

LIPASES DE LÁTEX VEGETAIS: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES INDUSTRIAIS

Fernanda Wiermann Paques* e Gabriela Alves Macedo

Departamento de Ciências de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, CP 6121, 13083-970 Campinas-SP

Recebido em 13/10/04; aceito em 20/4/05; publicado na web em 10/8/05

PLANT LIPASES FROM LATEX: PROPERTIES AND INDUSTRIAL APPLICATIONS. Biocatalysts have innumerable advantages with respect to classical chemical processes, such as high specificity. Lipases (EC 3.1.1.3) are biocatalysts with large application in synthesis and hydrolysis reactions of triacylglycerols. The search for new sources of lipases has been intensified in the last years due to the high cost of microbial and animal lipases, which restricts their use on an industrial scale. Lipases obtained from the latex of *Carica papaya*, *Carica pentagona*, *Euphorbia characias*, *E. wulfenii*, known for their proteolytic properties, are a good alternative source. In this review, we describe the well-known sources of vegetal lipases extracted from the latex and present some of their industrial applications.

Keywords: vegetable enzymes; lipases; triacylglycerols.

INTRODUÇÃO

Biocatalisadores ou catalisadores biológicos são proteínas cuja principal função é catalisar reações nos organismos¹. Os biocatalisadores são utilizados em química orgânica como uma alternativa aos processos químicos clássicos por apresentarem inúmeras vantagens. Dentre estas destacam-se elevada velocidade de reação; utilização de condições brandas; compatibilidade com substratos sintéticos; em alguns casos podem catalisar as reações nos dois sentidos e podem, ainda, apresentar alguma seletividade quanto ao tipo de reação que catalisam¹⁻³.

As lipases (EC 3.1.1.3) são biocatalisadores responsáveis por catalisar reações de hidrólise de óleos em ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis e glicerol⁴. Um elevado número de compostos de alta e baixa massa molecular também pode ser substrato dessa enzima, tais como tioésteres, amidas, poli-hidroxiésteres/hidroxiácidos, etc.

Além da hidrólise, as lipases também são capazes de catalisar reações reversas, como esterificação, transesterificação (interesterificação, alcóolise e acidólise)⁵⁻⁹, aminólise (síntese de amidas)^{6,8,10} e lactonização^{2,6,10,11}, sendo que a atividade de água do meio reacional é um dos fatores determinantes para cada classe de reação^{4,10} (Figura 1).

Conforme a classificação das enzimas, as lipases são divididas da seguinte forma²:

1. Regiosseletivas - subdivididas em:
 - I. lipases não-específicas - hidrolisam ésteres de ácidos graxos primários ou secundários, liberando ácidos graxos na posição 1(3) ou 2;
 - II. lipases 1,3-específicas - hidrolisam apenas ésteres de ácidos graxos primários, isto é, na posição 1 ou 3 (Figura 2).

Mas existem alguns estudos na literatura sobre a lipase A de *Candida antarctica* que hidrolisa a posição 2⁷.
2. Tipo-seletivas com relação ao tamanho da cadeia carbônica e/ou ao número de insaturação do grupo acila.
3. Enantiosseletivas.

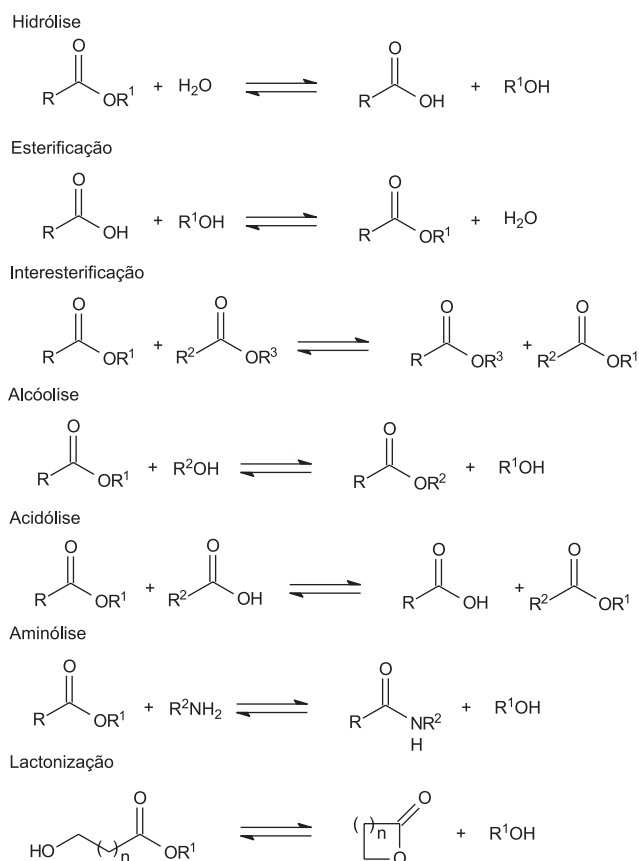


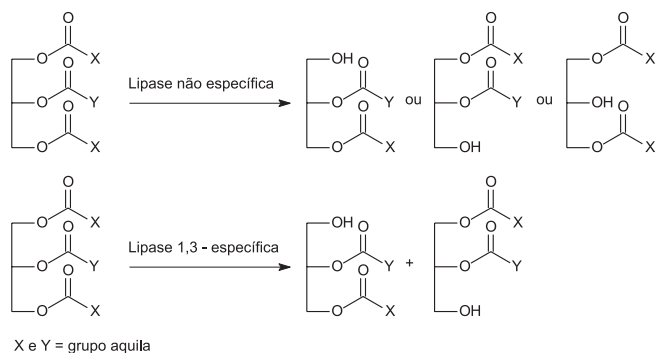
Figura 1. Reações catalisadas por lipases

