

INTRODUÇÃO

Fungos do gênero *Pleurotus* possuem propriedades medicinais e terapêuticas, grande valor nutricional e gastronômico, além de importantes aplicações ambientais e biotecnológicas. Este gênero vem sendo intensivamente estudado devido a sua capacidade de degradar resíduos lignocelulósicos e poluentes pela ação do complexo enzimático das fenol-oxidases. Lacases são enzimas pertencentes a este grupo que oxidam compostos fenólicos e aromáticos reduzindo oxigênio a água pela retirada de um elétron do substrato, com aplicação potencial no tratamento de efluentes clorofenólicos produzidos por indústrias de papel e celulose e na descoloração de corantes utilizados em processos têxteis. *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 produz diferentes níveis de lacases em processo submerso, dependendo de variações na composição do meio de cultivo, dos indutores enzimáticos utilizados e das condições operacionais, como temperatura, oxigênio dissolvido e pH, além da configuração do biorreator e do regime de operação utilizado no processo. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do pH sobre a cinética de crescimento e a produção de lacases de *P. sajor-caju* PS-2001 em processo submerso em biorreator airlift de circulação interna em regime descontínuo.

MATERIAL E MÉTODOS

❖ Microrganismo



Figura 1. *Pleurotus sajor-caju* PS-2001.

Pleurotus sajor-caju PS-2001, da coleção de microrganismos do Instituto de Biotecnologia da UCS.

❖ Inóculos



Figura 2. Frasco Erlenmeyer de 500 mL contendo inóculo.

- ◆ Glicose (5 g/L)
- ◆ Caseína pura (1,5 g/L)
- ◆ Solução mineral (100 mL/L)
- ◆ Micélio (3 discos de 1,5 cm Ø)
- ◆ Agitação de 180 rpm por 6 dias
- ◆ Temperatura de 28±1°C

❖ Cultivos



Figura 3. Biorreator airlift de circulação interna.

Glicose (5 g/L), caseína pura (1,5 g/L), solução mineral (100 mL/L), ácido benzoico (122 mg/L - 1 mmol/L) e CuSO₄ (100 mg/L - 0,4 mmol/L).

- ◆ Volume operante: 4,5 L
- ◆ Temperatura: 28±1°C
- ◆ Vazão de ar: 1,5 L/min
- ◆ pH: livre (inicial em 5,0), livre (inicial em 6,5) e fixo em 6,5
- ◆ Coleta de amostras: tempo 0 (inóculo) até 90 h

❖ Análises

- ◆ Biomassa micelial - gravimetria
- ◆ Substrato - Glicose (Miller, 1959)
- ◆ Lacases (Wolfenden & Willson, 1982)
- ◆ Peroxidases totais (Heinzkill *et al.*, 1998)
- ◆ Mangânes peroxidases (Kuwahara *et al.*, 1984)
- ◆ Lignina peroxidases (Tien & Kirk, 1984)
- ◆ Oxidases do álcool veratrílico (Bourbonnais & Paice, 1988)

