

**JUNIOR, Nelson Libardi**

## **ESTUDO DE LACASES FÚNGICAS PARA DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS INTERFERENTES ENDÓCRINOS**

**Defesa:**

30 de julho de 2010

**Membros da Banca Examinadora:**

Profa. Dra. Sandra Aparecida Furlan (orientadora)

Profa. Dra. Regina Maria Miranda Gern (coorientadora)

Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon (membro externo)

Profa. Dra. Elisabeth Wisbeck (membro interno)

**Resumo:**

Este trabalho teve como objetivos estudar a produção da enzima lacase proveniente dos fungos *Pleurotus ostreatus* DSM 1833 e *Phoma* sp. UHH 5-1-03, bem como a posterior purificação, caracterização e utilização na avaliação de sua capacidade de degradação de compostos interferentes endócrinos. Inicialmente foram testados meios de cultivo, compostos por água ou meio Kirk ou Czapeck-Dox adicionados de materiais lignocelulósicos como papel filtro, raspas de madeira ou cascas de banana. Os caldos brutos produzidos a partir dos meios selecionados foram concentrados em 10 vezes e utilizados em ensaios de estabilidade com o pH e com a temperatura, além da determinação do pH ótimo. Utilizando-se o caldo concentrado também foi determinada a constante cinética de Michaelis-Menten para os substratos ABTS, 2,6-dimetoxifenol, siringaldazina, guaiacol, e os corantes Acid blue 62 e Remazol Brilliant Blue R. Parte dos caldos concentrados foi utilizada para a determinação da massa molar das lacases através de cromatografia de exclusão molecular e eletroforese em condições desnaturantes e não-desnaturantes. Foram realizados testes de avaliação da capacidade de degradação dos compostos interferentes endócrinos t-nonilfenol, bisfenol-A e 17-etinilestradiol pela lacase de *Pleurotus ostreatus* e *Phoma* sp. Os compostos foram preparados numa concentração de 250  $\mu$ M e incubados em frascos âmbar, na presença do caldo concentrado do cultivo de cada espécie, à temperatura ambiente e sob agitação recíproca de 160 min, sendo suas concentrações monitoradas num período de 3 dias. As formulações de substratos selecionadas para a produção de lacase tomaram por base o meio Kirk para *Pleurotus ostreatus* e Czapeck-Dox para *Phoma* sp., adicionados de cascas de banana, levando à produção de lacase de  $1575 \pm 93$  U L<sup>-1</sup> e  $1699,39 \pm 36$  U L<sup>-1</sup>, respectivamente. Em relação aos testes de estabilidade, a lacase oriunda de *Phoma* sp. apresentou maior estabilidade com o tempo em pH 4,0 e 4°C e a lacase oriunda de *Pleurotus* em pH 6,0 e 4°C. O pH ótimo encontrado para a lacase de *Phoma* sp. foi de 2,5 utilizando-se ABTS como substrato da reação e de 4,5 para *Pleurotus ostreatus*, com o mesmo substrato. As lacases provenientes de *Phoma* sp. e *Pleurotus ostreatus* tiveram, ambas, maior afinidade pela siringaldazina, apresentando os valores de  $K_m$  de 15 $\mu$ M e de 34 $\mu$ M, respectivamente. Com base na massa molar, o caldo de cultivo com cascas de banana induziu a produção de duas isoformas de lacase de *Pleurotus ostreatus* (58,7 e 21 kDa) e uma de *Phoma* sp. (72 kDa). Nos testes de degradação dos compostos interferentes endócrinos foi possível observar que no primeiro dia de incubação, a concentração de bisfenol-A e 17 $\alpha$ -etinilestradiol foi reduzida a valores muito próximos de zero e, após 3 dias, a concentração de t-nonilfenol foi reduzida em 90% pelo caldo concentrado contendo lacase de *Pleurotus ostreatus*, sendo que não houve redução na sua concentração pelo caldo concentrado contendo lacase de *Phoma* sp.

**Palavras-chave:** enzimas, fungos, resíduos agroindustriais, degradação de compostos.