As lipases podem ser de origem animal (pancreática, hepática e gástrica), microbiana (bactérias e fungos) e vegetal, com variação em suas propriedades catalíticas¹². Suas aplicações são inúmeras, sendo que normalmente em escala industrial são empregadas as lipases de origem microbiana¹³⁻²⁰ (Tabelas 1 e 2). Dentre os processos bioquímicos reportados na literatura, as lipases representam cerca de 35% dentre as enzimas empregadas^{2,21}. No entanto,

*e-mail: wiermann@fea.unicamp.br

Tabela 1. Exemplos de aplicações industriais de lipase^{4,13,14}

Área industrial	Aplicação	Produto
Alimentação	Hidrólise de gordura de leite Síntese de ésteres	Aromas para produtos matinais Aromas para alimentos e bebidas
Química	Hidrólise de óleos e gorduras Remoção de gorduras/manchas Síntese de ésteres	Ácidos graxos, diglicerídios, monoglicerídios Detergente para lavanderias ou uso doméstico Ésteres, emulsificantes
Alimentação/química/ farmacêutica	Transesterificação de óleos naturais	Óleos e gorduras (análogo de manteiga de cacau)
Cosméticos	Síntese de ésteres	Fragrância para perfumes
Médica	Ensaio de triglicerídios no sangue	Kits de diagnósticos

**Figura 2.** Reações catalisadas por lipases do tipo não específica e 1,3 específica

mesmo com uma vasta variedade de lipases microbianas, o uso dessas enzimas em escala industrial ainda é escasso, devido aos elevados custos de produção^{8,21}.

Com o objetivo de intensificar a utilização de lipases em escala piloto e industrial, estudos de fontes vegetais, como sementes²², látex²³, folhas e caule²⁴, têm crescido nos últimos anos²³. Dentre as lipases vegetais, as mais estudadas são as extraídas de cereais e óleos de sementes, localizadas em diferentes tecidos e normalmente ativadas durante a germinação¹². Mukherjee classificou-as da seguinte forma¹²:

- lipases verdadeiras ou lipases triacilglicerol (EC 3.1.1.3) - que catalisam a hidrólise de ligações ésteres de triacilgliceróis, principal constituinte de lipídios do tecido de estocagem presente nas sementes;
- acil-hidrolases não específicas - que apresentam uma combinação de fosfolipases A1 (EC 3.1.1.32), A2 (EC 3.1.1.4), B (EC 3.1.1.5), glicolipases, sulfolipases e que hidrolisam ácidos graxos esterificados em fosfoglicerídios e galactoglicerídios. Neste grupo estão também as monoacilglicerol lipases, que hidrolisam ácidos graxos esterificados em monoacilgliceróis;
- fosfolipase C (EC 3.1.4.3) e D (EC 3.1.4.4) - que hidrolisam ligações fosfodiéster entre glicerol e grupamento fosfato, em diferentes posições.

Em geral, as lipases extraídas de sementes são atrativas. No entanto apresentam algumas desvantagens, como complexidade no processo de extração e baixo rendimento, produção limitada ao período de germinação e baixa estabilidade da lipase recuperada^{2,12,25}, fazendo com que outras fontes vegetais sejam exploradas para serem aplicadas industrialmente. A Tabela 3 resume as espécies vegetais conhecidas por suas propriedades proteolíticas e que apresentaram atividade lipolítica em reações de hidrólise, sendo classificadas como lipases verdadeiras (EC 3.1.1.3)¹².

Essas lipases vegetais, além de possuírem elevada seletividade

Tabela 2. Fontes e origens de lipase comerciais^{2, 15-20}

Fonte biológica	Fornecedor
<i>Achromobacter</i> sp.	Meito Sangyo
<i>Aspergillus niger</i>	Aldrich, Amano, Biocatalysts, Fluka, Novozymes, Röhm
<i>Aspergillus</i> sp.	Novozymes
<i>Candida antarctica</i> A	Boehringer, Fluka, Novozymes
<i>Candida antarctica</i> B	Fluka, Novozymes, Boehringer
<i>Candida cylindracea</i>	Meito
<i>Candida rugosa</i>	Aldrich, Altus, Amano, Biocatalysts, Boehringer, Fluka, Meito Sangyo, Sigma, Roche
<i>Chromobacterium viscosum</i>	Asahi
<i>Geotrichum candidum</i>	Amano, Biocatalysts
<i>Mucor javanicus</i>	Amano
<i>Mucor miehei</i>	Amano, Boehringer, Biocatalysts, Fluka, Novozymes
<i>Penicillium roqueforti</i>	Amano, Biocatalysts, Fluka
<i>Pseudomonas</i> sp.	Amano, Boehringer, Fluka, Mitsubishi, Röhm, Sigma
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Biocatalysts, Boehringer, Fluka, Sigma
<i>Rhizopus oryzae</i>	Amano, Sigma
Germe de trigo	Fluka, Sigma
Pâncreas de suíno	Aldrich, Amano, Biocatalysts, Boehringer, Fluka, Röhm, Sigma

e especificidade (em alguns casos muito similares às microbianas), apresentam baixo custo de produção por não necessitarem de um alto grau de purificação e serem acessíveis (estão disponíveis no mercado como enzimas proteolíticas brutas)²⁶.