RESULTADOS

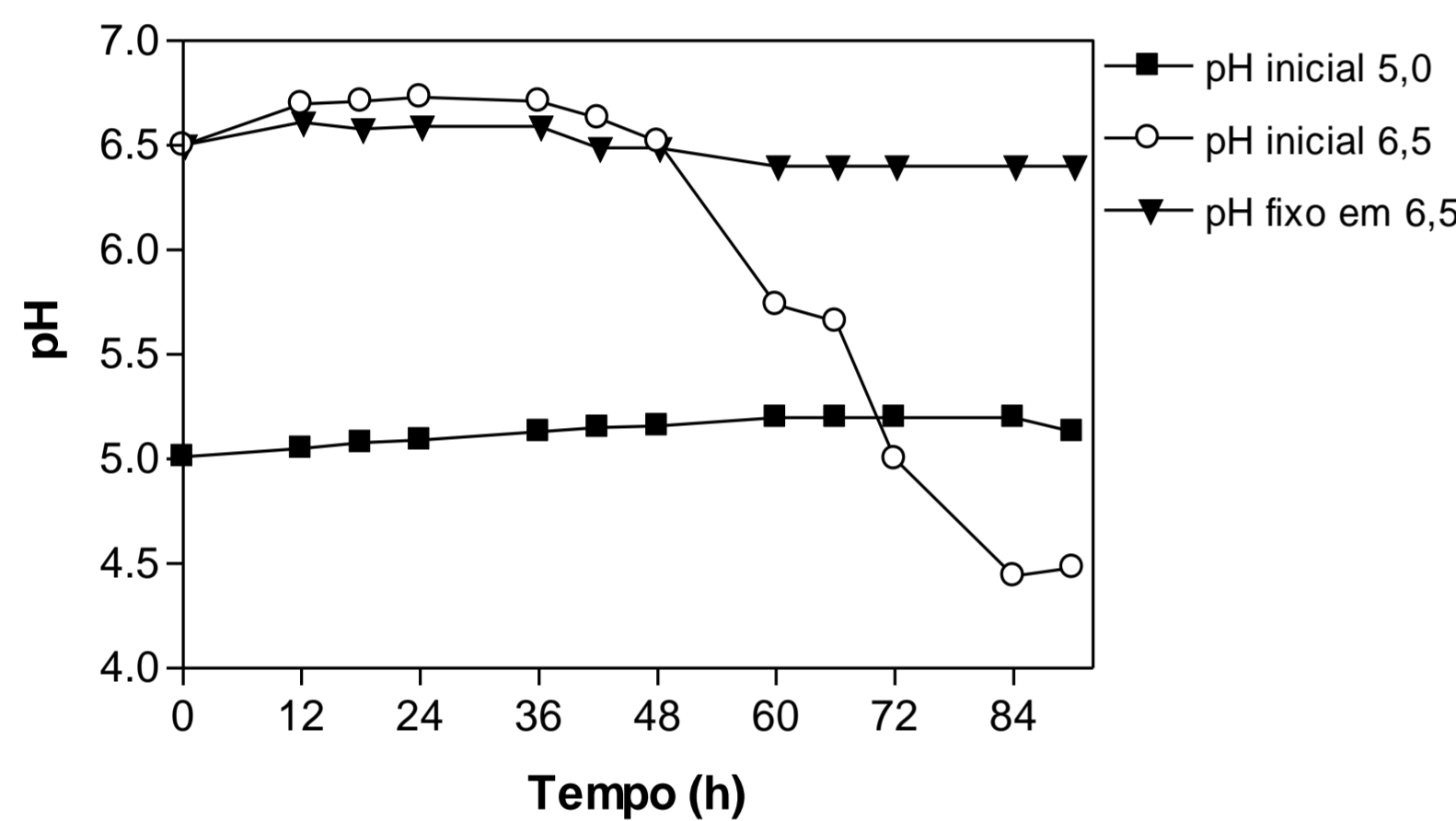


Figura 4. Variação do pH em função do tempo durante cultivos submersos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 em biorreator airlift de circulação interna sob diferentes condições de pH a 28°C.

