

021

**SELEÇÃO DE MACROFUNGOS PRODUTORES DAS ENZIMAS LIGNINA PEROXIDASE,
MANGANÊS PEROXIDASE, LACASE, LIPASES,
PROTEASES E EPÓXIDO-HIDROLASES¹**

Marcelo Müller dos Santos²

Maria Angela Lopes de Almeida Amazonas³

Nádia Krieger⁴

David Alexander Mitchell⁴

Este trabalho está voltado para a investigação da ocorrência de enzimas de interesse biotecnológico em isolados de macrofungos depositados na coleção de culturas da *Embrapa Florestas*, Colombo, Paraná. Técnicas simples e rápidas de detecção qualitativa de atividade enzimática estão sendo empregadas, de modo a permitir a triagem de um maior número de isolados em um curto espaço de tempo. As seguintes enzimas estão sendo estudadas: lignina peroxidase, manganês peroxidase, lacase, lipases, proteases e epóxido-hidrolases. As três primeiras estão envolvidas na degradação da lignina e podem ser aplicadas com sucesso na degradação de compostos poluentes como hidrocarbonetos poliaromáticos (PHA's), clorofenóis e compostos difenílicos policlorados (PCB's). As lipases hidrolisam triacilgliceróis e encontram aplicação desde na produção de detergentes até na síntese de compostos de alto valor agregado, como fármacos, aromas e biodiesel. As proteases hidrolisam uma grande variedade de substratos peptídicos e são usadas em detergentes, na fabricação de cerveja, em panificação, além de poderem catalisar a síntese de peptídeos de alto valor comercial. As epóxido-hidrolases catalisam a hidrólise de um epóxido formando o respectivo diol vicinal. Curiosamente, observa-se que esta reação pode produzir uma das duas formas enantioméricas do diol em relativo excesso. Este fato torna estas enzimas de grande relevância para reações de síntese orgânica, pois, nas etapas de resolução de misturas racêmicas bons rendimentos podem, assim, ser alcançados. Até o momento, foram iniciados os testes para produção de lipases e proteases. Trinta isolados foram usados nesta primeira triagem, dos quais vinte e dois foram obtidos a partir de corpos frutíferos coletados na natureza e identificados pelo micólogo André de Meijer. Os fungos restantes foram gentilmente cedidos pela Universidade Chinesa de Hong Kong (*Ganoderma lucidum* CMB 0246), pela Universidade de Tottori, Japão (*Lentinula edodes* 697) e pela UNESP, Botucatu, SP (seis das sete linhagens de *Agaricus blazei*); uma linhagem de *Pleurotus eringii* foi adquirida de produtores de Fuzhou, China. Os testes foram feitos em placas de Petri. Para a seleção de cepas produtoras de lipases foi utilizado ágar contendo óleo de oliva e corante rodamina. As lipases excretadas pelo fungo hidrolisam a trioleína oriunda do óleo. Os ácidos graxos gerados por esta reação formam um complexo com a rodamina e fluorescem quando irradiados por luz UV. Para o teste de proteases foi usado ágar nutriente contendo gelatina. Após crescimento dos fungos, a gelatina remanescente foi precipitada com sulfato de amônio, revelando as zonas de atividade proteolítica. Entre os trinta isolados investigados, dez responderam positivamente à produção de lipases, entre os quais, algumas linhagens de *Ganoderma* spp., *Lentinus* spp. e *Pleurotus* spp. Para proteases, vinte responderam positivamente, incluindo todas as linhagens de *Agaricus blazei* e de *Ganoderma* spp.

¹ Trabalho desenvolvido na *Embrapa Florestas*

² Aluno do Curso de Habilitação em Farmácia Industrial da Universidade Federal do Paraná

³ Pesquisadora da *Embrapa Florestas* angela@cnpf.embrapa.br

⁴ Professor da Universidade Federal do Paraná