Esse trabalho tem como objetivo caracterizar as lipases vegetais presentes em látex e outras partes de plantas e que são conhecidas por suas propriedades proteolíticas, como uma forma alternativa de extração de lipases para aplicação em escala piloto e industrial.

OCORRÊNCIAS E APLICAÇÕES DE LIPASES NOS VEGETAIS (LÁTEX OU CAULE/FOLHAS)

Lipases da família Caricaceae

Lipases do látex de Carica papaya

Caracterização e aplicações em reação de hidrólise

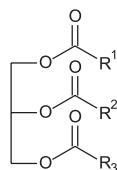
A atividade lipolítica no látex de *Carica papaya* foi observada

Tabela 3. Atividade de lipases de diversas plantas na hidrólise de tributirina (látex e caule/folha)

Família	Espécie	Atividade (UI/mL)	Refs.
Asclepiadaceae	<i>Araujia serilofera</i>	1375	26
	<i>Asclepias curassavica</i>	6000	26
	<i>Asclepias syriaca</i>	6000	26
Moraceae	<i>Ficus elastica</i>	0	26
	<i>Maclura pomifera</i>	0	26
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i>	0	26
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia characias*</i>	10295	27
	<i>E. wulfenii</i>	806	28
	<i>E. pinea</i>	334	28
Caricaceae	<i>Carica papaya*</i>	1590	27
	<i>Carica pentagona*</i>	1010	29
Bromeliaceae	<i>Ananas comosus*</i>	64	27

* Atividade determinada em UI/g de látex seco ou extrato enzimático seco.

em 1935 por Frey-Wyssling, conforme relatado por Giordani *et al.*²⁶, porém apenas a partir da década de 90 a lipase de papaína bruta passou a ser a mais estudada dentre as lipases vegetais²⁶. Esta enzima foi caracterizada em reação de hidrólise como tipo-seletiva para triacilgliceróis de cadeias curtas, com máxima atividade para a tributirina (1590 +/- 33 UI/g) entre triacilgliceróis homogêneos de 2 a 18 carbonos^{26,27} e óleos naturais (oliva, linhaça, copra e girassol – Figura 3)²⁷. A temperatura ótima da hidrólise foi de 55 °C (pH 8,0) e a energia de ativação de Arrhenius foi de 24 Kcal/mol²⁶. Essa elevada atividade e tipo-seletividade em hidrólise demonstraram o potencial dessa enzima vegetal em aplicações de transformação de óleos, síntese de aromas específicos e ácidos graxos.

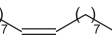


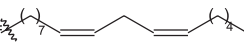
Tributirina $R^1 = R^2 = R^3 = -(CH_2)_2CH_3$

Tricaproína $R^1 = R^2 = R^3 = -(CH_2)_4CH_3$

Tricaprilina $R^1 = R^2 = R^3 = -(CH_2)_6CH_3$

Trilaurina $R^1 = R^2 = R^3 = -(CH_2)_{10}CH_3$
(predomina no óleo de copra)

Trioleína (*cis*-9) $R^1 = R^2 = R^3 =$ 
(predomina no óleo de oliva)

Trilinoleína (*cis*-9,12) $R^1 = R^2 = R^3 =$ 
(predomina no óleo de girassol)

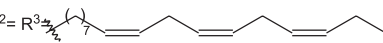
Tri-linolenina (*cis*-9,12,15) $R^1 = R^2 = R^3 =$ 
(predomina no óleo de linhaça)

Figura 3. Estruturas de triacilgliceróis utilizados em reações de hidrólise catalisada pela lipase do látex de *C. papaya*

Villeneuve *et al.*³⁰, em ensaios com triglicerídios quirais (1-butirol 2-esterol 3-palmitol *sin*-glicerol) e racêmicos (1(3)-butirol, 2-esterol, 3(1)-palmitol *rac*-glicerol), confirmaram outra seletividade da lipase em reação de hidrólise. Esta lipase foi caracterizada como 1,3-estereosseletiva, tendo preferência para a posição 3. Essa regioseletividade foi também verificada em reações de interesterificação^{23,31}.

Essa atividade lipolítica não foi detectada em enzimas comerciais purificadas e refinadas do tipo papaína, ω-papaína e

quimopapaína pois, durante a purificação, a lipase teria sido eliminada^{26,32}. Caro *et al.*³² verificaram também que a papaína purificada e refinada não apresentou atividade de transesterificação entre trilaurino e tricaprino, trilaurino e caprato de metila, e trilaurino e ácido caprílico. Sendo assim, o extrato bruto comercial mostrou ser a única fonte dessa lipase, garantindo vantagens em relação às lipases microbianas e animais, bem como um menor custo.

Nesses mesmos estudos, verificou-se que alguns compostos inibem a lipase do látex de *Carica papaya*, por ex., os reagentes lipofílicos, sulfidrílicos, dodecil ditio 5-(2-ácido nitrobenzóico), quelantes (EDTA) e o 5,5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico). A presença de íons Ca^{+} , ao contrário do observado para algumas lipases, não interferiu na atividade lipolítica, comprovando que essa enzima não depende da presença desse ativador²⁶.