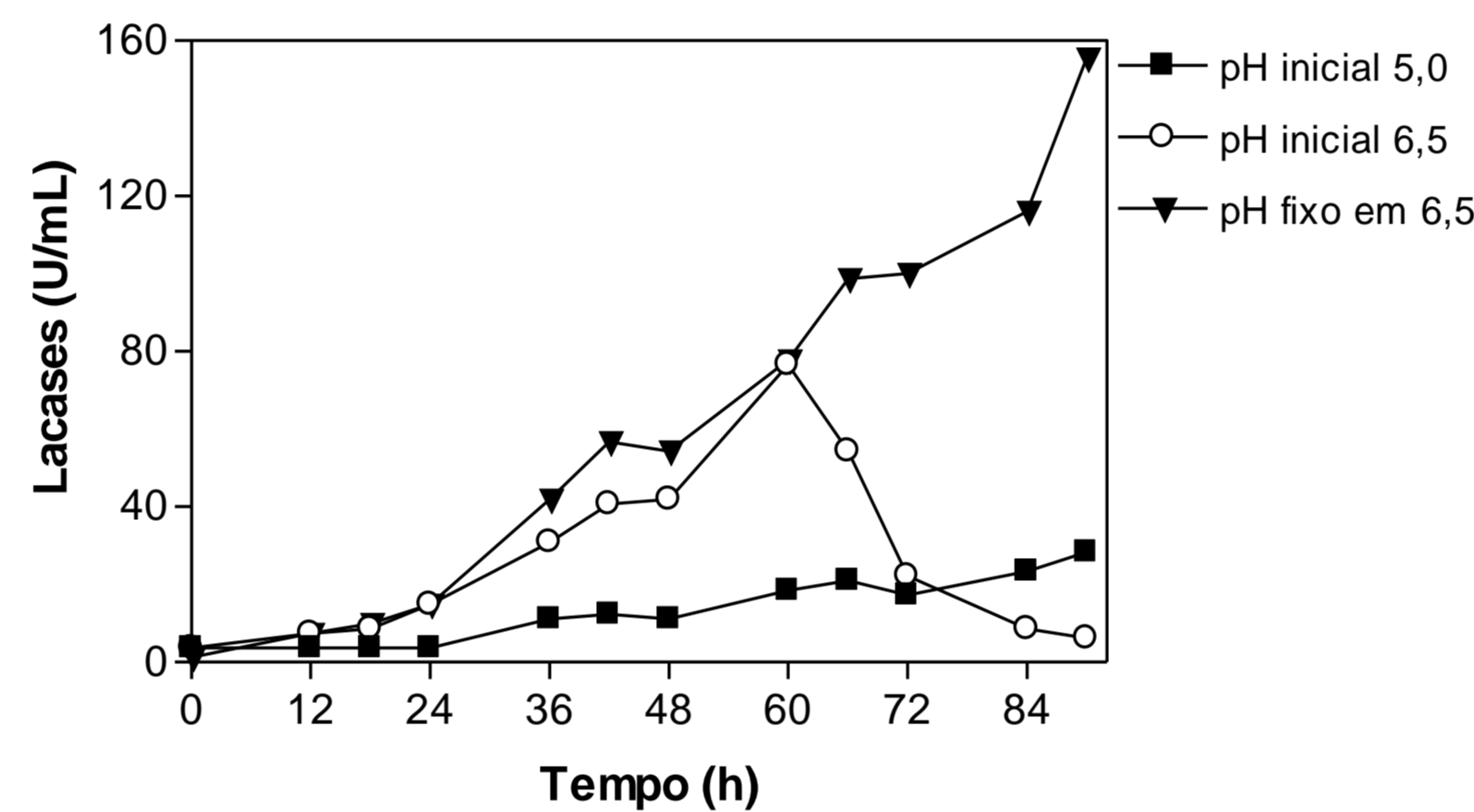


Figura 5. Atividade de lacases em função do tempo durante cultivos submersos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 em biorreator airlift de circulação interna sob diferentes condições de pH a 28°C.

