

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LACASE PELO BASIDIOMICETO *Fomes fasciatus*.

Islândia Ramos dos Anjos¹; Aline Simões da Rocha Bispo²; Hélio Mitoshi Kamida³

1. Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, * e-mail: islandia.r@hotmail.com

2. Participante do projeto, Doutoranda em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana.

3. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana.

Palavras Chave: enzima, lacase, *Fomes fasciatus*.

Introdução

As enzimas microbianas são os produtos biotecnológicos mais utilizados nas últimas décadas. As lacases são enzimas que atuam em processos de degradação de polímeros orgânicos, deslignificação, desintoxicação, patogenicidade, morfogênese, esporulação e na constituição de esporos de resistência (Morgot et al. 2013), assim podem ser utilizadas em processos de biorremediação em efluentes industriais. Os fungos em particular possuem um complexo enzimático que transformam moléculas complexas em compostos mais simples pela sua capacidade de deslignificação seletiva, assim os mesmos são capazes de conversão de resíduos. As pesquisas nessa área envolvem a otimização do processo e a produção de enzimas com potencial industrial visando à diversificação do comércio mundial (Mendes, et al. 2011).

O objetivo do presente trabalho foi quantificar e caracterizar a produção da lacase produzida por um basidiomiceto, através da determinação de perfis ótimos de pH e temperatura afim de futuras aplicações biotecnológicas.

Resultados e Discussão

A espécie utilizada no trabalho foi doada pela Coleção de Cultura de Microrganismos da Bahia (CCMB), situada na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Dos 11 ensaios fermentativos com diferentes concentrações de casca de coco e farelo de trigo, a maior produção de lacase (7,42 U/L) foi observada no ensaio 7 com 3,0g de casca de coco e 0,593g de farelo de trigo após 07 dias de fermentação semi-sólida. A atividade da lacase foi determinada utilizando o ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS), como substrato (Bourbonnais et al., 1998).



Figura 01: Fermentação Semi-sólida do fungo *Fomes fasciatus* após 14 dias de incubação.

Na validação, a determinação da atividade enzimática foi realizada a cada 7 dias, durante 28 dias. O fungo apresentou máxima atividade para lacase no sétimo dia de fermentação utilizando 3,0 g de casca de coco e 2,0 g de farelo de trigo e este foi o tempo selecionado para otimização da temperatura e pH. As temperaturas testadas

foram 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 60°C, 70° e 80°C. A maior atividade para a lacase 10 U/mL foi observada na temperatura de 20°C. Nos estudos de Morgot et al (2013) a espécie *T. versicolor* apresentou boa atividade para a lacase entre 50°C e 60°C.

A caracterização do perfil ótimo de pH demonstrou que a enzima apresenta poucas variações em valores de atividade em relação aos tampões testados, variando apenas de 10 a 14 U/L, numa faixa estudada de 2,0 a 10,0, sendo o máximo (14,32U/L) obtido em pH 2,0 em tampão Glicina-HCl Os tampões utilizados foram: Glicina-HCl (2,0 e 3,0), Acetato de sódio (3,0 a 6,0), Citrato-fosfato (6,0 a 8,0), Glicina-NaOH (8,0 a 10,0).

No trabalho de Carvalho (2012), a produção de lacase pelo fungo *Aspergillus niger* apresentou elevado produção de $1,25 \times 10^{13}$ em 73,24 horas de fermentação, o extrato enzimático foi proveniente da fermentação da palma doce. Foi verificado que a casca da laranja também é um bom substrato para produção de lacase por basidiomicetos, na qual a espécie *Pleurotus ostreatus* apresentou a máxima atividade da lacase de 75 U.g^{-1} no substrato seco deste resíduo (Alexandrino, 2007).

Conclusões

Os substratos casca do coco e o farelo de trigo utilizados como fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente, se mostraram eficientes para produção de lacase pelo basidiomiceto *Fomes fasciatus*. A máxima atividade enzimática ocorreu após 07 dias de fermentação em meio semi-sólido. No processo de otimização da produção a temperatura ideal para atividade enzimática foi de 20°C e o pH considerado ideal foi 2,0 em tampão Glicina-HCl. Diante de tais resultados, a espécie estudada pode ser considerada um potencial para biotecnologia.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa, a UEFS e ao Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LAPEM/UEFS).

Referências:

- ALEXANDRINO, A.M; Faria, H.G; Souza, C.G.M; Peralta, R. M. Reutilisation of orange waste for production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus*(Jack:Fr).Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 364-368, abr.-jun. 2007.
- BOURBONNAIS, R.; LEECH, D.; PAICE, M.G.,1998. Electrochemical analysis of the interactions of laccase mediators with lignin model compounds. Biochemistry and Biophysics. Acta-General Subjects, 1379, 381-390.
- CARVALHO, Tamires; ABREU FILHO, George; PACHECO, Clissiane Soares Viana; FERREIRA, Alexandra Nascimento; ROCHA, Thiago José Onório, FRANCO, Marcelo. Produção de enzimas hidrolíticas por fermentação em estado sólido da Palma Doce (*Napolea Coccinellifera*) utilizando modelos estatísticos significativos. Revista de Estudos Ambientais. v. 14, n . 3, p.48 – 57, jan/jun-2012.
- MENDES, A. A.; et. al. Aplicação de Quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. Química Nova, v.34, n.5, 831-840, 2011.
- MORGOT, Jonas; BENNATI- GRANIER, Chloé; MAILLARD, Julien; BARRY, David A;HOLLIGER, Christof. Bacterial versus fungal laccase: potencial for micropollutant degradation. AMB, Express, 2013.