A atividade de lipase demonstrou também ser dependente do cultivar de *Carica papaya*. Em estudo comparativo entre esta lipase disponível comercialmente na forma de papaína bruta e a lipase extraída de diferentes cultivares (Deshaies e Martinique-2) verificou-se alteração na atividade tanto em reação de hidrólise quanto de interesterificação entre triacilgliceróis, ácidos graxos e ésteres. A atividade máxima obtida foi para lipase disponível no mercado (1567 +/- 35 UI/g) e mínima para o cultivar Martinique-2 (145 +/- 17 UI/g)³².

A catálise por lipase do látex de *C. papaya* mostrou também ser dependente da atividade de água⁴. Estudos constataram que a atividade desta lipase em reações de esterificação e transesterificação está diretamente relacionada com o nível de hidratação da enzima, sendo o ponto ótimo de 0,22% de atividade de água. Para valores superiores, observou-se uma diminuição no rendimento e aumento da hidrólise^{33,34}.

Caracterização e aplicações em reação de síntese

A lipase do látex de *C. papaya* foi caracterizada como sendo uma enzima tipo-seletiva em reações de esterificação entre misturas equimolares de ácidos alifáticos ou álcoois. Verificou-se que a lipase apresentou maior atividade de esterificação sempre em meio reacional com uma mistura de ácidos carboxílicos de cadeia curta (C4-C12) e em mistura de álcoois primários também de cadeia curta (C4-C8)³⁵. Em contrapartida, foi inativa frente a uma mistura equimolar de álcoois insaturados de cadeia longa³⁶ (Tabela 4).

Essa enzima mostrou ter preferência por ácidos insaturados, *cis*-5 e *cis*-9, quando comparados com *cis*-4, *cis*-6 ou *cis*-8, em reações de esterificação com 1-butanol. Na esterificação com 1-butanol, a lipase também apresentou preferência por ácidos graxos com grupos epóxi, hidróxi e ciclopentanil ligados em sua estrutura

Tabela 4. Rendimentos (%) de ésteres alifáticos obtidos com a lipase do látex de *C. papaya*^{35,36}

Substrato	Rendimentos da esterificação na mistura(%)
1-hexanol + mistura equimolar de ácidos alifáticos C4:0-C12:0	92 ^a
1-hexanol + mistura equimolar de ácidos alifáticos C8:0, C14:0-C20:0	54 ^a
Ácido octanóico + mistura equimolar de álcoois primários C4-C10	75 ^a
Ácido octanóico + mistura equimolar de álcoois ramificados C4-C6, C12-C16	22 ^a
Ácido caprílico + mistura equimolar de álcoois C18:0, C18:1, C18:2, C18:3	0 ^b

^a 24 h a 63 °C³⁵, ^b 24 h a 63 °C³⁶.

e que são pouco comuns na natureza, quando comparados com o ácido oléico. Esses resultados apoiam os estudos realizados anteriormente com outras lipases de origens microbiana e vegetal (sementes)³⁷.

A lipase do látex de *C. papaya* também foi seletiva para álcoois aromáticos, em que a velocidade relativa de esterificação do álcool benzílico foi nove vezes maior que com o 1-octanol. Na reação com álcoois terpênicos, foi obtida maior atividade com β -citronelol em comparação a geraniol, nerol e terpineol³⁵.

Essa elevada seletividade em reação de esterificação garante à lipase do látex de *C. papaya* inúmeras aplicações industriais, tais como enriquecimento de ácidos graxos contendo *cis*-4, *cis*-6 e *cis*-8 insaturações a partir de misturas com outros ácidos através de resolução cinética³⁷; síntese de ésteres caprilatos a partir de álcoois primários de cadeia média³⁶ e síntese de aromas³⁵.

Quando comparada com lipases microbianas (lipase B de *Candida antarctica* e de *Rhizomucor miehei*) em reações de esterificação entre álcoois saturados de diferentes tamanhos e ácido caprílico, a lipase do látex de *C. papaya* apresentou maior seletividade quanto aos tamanhos das cadeias alquílicas, confirmando resultados anteriores³⁵. Para essa lipase os maiores rendimentos (85%) foram para os álcoois de cadeias curtas (< C8) e os menores (22%), para os de cadeias longas (> C10)³⁶, enquanto que para as lipases microbianas os rendimentos foram elevados (90-100%) para todos os álcoois (C4-16 e C18:1, C18:2, C18:3).

Em reações de interesterificação entre tributirina e diversos triacilgliceróis, a atividade de lipase do látex de *C. papaya* apresentou preferência para triacilgliceróis com ácidos graxos de cadeias médias, tendo máxima atividade com tricaproína (Figura 4), com rendimento de 70,4% na formação de novos triacilgliceróis (34,3% do composto 1 e 36,1% do composto 2) e mínima com trilinoleína com 20,1% (4,5% do composto 3 e 15,6% do composto 4). Além disso, na reação entre tributirina e triacilgliceróis mono- e poliinsaturados, esta lipase apresentou maior preferência por

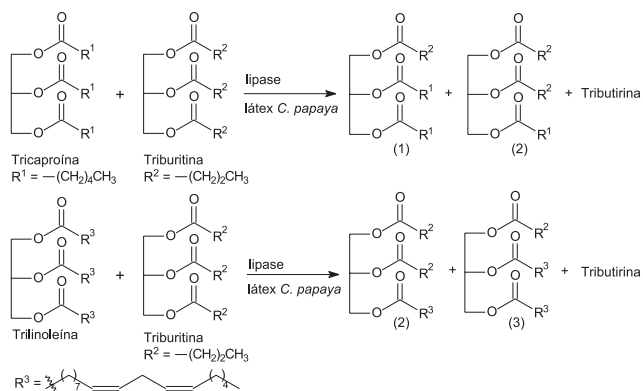


Figura 4. Reação de interesterificação entre tributirina e tricaproína e tributirina e trilinoleína catalisada por lipase do látex de *C. papaya*, após 24 h

triacilgliceróis monoinsaturados, obtendo-se maior atividade com a trioleína (34 mol% de novos triacilgliceróis) e menor com trilinoleico e tri α -linolênico (respectivamente 20 e 23 mol% de novos triacilgliceróis)²⁷.