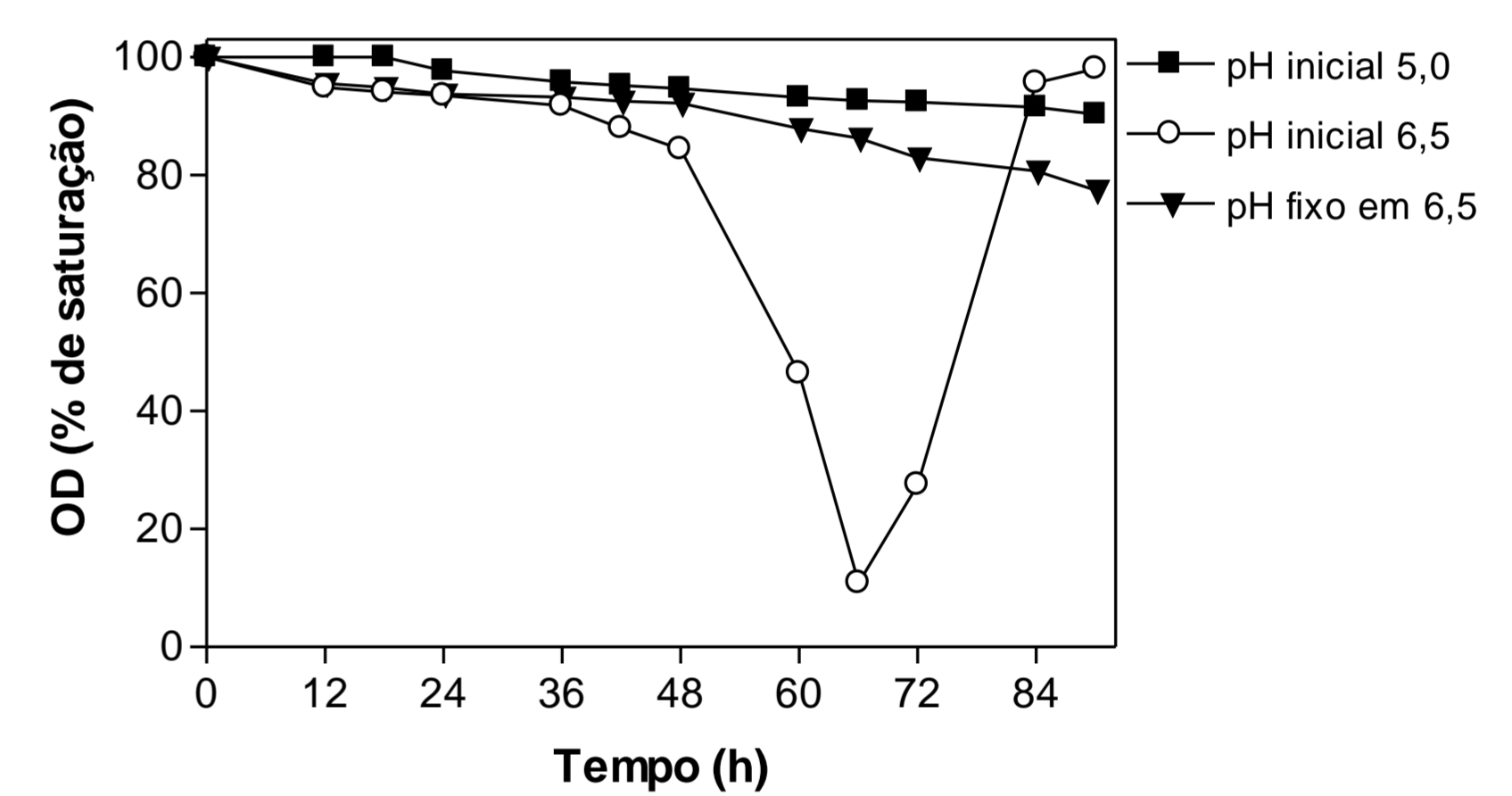


Figura 6. Percentual de saturação em oxigênio dissolvido em função do tempo durante cultivos submersos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 em biorreator airlift de circulação interna sob diferentes condições de pH a 28°C.

