

Produção de lacase por *Ganoderma lucidum* através de fermentação submersa e estudos de pré-purificação

Letícia Akemi Aguenta Yasunaka

Graduanda em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Federal do Paraná

Patrícia Raquel Silva Zanoni

Engenheira química, doutora em Engenharia,
pesquisadora da Embrapa Florestas, patricia.silva@embrapa.br

Pedro Henrique dos Santos Sousa

Graduando em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Federal do Paraná

As lacases são oxirredutases que podem ser produzidas por basidiomicetos e que têm despertado interesse por sua capacidade de degradar compostos fenólicos. Algumas de suas aplicações incluem uso na indústria de alimentos e biorremediação de compostos poluentes. Neste trabalho, objetivou-se estudar a produção de lacase por *Ganoderma lucidum* através de fermentação submersa e pré-purificação por ultrafiltração e *salting-out*. O fungo foi inoculado em meio contendo glicose (10 g.L⁻¹), sulfato de magnésio (1,5 g.L⁻¹), fosfato de potássio (3 g.L⁻¹), sulfato de cobre (4 g.L⁻¹), peptona (0,5 g.L⁻¹) e bainha de pupunha (40 g.L⁻¹). As amostras foram incubadas a 28 °C por 7 dias, sem agitação. Os extratos obtidos foram filtrados e a atividade enzimática de lacase foi analisada utilizando ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazole-6-sulfonato) como substrato. As amostras com o ABTS foram incubadas em banho-maria (30 °C) por 5 minutos e a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 420 nm. Como forma de pré-purificar os extratos, foram feitos testes de ultrafiltração, onde 500 µL das amostras foram pipetados em *eppendorfs* acoplados a uma membrana de 30 kDa e rotacionados em centrífuga (14000×g) por 15 minutos. Outro teste de pré-purificação foi a precipitação de proteínas utilizando sulfato de amônio por meio de *salting-out*, no qual cresceu-se diferentes massas do sal a 1 mL de extrato e foi quantificada a lacase no sobrenadante. Ao final da fermentação submersa, obteve-se um extrato com atividade de lacase igual a 378 U.L⁻¹. Nos testes de ultrafiltração, percebeu-se que foi possível reter a lacase e retirar impurezas, pois nenhuma atividade enzimática considerável foi detectada no filtrado após centrifugação (abaixo de 1 U.L⁻¹). Da mesma forma, a técnica de *salting-out* mostrou-se eficiente, pois se notou que com o aumento da massa do sal acrescentado, a atividade enzimática do sobrenadante decrescia. Com 539 mg de sulfato de amônio, a atividade já era de apenas 1% da atividade inicial do extrato, o que indica precipitação de enzimas através do *salting-out*. Conclui-se que as técnicas de pré-purificação testadas neste trabalho são promissoras e podem ser otimizadas e utilizadas previamente a etapas mais refinadas de purificação, como sistemas de cromatografia.

Palavras-chave: Oxirredução; Basidiomicetos; *Salting-out*.

Apoio/Financiamento: Embrapa Florestas; Universidade Federal do Paraná.