Essa preferência da lipase do látex de *C. papaya* por doadores acil de cadeia média e longa foi confirmada em reações de interesterificação entre tripalmitina e éster etilícos, com tamanhos de cadeias variadas (C2:0-C14:0, C18:1). A atividade foi crescente com o aumento do tamanho da cadeia, obtendo-se máxima atividade com C14:0 (rendimento de 32% em 24 h). Todavia, nota-se que o rendimento obtido neste estudo foi inferior aos demais realizados com essa lipase, devido a doadores éster acilas serem menos reativos que ácidos graxos livres e vinil acilas³¹.

Os estudos da tipo-seletividade^{27,31} e regioseletividade^{23,31} em reações de transesterificação mostraram que é possível aplicar a lipase do látex de *C. papaya* em biotransformação de óleos e gorduras.

A nova possibilidade de biotransformação de triacilgliceróis para aumentar o valor nutricional e/ou reduzir o valor calórico impulsionou o uso de lipases 1,3 específicas para síntese dos mesmos. Dessa forma, preserva-se a posição 2 do glicerol, predominantemente rica em ácidos graxos essenciais na maioria dos óleos vegetais³ e de maior biodisponibilidade, por corresponder à posição mais facilmente absorvida pelo organismo, na forma de monoacilglicerol^{36,38}. Esses novos compostos formados são comumente denominados de triacilgliceróis estruturais e contêm, nas posições 1 e/ou 3, ácidos graxos residuais de cadeias curtas (<C10), que são facilmente metabolizados no organismo humano³⁹.

Em estudos de síntese desses triacilgliceróis estruturais por reação de interesterificação catalisada por lipases, obtém-se uma mistura contendo um grupo com duas cadeias curtas de ácidos graxos residuais e uma longa (CLC) e outro, com duas cadeias de ácidos graxos residuais longas e uma curta (CLL). A razão entre os dois triacilgliceróis (CLC/CLL) é o fator que determina as características físicas (ponto de fusão, ponto de ebulição) e calóricas desejáveis do novo produto e que define sua aplicação²³.

A lipase do látex de *C. papaya*, segundo Foglia e Villeneuve²³, pode ser utilizada em escala industrial para síntese de um similar ao SalatrimTM, triacilglicerol estrutural de baixa caloria obtido a partir de interesterificação de óleo de soja hydrogenado (12% C16 e 88% C18) e tributirina (Figura 5). O interessante nesses triacilgliceróis estruturais é o fato de conterem apenas 5 cal/g contra 9 cal/g encontradas nas gorduras naturais. A razão entre os dois triglicerídios formados em 24 h de reação foi de 3/2. Esta mesma razão foi obtida por processo químico permitindo a utilização da lipase do látex de *C. papaya* neste processo de síntese, sendo possível a reutilização em até oito vezes, com uma perda de atividade máxima de 50%.

Em sistema composto por óleo de soja hydrogenado (12% C16 e 88% C18) e triacetina (imiscível nesse óleo), a lipase do látex de *C. papaya* foi capaz de catalisar a reação de interesterificação na síntese de outro triacilglicerol de baixo valor calórico, na presença de sílica. Nesse sistema, utilizou-se sílica para impedir que a

triacetina se depositasse sobre a enzima, dificultando a catálise⁴⁰.

Mukherjee e Kiewitt⁴¹ verificaram que a atividade da lipase do látex de *C. papaya* foi similar à comercial (lipase de *Rhizomucor miehei*) na síntese de triacilglicerol estrutural similar ao existente no leite materno. Esse triacilglicerol é caracterizado por conter ácidos graxos do tipo C16:0 na posição 2 e C18 saturado ou insaturado nas posições 1 e 3. A reação estudada consistiu na catálise da acidólise entre tripalmitina com ácidos graxos de óleo de colza saponificado, com a seguinte composição: 9,8% de ácido palmítico, 2,7% de ácido esteárico, 58,7% de ácido oléico, 20,3% de linoleico, 6,7% de α -linolênico e 1,9% de araquídico, gondóico, be-hênico e erúico. O rendimento de formação de novos triacilgliceróis utilizando a lipase de *C. papaya* correspondeu a cerca da metade dos obtidos com a lipase microbiana (60% C16:0, 30% C18:1 e 10% C18:2).

Novamente na reação de acidólise, a lipase do látex de *C. papaya* foi testada na síntese de triacilgliceróis estruturais monoinsaturados (na posição 2) a partir de triacilgliceróis presentes na gordura de frangos com o ácido caprílico. A síntese ocorreu em 28% dos triacilgliceróis presentes nesta gordura, havendo a formação de duas porções com composições distintas, uma com 77,6% de novos triacilgliceróis e outra com 90,4%. Verificou-se que uma pequena porção de triacilgliceróis, de 23,8% para 34,5%, sofreu acidólise na posição 2, assim como também ocorreu com outras lipases microbianas 1,3 específicas (por ex., *Rhizomucor miehei*)³⁸.