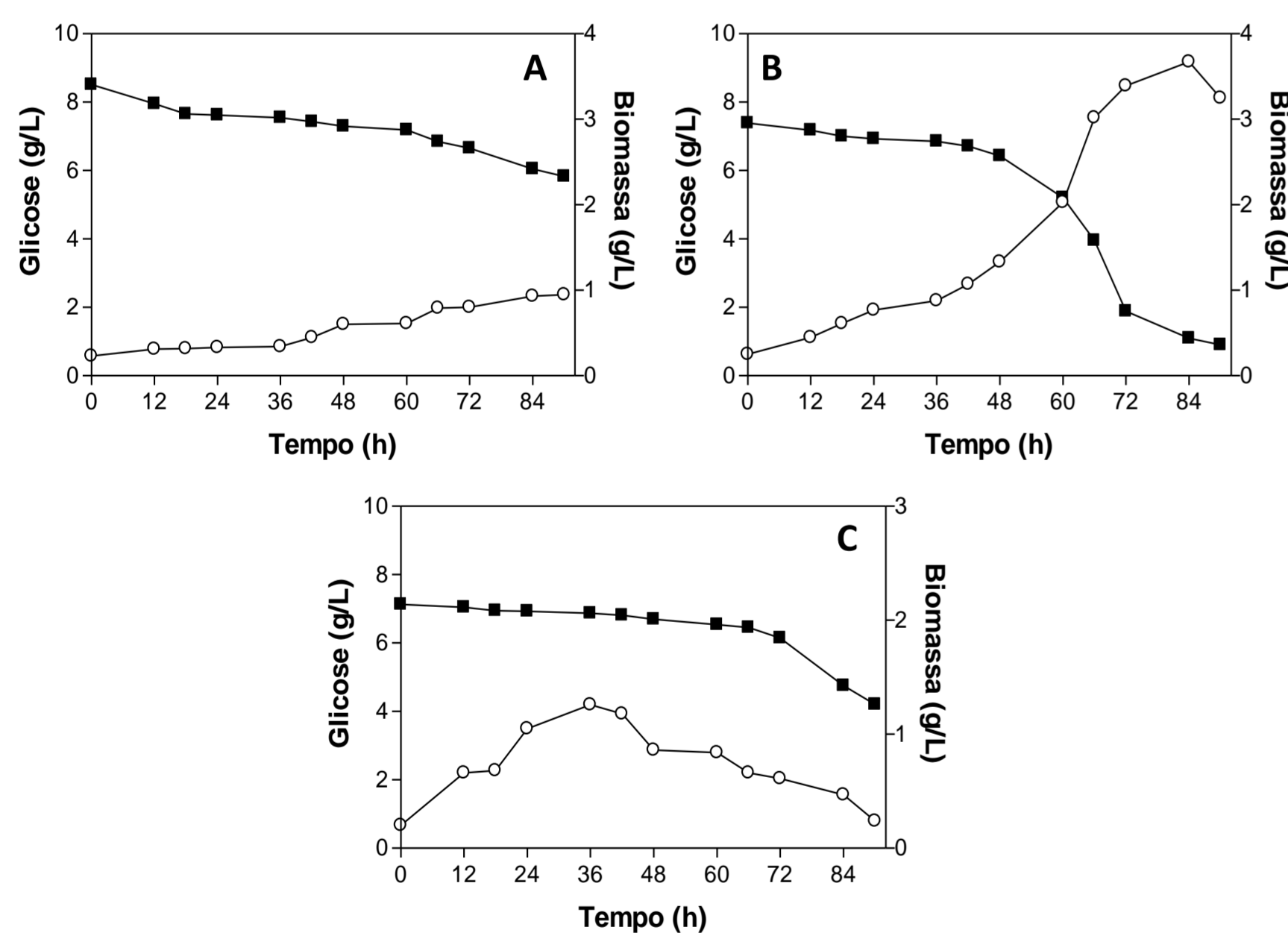


Figura 7. Consumo de substrato (■) e biomassa micelial (○) em função do tempo durante cultivos submersos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 em biorreator airlift de circulação interna sob diferentes condições de pH a 28°C. (A) pH livre - inicial de 5,0. (B) pH livre - inicial de 6,5. (C) pH fixo em 6,5.

Tabela 1. Atividades enzimáticas obtidas em cultivos submersos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 realizados em biorreator airlift de circulação interna sob diferentes condições de pH a 28°C.

	pH		
	Fixo em 6,5	Livre (inicial de 5,0)	Livre (inicial de 6,5)
Lac (U/mL)	155,6	28,4	76,5
Tempo (h)	90	90	60
Per (U/mL)	30,9	4,94	12,4
Tempo (h)	90	84	72
MnP (U/mL)	21,2	11,7	35,4
Tempo (h)	84	66	18
LiP (U/mL)	ND	0,10	0,38
Tempo (h)	---	24	24
OAV (U/mL)	0,07	0,22	ND
Tempo (h)	12	72	---
Proteases (U/mL)	1,09	1,19	1,51
Tempo (h)	90	12	72

Legenda: Lac (atividade máxima de lacases), Per (atividade máxima de peroxidases totais), MnP (atividade máxima de mangânes peroxidases), LiP (atividade máxima de lignina peroxidases), OAV (atividade máxima de oxidases do álcool veratrílico), ND (atividade enzimática não detectada).

