

## ESTUDOS CINÉTICOS DE PEROXIDASES E LACASES EXTRAÍDAS DE CULTIVOS DE *Pleurotus sajor-caju* EM SERRAGEM DE *Pinus* spp

Tamara Aparecida Gaio (BIC-UCS), Aldo José Pinheiro Dillon (orientador), Raquel Calloni, Fernanda Munari (bolsistas) - Instituto de Biotecnologia/UCS - [tagaio@ucs.br](mailto:tagaio@ucs.br)

O complexo fenol-oxidases secretado pelo basidiomicete *Pleurotus sajor-caju* tem demonstrado potencial aplicabilidade no tratamento de efluentes da indústria têxtil e de celulose, por sua capacidade de oxidar compostos poli-aromáticos fenólicos e não fenólicos. Embora genes de várias lacases e peroxidases já estejam clonados, são escassas as informações sobre o comportamento cinético dessas enzimas e sua estabilidade. Este trabalho objetivou determinar  $K_M$  e  $V_{m\acute{a}x}$  de lacase, lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP) de caldo extraído de fermentação sólida de *P. sajor-caju*. Estudou-se o efeito do pH na ressuspensão e armazenamento da lacase e a termoestabilidade de lacase e MnP. O meio de cultivo conteve 93% (p/p) serragem de *Pinus* sp, 6% (p/p) farelo de trigo e 1% (p/p)  $CaCO_3$ , com 66% de umidade. Os parâmetros cinéticos foram determinados com os substratos ABTS e siringaldazina para lacases, e vermelho de fenol para MnP, em extratos cru e precipitado, de cultivos com 20 dias, em duplicatas.  $K_M$  e  $V_{m\acute{a}x}$  foram expressos a partir do duplo-recíproco ( $1/V_0 \times 1/[S]$ ) de Lineweaver-Burk. Em ensaios com siringaldazina e vermelho de fenol,  $K_M$  mostrou valores superiores para o caldo precipitado, indicando a provável presença de inibidor competitivo no caldo cru não removido pela precipitação. Em todos os ensaios,  $V_{m\acute{a}x}$  teve aumento no caldo precipitado, sugerindo a presença de inibidor não competitivo. Lacase e MnP foram mais estáveis a 40°C e o melhor pH para ressuspensão e armazenamento de lacase foi 6,0. Nas condições de cultivo do trabalho, não foi detectada LiP. Os estudos de pesos moleculares das enzimas e detecção de isoenzimas em SDS-PAGE, com adição de ABTS (para lacase) e o-dianisidina (para MnP), revelaram bandas de mesmo peso molecular para os dois substratos. Como ambos são substratos para lacase, é possível que apenas essa enzima tenha sido detectada no gel, com localização referente a uma proteína desnaturada de massa molecular de cerca de 40 KDa.

Palavras-chave: Fenol-oxidases, *Pleurotus*, Biorremediação

Apoio: UCS