Lipase do látex de *Carica pentagona*

Dhuique-Mayer *et al.*²⁹ foram os pioneiros a estudarem as propriedades biocatalíticas do látex obtido do fruto babaco (*Carica pentagona*), também conhecido como fruto "champagne". Esse fruto, típico das montanhas andinas do Equador, originou-se das espécies *Carica stipulada* e *Carica pubescens*²⁹. O látex de *Carica pentagona*, extraído da mesma forma que o de *C. papaya*, além de boa atividade proteolítica, demonstrou ter elevada atividade lipolítica.

Na reação de hidrólise da tributirina, a atividade da lipase do látex de *Carica pentagona* (1010 UI/g) foi similar à do látex de *C. papaya* (900 a 1570 UI/g)²⁹ nas condições ótimas (pH 8,0, 50 °C) pré-determinadas^{26,27}. Na reação de interesterificação entre trilaurina e tricaprina, a atividade catalítica da lipase de *Carica pentagona* foi cerca de duas vezes maior que a da lipase do látex de *C. papaya* (770 e 280-340 UI/g, respectivamente)²⁹.

Até no momento não foram realizados novos estudos com essa enzima com relação a sua caracterização, seletividade e aplicação.

Lipase da família Bromeliaceae

Lipase do caule e folha de *Ananas comosus*

A bromelina, assim como a papaína, é uma enzima muito utilizada industrialmente como fonte de protease sulfidrílica em indústrias farmacêuticas, amaciamento de carne, clarificação de cerveja, preparação de alimentos infantis e dietéticos, além de indústrias têxteis e no tratamento de distúrbios digestivos⁴². Entretanto, o extrato enzimático de *Ananas comosus* não é obtido na forma de látex, como o de *Carica papaya*. Comercialmente este extrato provém do caule e das folhas da espécie *Ananas comosus*²⁴.

Após a constatação da presença de atividade lipolítica no extrato de *Ananas comosus* em estudo realizado por Giordani *et al.*²⁶, novas investigações foram realizadas a fim de caracterizá-la em diferentes meios reacionais⁴³.

Caracterização e aplicações em reação de hidrólise

Caro *et al.*²⁷ verificaram que a lipase da bromelina bruta, nome comercial dado ao extrato enzimático de *Ananas comosus*, é uma enzima com baixa capacidade de catalisar reação de hidrólise de triacilgliceróis, quando comparada a outras de origem vegetal, como a do látex de *C. papaya*. Em estudo comparativo, a atividade da lipase de bromelina bruta foi 24 vezes menor que a do látex de *C. papaya* e 161 vezes menor que *Euphorbia characias*²⁷. A temperatura ótima da lipase do extrato bruto de *Ananas comosus* na hidrólise de tributirina em pH 8,0 foi 55 °C, sendo rapidamente desnaturada a 60 °C por 10 min⁴³, e a energia de ativação de Arrhenius foi de 5 kcal/mol²⁶. Foi evidenciado que a lipase do extrato bruto de *Ananas comosus* apresentou um baixo potencial para aplicações em reações de hidrólise, não sendo aconselhável sua utilização em larga escala²⁶.

Caracterização e aplicações em reação de síntese

Estudos similares aos realizados com a lipase de látex vegetal permitiram identificar a especificidade da lipase de bromelina bruta. Mukherjee *et al.*⁴⁴ estudaram a reação de esterificação de diferentes ácidos graxos insaturados (C18:1, C18:3) com 1-butanol e verificaram que a lipase de bromelina bruta possui uma especificidade muito similar à do látex de *C. papaya*. Essa lipase também demonstrou ter baixa preferência por ácidos graxos de qualquer natureza que possuam a ligação dupla com geometria *cis*-4, *cis*-6 ou *cis*-8 e alta preferência por *cis*-5 e *cis*-9⁴⁴.

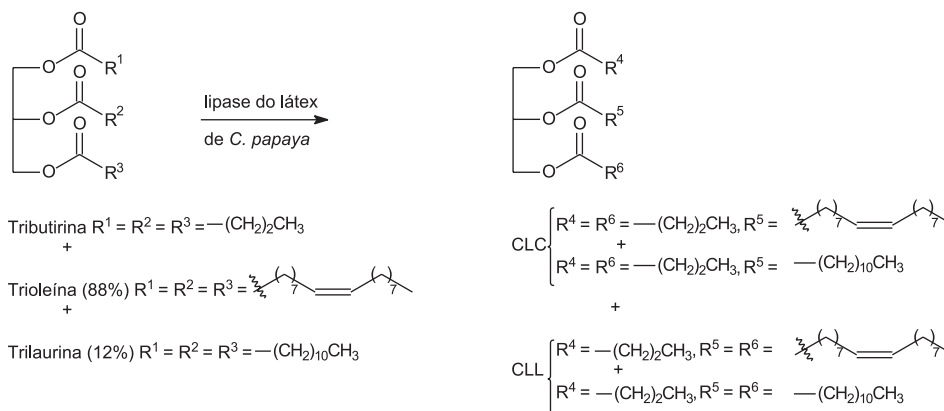


Figura 5. Reação de síntese do similar ao Salatrim^{16,23}

Em estudo com o mesmo meio reacional usado para lipase do látex de *C. papaya*²³, contendo ácidos graxos com grupos hidróxi, epóxi e ciclopentil em sua estrutura com o 1-butanol, a lipase de bromelina bruta apresentou um maior nível de esterificação com estes ácidos pouco comuns na natureza quando comparados com os de cadeia linear, como o ácido mirístico (C14:0)⁴⁴.