Tabela 2. Resultados gerais obtidos durante cultivos submersos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 realizados em biorreator airlift de circulação interna sob diferentes condições de pH a 28°C.

	pH		
	Fixo em 6,5	Livre (inicial de 5,0)	Livre (inicial de 6,5)
Lac _{máx} (U/mL)	155,6	28,4	76,5
Tempo (h)	90	90	60
P _E (U/mL/h)	1,715	0,274	1,214
X _{máx} (g/L)	1,26	0,95	3,67
Tempo (h)	36	90	84
P _X (g/L/h)	0,029	0,008	0,041
Y _{E/X} (U/g)	123,492	29,895	20,845

Legenda: Lac_{máx} (máxima atividade de lacases), P_E (produtividade volumétrica de lacases), X_{máx} (máxima concentração celular), P_X (produtividade volumétrica de biomassa), Y_{E/X} (fator de rendimento específico relacionando a máxima atividade de lacases com a máxima concentração celular).

CONCLUSÕES

- ◆ Atividades de lacases foram observadas em todas as condições testadas, sendo os melhores resultados obtidos em pH fixo de 6,5 (máximo de 156 U/mL em 90 h), com produtividade volumétrica de 1,7 U/mL/h.
- ◆ As maiores atividades de peroxidases totais também foram detectadas em pH fixo de 6,5, com aproximadamente 31 U/mL em 90 h de cultivo.
- ◆ Em pH livre (inicial de 6,5), o pico de lacases foi de 77 U/mL em 60 h, com produtividade volumétrica de 1,2 U/mL/h, enquanto que, em pH livre (inicial de 5,0), o pico de lacases foi de 28 U/mL em 90 h, com produtividade volumétrica de 0,27 U/mL/h.
- ◆ Maiores atividades de MnP (35 U/mL em 18 h) e LiP (0,38 U/mL em 24 h) foram observadas em pH livre com inicial em 6,5, enquanto que atividades mais elevadas de OAV (0,22 U/mL em 72 h de cultivo) ocorreram em pH livre com inicial em 5,0.
- ◆ Maiores níveis de biomassa micelial foram detectados em pH livre com valor inicial de 6,5 (3,67 g/L em 84 h de cultivo), seguido do pH fixo de 6,5 (1,26 g/L em 36 h) e do pH livre com valor inicial de 5,0 (0,95 g/L em 90 h).
- ◆ Os resultados obtidos sugerem que níveis enzimáticos superiores não estão relacionados com elevada produção micelial e que processos submersos realizados em biorreator airlift são favoráveis à síntese de lacases e peroxidases por *P. sajor-caju* PS-2001, especialmente em pH controlado em 6,5 a 28°C.
- ◆ Os caldos enzimáticos brutos produzidos em biorreator estão sendo utilizados em testes paralelos de descoloração de corantes e de remoção de fenóis, visando contribuir para futuras aplicações destas enzimas em tecnologias de tratamento de compostos poluentes, provenientes de diferentes ramos industriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bourbonnais, R. & Paice, M.G. (1988). *Biochem. J.* 255: 445-450.
Heinzkill, M. *et al.* (1998). *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 1601-1606.
Kuwahara, M. *et al.* (1984). *FEBS Lett.* 169: 247-250.
Miller, G.L. (1959). *Anal. Chem.* 31: 426-428.
Tien, M. & Kirk, T.K. (1984). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 2280-2284.
Wolfenden, B.S. & Willson, R.L. (1982). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II.* 02: 805-812.

APOIO