

MELO, Mahara Pereira de

**USO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS OXIDATIVAS
POR ROTA BIOTECNOLÓGICA**

Defesa:

27 de março de 2015

Membros da Banca Examinadora:

Profa. Dra. Sandra Aparecida Furlan (orientadora)

Profa. Dra. Mariane Bonatti Chaves (coorientadora)

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

Profa. Dra. Andréa Lima dos Santos Schneider (membro Interno)

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos estudar a produção de lacase, manganês peroxidase e lignina peroxidase, provenientes do cultivo submerso de *Pleurotus sajor-caju*, sua caracterização e utilização na capacidade de degradação do composto interferente endócrino Bisfenol-A. Inicialmente foram realizados ensaios em Erlenmeyer a fim de determinar o melhor meio de cultivo para produção das enzimas, sendo os meios testados Solução Manachini, Solução Manachini Modificada e OXI. O meio de cultivo que propiciou os maiores valores de produção enzimática foi o meio OXI, com atividade de lacase de 2.416, 5 U L⁻¹ e de manganês peroxidase de 7,62 U L⁻¹, meio o qual foi o escolhido para os ensaios em biorreator, em duas condições de cultivo (pH livre e pH controlado em 5,5). A enzima lacase que apresentou os maiores valores de atividade foi a escolhida para os ensaios de caracterização (pH e temperatura ótimos, estabilidade com pH, temperatura e tempo de estocagem, determinação dos parâmetros cinéticos *K_m* e *V_{máx}*) e de capacidade de degradação do Bisfenol-A. Os experimentos em frascos agitados, utilizando-se meio de cultivo OXI, propiciaram atividade de lacase e manganês peroxidase 22 e 4 vezes, respectivamente, superiores aos obtidos utilizando-se os meios Solução Manachini e Manachini Modificada. A enzima lignina peroxidase, independentemente do meio de cultivo utilizado, não apresentou atividade. Os experimentos em biorreator apresentaram atividades de lacase (210,3 e 205,8 U L⁻¹ para os experimentos conduzidos em pH livre e controlado em 5,5, respectivamente) inferiores as obtidas em frascos agitados. O pH ótimo encontrado para a lacase foi de 3,0 e a temperatura ótima de 50 °C. Em relação aos testes de estabilidade com o pH, observou-se maior estabilidade da enzima na faixa de pH entre 5 e 8. Em relação aos testes de estabilidade com a temperatura, observou-se queda brusca da estabilidade entre 2 e 4 horas de incubação, observando-se perda de aproximadamente 60% da atividade, nas temperaturas de 20, 30 e 40°C e de aproximadamente 90% a 50°C. Com relação ao tempo de estocagem, a enzima apresentou maior estabilidade quando estocada em freezer, se comparado à estocagem em geladeira e à temperatura ambiente. Em freezer, após 90 dias, observou-se atividade enzimática em torno de 60%. Os valores de *K_m* e *V_{máx}* encontrados neste trabalho para a enzima produzida foram iguais a 3,78 mM e 1.111,11 μM L⁻¹ min⁻¹, respectivamente, utilizando ABTS como substrato. O extrato enzimático bruto propiciou a degradação de aproximadamente 100% do Bisfenol-A, na concentração de 500 mg L⁻¹, em 48 horas de incubação, independentemente da relação extrato enzimático bruto:Bisfenol-A.