Em reações de interesterificação, a lipase de bromelina bruta não apresentou atividade mesmo com baixos níveis de hidratação^{29,34,43}.

Lipase da família de Moraceae

A ficina, extrato enzimático com alta concentração de proteases sulfidrílicas, foi encontrada em diversas espécies da família Moraceae, e entre elas estão o *Ficus elastica*, *Ficus carica*, *Ficus glabrata* e *Ficus anthelmintica*⁴⁵.

Pouco foi pesquisado sobre a possibilidade de existência de lipase no extrato enzimático da ficina bruta. Giordani *et al.*²⁶, em 1991, já haviam verificado que a lipase do látex bruto não possui atividade catalítica na hidrólise de triacilglicerol (tributirina), com extrato de *Ficus elastica*. Em outra variedade, o *F. carica*, Mukherjee e Kiewitt⁴⁴ também observaram que a lipase deste látex não apresentou atividade de catálise em reação de esterificação entre uma mistura de ácidos graxos saturados e insaturados (C18:1, C18:2, C18:3, C14:0) e 1-butanol.

Lipase da família Euphorbiaceae

Lipase do látex de Euphorbia characias

Diversos estudos comprovaram que o látex extraído da família Euphorbiaceae é rico em diversas proteases do tipo tripsina⁴⁵. Essa família, composta por inúmeras espécies, é encontrada principalmente na Itália²⁸.

Caracterização e aplicações em reação de hidrólise

Giordani *et al.*²⁶ descobriram o potencial lipolítico do látex da espécie *E. characias*. Nesse estudo, a atividade da lipase do látex de *E. characia* foi 6 vezes maior que a da *C. papaya* na hidrólise de tributirina. A temperatura ótima obtida em hidrólise em pH 8,0 foi 45 °C e a energia de ativação de Arrhenius de 11 Kcal/mol²⁷.

A lipase de *E. characias* apresentou maior atividade por triacilgliceróis homogêneos de cadeias mais curtas, sendo máxima para a tributirina (3500 UI/mL). O aumento da cadeia dos ácidos provocou uma drástica redução na atividade catalítica. Resultado similar foi observado com a lipase do látex de *C. papaya* (atividade mínima com trioleína: 44 UI/mL)²⁷.

Recentemente, Palocci *et al.*²⁸ em estudo de purificação do látex da planta de *E. characias* observaram a presença não apenas de uma lipase isolada, mas isoenzimas lipolíticas, com diferentes afinidades. Foi verificado que no extrato bruto a lipase apresentava maior atividade por ácidos graxos residuais de cadeias médias (máxima com tricapriline 1336+/-10 UI), e após purificação tornou-se maior para ácidos graxos residuais de cadeias longas (máxima com o óleo de girassol, rico em trilinoleína 735+/-3 UI). Essas isoenzimas estão presentes no látex em concentrações variadas conforme o estágio de crescimento da planta e apresentam atividade máxima no término do período de reprodução e início do vegetativo²⁸.

Assim como a lipase do látex de *C. papaya*, a de *E. characias* também possui um vasto potencial de aplicações industriais em reações de hidrólise, tais como transformação de óleos e síntese de aromas. No entanto, outros estudos sobre reações de esterificação e interesterificação não foram realizados com esse látex.

Lipase do látex de E. wulfenii

A espécie *E. wulfenii*, característica do norte da Itália, foi recentemente descoberta por Palocci *et al.*²⁸ como outra fonte de lipase. No estudo realizado juntamente com a lipase do látex da espécie *E. characias*, constatou-se que esse extrato também contém isoenzimas com diferentes especificidades em reações de hidrólise e com concentrações variadas, conforme o período biológico da planta. Entretanto, nas mesmas condições a atividade na hidrólise foi menor que a espécie *E. characias* tanto no extrato bruto (máxima: 1007 +/- 10 UI para tricapriline) quanto no purificado (máxima: 250 +/- 2 UI para óleo de girassol).

CONCLUSÃO

O uso de lipases em biotransformação de óleos e gorduras tem muitas vantagens sobre a catálise química. Dentre estas destacam-se a síntese seletiva de novos triacilgliceróis com propriedades calóricas desejáveis e facilmente metabolizáveis no organismo; hidrólise de óleos para síntese de ésteres, glicerol e ácidos graxos de grande valor industrial; enriquecimento de ácidos graxos contendo *cis*-4, *cis*-6 e *cis*-8 insaturações a partir de misturas com outros ácidos através de resolução cinética e, síntese de ésteres caprilatos a partir de álcoois primários de cadeia média e síntese de aromas.

No entanto, as aplicações industriais utilizam predominantemente as lipases de origem microbianas, tornando o processo mais caro (produção e purificação das enzimas). As lipases de origem vegetal, por serem obtidas por processo de extração e normalmente aplicadas na forma bruta, tornam-se menos caras que as microbianas. Além disso, possuem aplicações semelhantes às microbianas, tendo rendimentos similares e sendo em algumas situações mais específicas ao substrato.

