

	Universidade Estadual de Maringá
	Programa de Pós-graduação em Bioquímica
	Discente: Vinicius Mateus Salvatori Cheute
	Título: Otimização da imobilização, caracterização e aplicações ambientais de lacases de <i>Pycnoporus sanguineus</i> UEM-20

RESUMO GERAL

Lacases de origem fúngica são oxidorreduções multicobre amplamente distribuídas entre fungos ligninolíticos, como *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* e *Phanerochaete chrysosporium*. Essas enzimas catalisam a oxidação de uma ampla variedade de compostos fenólicos e não fenólicos, utilizando o oxigênio molecular como aceptor final de elétrons e gerando água como subproduto, o que as torna ambientalmente favoráveis. Sua elevada versatilidade catalítica, aliada à estabilidade em diferentes condições de pH e temperatura, confere às lacases grande potencial na biorremediação enzimática de efluentes industriais, solos contaminados e resíduos tóxicos. Elas são capazes de degradar corantes sintéticos, pesticidas, fármacos e outros poluentes emergentes, frequentemente com o auxílio de mediadores redox que ampliam seu espectro de substratos. Por serem enzimas produzidas extracelularmente por fungos, sua obtenção em cultivos líquidos ou sólidos é relativamente viável e econômica. Dessa forma, lacases fúngicas têm se destacado como ferramentas promissoras para tecnologias limpas e sustentáveis voltadas à mitigação da poluição ambiental. Os objetivos deste trabalho foram (1). Revisar o estado da arte na produção de lacases por fungos do gênero *Pycnoporus*; (2). Produzir, imobilizar, caracterizar e aplicar as lacases de uma nova cepa de *Pycnoporus sanguineus*, identificada como UEM-20.

O primeiro capítulo consiste em uma revisão abrangente que destaca o potencial do gênero *Pycnoporus* como uma ferramenta verde para a degradação de poluentes, além de sua capacidade de produzir enzimas ligninolíticas, como lacases e peroxidases, por meio de fermentação submersa e em estado sólido (FES). A revisão enfatiza a versatilidade metabólica desses fungos, que são capazes de degradar uma ampla gama de compostos recalcitrantes, incluindo fármacos, corantes sintéticos, retardantes de chama e pesticidas, graças à ação combinada de enzimas extracelulares (como lacases de alto potencial redox) e sistemas intracelulares, como o citocromo P450. Além disso, o capítulo discute desafios e perspectivas futuras para a otimização e escalonamento desses processos, destacando a necessidade de explorar

espécies menos estudadas do gênero *Pycnoporus* e a importância do investimento em produção comercial de lacases para aplicações em larga escala.

O segundo capítulo apresenta um estudo experimental focado na imobilização da lacase de *P. sanguineus* UEM-20 por meio da formação de agregados enzimáticos reticulados (CLEAs), otimizada através de um delineamento central composto rotacional (DCCR) e metodologia de superfície de resposta (MSR), e utilização das lacases livre e imobilizada em tecnologia ambiental. A imobilização resultou em uma recuperação de atividade enzimática de 98,79%, com a enzima imobilizada exibindo maior estabilidade de armazenamento (100% de atividade após 6 meses) e tolerância a sais, especialmente ao Na₂SO₄, em comparação com a enzima livre. A caracterização físico-química revelou que a imobilização causou mudanças nas propriedades cinéticas, como uma redução de 10,3% na V_{max} e um aumento de quase duas vezes no K_m, sem, entretanto, comprometer significativamente a eficiência catalítica. Aplicações ambientais demonstraram que ambas as formas da enzima (livre e imobilizada) foram altamente eficazes na degradação do bisfenol A (BPA), com mais de 95% de remoção em 40 minutos, e na descoloração do corante verde de malaquita (MG), que foi completamente degradado em 48 horas. Testes de toxicidade com *Lactuca sativa* confirmaram que o tratamento com lacase reduziu drasticamente a toxicidade do MG, mesmo na presença de sais. A enzima imobilizada também mostrou potencial para reúso, mantendo mais de 50% de sua atividade após sete ciclos de degradação de BPA e cinco ciclos de descoloração de MG. Assim, os resultados destacam o potencial biotecnológico das lacases de *P. sanguineus* UEM-20, especialmente na forma imobilizada, que combina alta eficiência catalítica com estabilidade operacional e de armazenamento. A capacidade da enzima de degradar poluentes como BPA e MG, mesmo em condições adversas (ex. presença de sais), aliada à sua reutilização, reduz custos e viabiliza aplicações em escala industrial. Além disso, a confirmação da detoxificação de MG reforça o papel das lacases não apenas na descoloração, mas também na mitigação de impactos ambientais. A otimização da imobilização por CLEAs, com alta recuperação de atividade, oferece um modelo sustentável e econômico para o tratamento de efluentes contaminados com xenobióticos.

Palavras-chave: Biorremediação, bisfenol A, CLEA, imobilização enzimática, lacase, *Pycnoporus sanguineus*, verde malaquita.