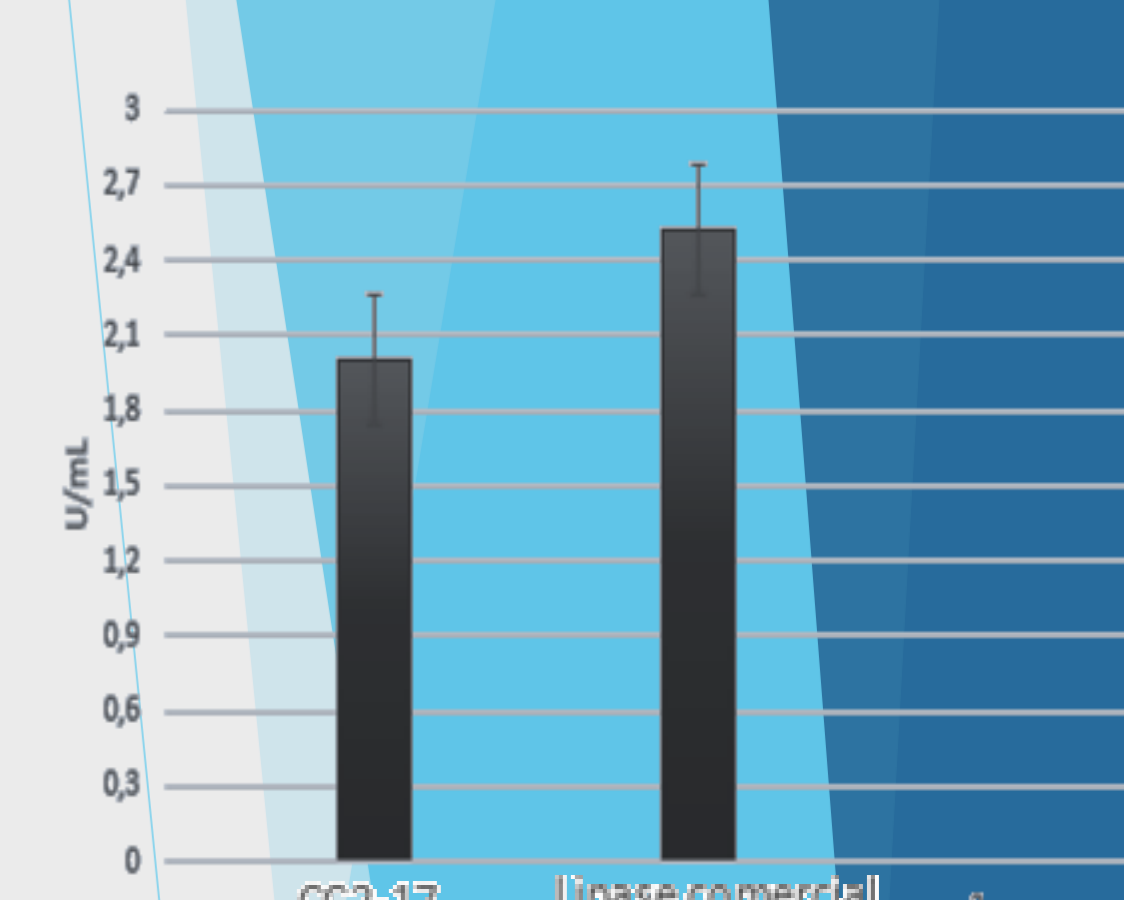
### Quantificação da atividade lipolítica:

Gráfico 3 - Atividade lipolítica de cada isolado



Fonte: Autoras (2015)

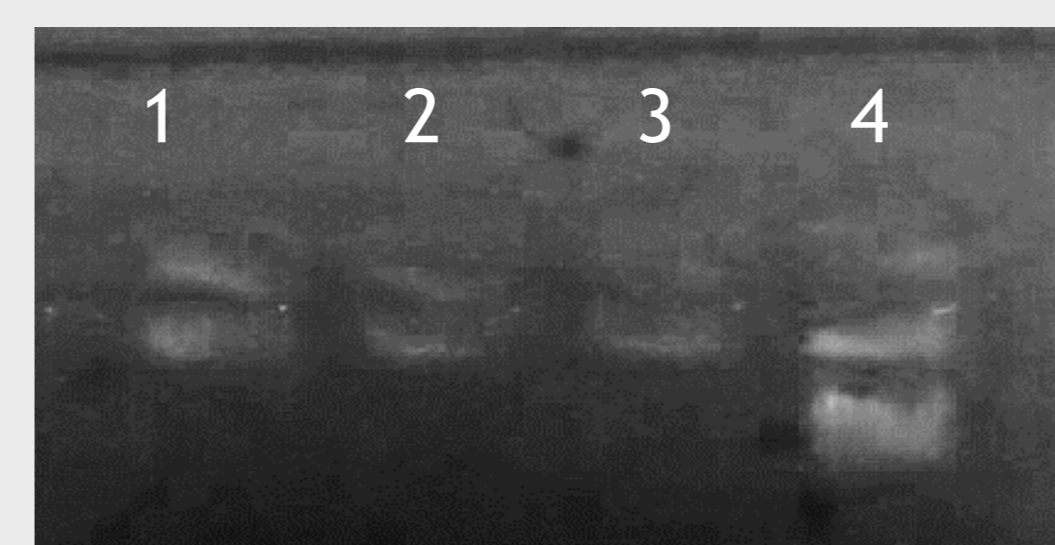
Gráfico 4 – Triplicata biológica do isolado CC2-17



Fonte: Autoras (2015)

### Extração de DNA genômico:

Figura 4 – Extração de DNA



Na ordem em que aparecem: CC2-1, CC1-5, SCD-9 e CC2-17. Fonte: Autoras, 2015.

A extração através do uso do kit comercial da marca Promega, mostrou banda de alto peso molecular no gel de agarose 0,8%, utilizando TBE 1X e 0,14 µL/mL de Brometo de etídeo (10 mg/mL). A tensão da fonte utilizada foi de 100V durante, aproximadamente, 20 min.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Entre os isolados que tiveram atividade enzimática quantificada, foi possível observar alta atividade de lipase no sobrenadante da cultura do isolado CC2-17.
- ✓ Foi possível extrair DNA genômico dos isolados escolhidos para a etapa de identificação utilizando kit comercial de extração, através do protocolo fornecido pelo fabricante. Observou-se bandas de alto peso molecular através de técnica de eletroforese horizontal, confirmando sucesso na extração.
- ✓ Testes para as melhores condições de amplificação estão sendo realizados para a amplificação do gene ribossomal 16S.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HAMA, S. et al. Lipase localization in rhizopus oryzae cells immobilized within biomass support particles for use as whole-cell biocatalysts in biodiesel-fuel production. Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 101, 2006. p. 328-333
- WOO, P.c.y. et al. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. Clinical Microbiology And Infection, [s.l.], v. 14, n. 10, p.908-934, out. 2008.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à UERGS pelo financiamento deste trabalho por meio de bolsa de iniciação científica.