REFERÊNCIAS

- Campbell, M. K.; *Bioquímica*, 3ª ed., Artmed Ed. Ltda: Porto Alegre, 2000.
- Faber, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry*, 4ª ed., Springer – Verlag: New York, 2000.
- Muderhwa, J.; Pina, M.; Graille, J.; *J. Oléagineux* **1988**, *43*, 385.
- Villeneuve, P.; Muderhwa, J. M.; Graille, J.; Hass, M. J.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2000**, *9*, 113.
- Gandhi, N. N.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1997**, *74*, 621.
- Conti, R.; Rodrigues, J. A. R.; Moran, P. J. S.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 672.
- Zinni, M. A.; Aljinovic, E. M.; Iglesias, L. E.; Iribarren, A. M.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 496.
- Castro, H. F.; Mendes, A. A.; Santos, J. C.; Aguiar, C. L.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 146.
- Carvalho, P. O.; Campos, P. R. B.; Noffs, M. D'A.; Oliveira, J. G.; Shimizu, M. T.; Silva, D. M.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 75.
- Koblitz, M. G. B.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2003.
- Antczak, U.; Gora, J.; Antczak, T.; Galas, E.; *Enzyme Microb. Technol.* **1991**, *13*, 589.
- Mukherjee, K. D.; Hills, M. J. Em *Lipases – their structure, biochemistry and application*; Wooley, P.; Petersen, S. B., eds.; Cambridge University Press, 1994, cap. 3.
- Macedo, G. A.; Pastore, G. M.; *Braz. J. Food Technol.* **1997**, *17*, 115.
- Macedo, G. A.; Pastore, G. M.; Rodrigues, M. I.; *Process Biochem.* **2004**, *39*, 687.
- Negishi, S.; Shirasawa, S.; Arai, Y.; Suzuki, J.; Mukataka, S.; *Enzyme Microb. Technol.* **2003**, *32*, 66.
- Huang, S.-H.; Tsai, S.-W.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, *28*, 65.
- Soumanou, M. M.; Bornscheuer, U. T.; *Enzyme Microb. Technol.* **2003**, *33*, 97.
- Han, S.-J.; Back, J. H.; Yoon, M. Y.; Shin, P. K.; Cheong, C. S.; Sung, M.-H.; Hong, S.-P.; Chung, I. Y.; Han, Y. S.; *Biochimie* **2003**, *85*, 501.
- Maria, P. D.; Martinez-Alzamora, F.; Moreno, S. P.; Valero, F.; Rua, M. L.; Sánchez-Montero, J. M.; Simistera, J. V.; Alcántara, A. R.; *Enzyme Microb. Technol.* **2002**, *31*, 283.

20. Kontkanen, H.; Tenkanen, M.; Fagerström, R.; Reinikainen, T.; *J. Biotechnol.* **2004**, *108*, 51.
21. Oliveira, P. C.; Alves, G. M.; Castro, H. F.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 632.
22. Mukherjee, K. D.; *Prog. Lipid Res.* **1994**, *33*, 165.
23. Foglia, T. A.; Villeneuve, P.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1997**, *74*, 1447.
24. Boller, T. Em *Plant Proteolytic Enzymes*; Dalling, M. J., ed.; Boca Raton-Flórida: CRC Press Inc., 1986, vol. 1, cap. 4.
25. Villeneuve, P.; *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2003**, *105*, 308.
26. Giordani, R.; Moulina, A.; Verger, R.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1069.
27. Caro, Y.; Villeneuve, P.; Pina, M.; Reynes, M.; Graille, J.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *77*, 349.
28. Palocci, C.; Soro, S.; Cernia, E.; Fiorillo, F.; Belsito, C. M. A.; Monacelli, B.; Monache, G. D.; Pasqua, G.; *Plant Sci.* **2003**, *165*, 577.
29. Dhuique-Mayer, C.; Caro, Y.; Pina, M.; Ruales, J.; Domier, M.; Graille, J.; *Biotechnol. Lett.* **2001**, *23*, 1021.
30. Villeneuve, P.; Pina, M.; Monet, D.; Graille, J.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 753.
31. Gandhi, N. N.; Mukherjee, K. D.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2001**, *11*, 271.
32. Caro, Y.; Villeneuve, P.; Pina, M.; Reynes, M.; Graille, J.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *77*, 891.
33. Villeneuve, P.; Skarbek, P. A.; Pina, M.; Graille, J.; Foglia, T. A.; *Biotechnol. Tech.* **1997**, *11*, 637.
34. Caro, Y.; Pina, M.; Turon, F.; Guilbert, S.; Mougeot, E.; Fetsch, D. V.; Attwool, P.; Graille, J.; *J. Biotechnol. Bioeng.* **2002**, *77*, 693.
35. Gandhi, N. N.; Mukherjee, K. D.; *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 566.
36. Gandhi, N. N.; Mukherjee, K. D.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, *78*, 161.
37. Murkhejee, K. D.; Kiewitt, I.; *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1948.
38. Lee, K.-T.; Foglia, T. A.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *77*, 1027.
39. Xu, X.; *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2000**, *105*, 287.
40. Mangos, T. J.; Jones, K. C.; Foglia, T. A.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1999**, *76*, 1127.
41. Murkhejee, K. D.; Kiewitt, I.; *Biotechnol. Lett.* **1998**, *20*, 613.
42. César, A. C.; Silva, R.; Lucarini, A. C.; *Rev. Inic. Cient.-Univ. de São Paulo/ Esc. Eng. de São Carlos* **2000**, *1*, 47.
43. Caro, Y.; Dhuique-Mayer, C.; Turon, F.; Pina, M.; Reynes, M.; Graille, J.; *Biotechnol. Lett.* **2001**, *23*, 2035.
44. Mukherjee, K.; Kiewitt, I.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 2427.
45. Lynn, K. R.; Clevette-Radford, N. A.; *Phytochemistry* **1986**, *25*, 1559.