

## Introdução

A produção de biodiesel é uma opção para a geração de tecnologias limpas, sendo que o principal subproduto gerado na síntese desse bicomcombustível é o glicerol. Uma alternativa para a utilização deste subproduto é a sua conversão em novos produtos, como as enzimas[1]. A maior fatia do mercado industrial de enzimas é ocupada pelas hidrolíticas e, dentro destas, as lipases têm grande destaque[2]. As lipases pertencem a um importante grupo de enzimas biotecnologicamente relevantes devido a sua atividade catalítica em meios aquosos e não -aquosos[3].

## Objetivo

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de lipases microbianas por *Staphylococcus warneri*, comparando o uso de glicerol comercial com glicerol residual, oriundo da síntese química de biodiesel.

## Materiais e Métodos

### Pré-inóculo

O pré-inóculo foi preparado em frascos erlenmeyers de 250 ml contendo 50 ml de meio de LB (tabela 1), e inoculados com uma alçada da cultura estoque. As células foram cultivadas em incubadora de agitação horizontal a 180 rpm, 37 °C ( 2) até crescerem atingindo densidade ótica (DO) de 1.

### Condições de Cultivo

Os cultivos foram realizados em frascos erlenmeyers de 250 ml em incubadora de agitação horizontal a 180 rpm, 37 °C ( 2) por 30h. O meio de cultivo previamente otimizado por (Volpato , 2008) está descrito na tabela 1. Os ensaios foram realizados em duplicata com ambos: glicerol residual e comercial. As amostras foram coletadas a cada 6 horas para determinação de biomassa e atividade lipolítica.

### Métodos analíticos

O sobrenadante do meio de cultura livre de células contendo o extrato enzimático bruto foi usado para determinação da atividade lipolítica. A atividade lipolítica foi determinada usando p-nitrofenil palmitato (pNPP) como substrato (WINKLER e STUCKMANN, 1979). O volume de 0,15 ml de extrato enzimático bruto foi misturado com 1,35 ml de solução de substrato e incubado por 15 min a 37 °C em banho maria. Um controle contendo a enzima termicamente inativada foi incubado junto as amostras. A mistura foi centrifugada a 14.000 g, 10 min, 10 °C, a absorbância foi medida a 410 nm. O coeficiente de extinção molar do p-nitrofenol foi  $13,23 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ .

A biomassa foi quantificada gravimetricamente por peso seco. As amostras foram centrifugadas, sendo as células lavadas duas vezes com água destilada gelada, e secas em estufa a 80 °C até atingirem peso constante.

A concentração de glicerol foi determinada por HPLC equipado com detector de índice de refração (Perkin Elmer Series 200, USA) e com uma coluna Phenomenex RHM Monosaccharide (300 x 7,8 mm), a 80 °C, usando água ultra pura como fase móvel, com um fluxo de 0,6 mL/min.

Tabela 1: composição do meio de cultivo e meio LB.

Reagentes	Concentração	
	Meio de cultivo (g/L)	Meio LB (g/L)
Glicerol	30	-
Óleo de oliva	6	-
Óleo de soja	5	-
Peptona bacteriológica	10	10
Extrato de levedura	5	5
Cloreto de sódio	-	5

## Resultados

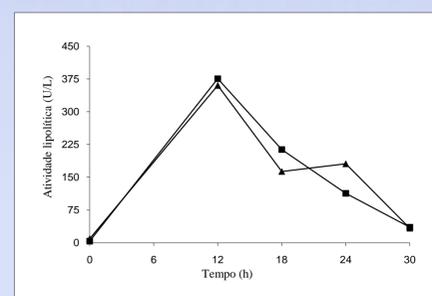


Figura 1. Perfil da produção de lipase por *Staphylococcus warneri*, usando glicerol comercial (■) e glicerol residual (▲).

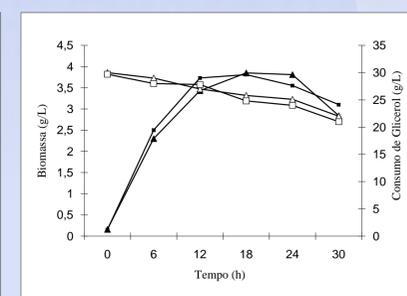


Figura 2. Perfil da produção de biomassa (símbolos fechados) e consumo de glicerol (símbolos abertos) por *Staphylococcus warneri*. Glicerol comercial (■, □) e glicerol residual (▲, △).

Os dados de produção de lipase são apresentados na Figura 1. A maior produção de enzima foi em 12h de cultivo, sendo que o meio de cultivo contendo glicerol residual produziu 360U/L, enquanto que o meio contendo glicerol comercial produziu 375U/L. Os dados de produção de biomassa e consumo de glicerol são apresentados na Figura 2. Nota-se que o perfil de produção de biomassa e consumo de glicerol foi semelhante para ambos tipos: comercial e residual. Com o aumento acelerado da produção de biodiesel. Estes resultados são importantes no ponto de vista econômico e ambiental, pois transformam um resíduo excedente, prejudicial ao meio ambiente num bioproduto de alto valor agregado.

## Conclusão

A partir dos resultados obtidos concluiu-se que o glicerol residual pode ser usado como substrato para a produção de lipase de *Staphylococcus warneri*, convertendo um subproduto abundante e barato num produto de alto valor no mercado.

## Referências Bibliográficas

- [1] - LEVINSON *et al.*, 2007; ITO *et al.*, 2005; PAPANIKOLAOU *et al.*, 2002
- [2] - BEREKAA *et al.*, 2009; GUPTA *et al.*, 2004
- [3] - HORSHANI *et al.*, 2009; KUMAR *et al.*, 2005 SHARMA *et al.*, 2001).
- [4] - YUN TENG *et al.*, 2007
- [5] - SARATH *et al.*, 1989

## Agradecimento

À FAPERGS pelo apoio financeiro