

## UTILIZAÇÃO DO *Trametes versicolor*, EM FERMENTAÇÃO ESTACIONÁRIA, PARA DESCOLORAÇÃO DO VERDE DE MALAQUITA

Luiz Gustavo Barros Antonio (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Daiane Tiemi Sato Miquelete (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Rafael Castoldi (Orientador), Cristina Giatti Marques de Souza (Coorientador). E-mail: rcastoldi@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

### Bioquímica/Bioquímica dos Microrganismos.

**Palavras-chave:** biorremediação; microrganismos; corantes.

### RESUMO

Neste projeto foi implementado o tratamento biológico com base no uso do *Trametes versicolor*, do grupo de fungos da podridão branca, para a descoloração do verde de malaquita. O fungo *T. versicolor* demonstrou um desempenho superior no cultivo em meio sólido e foi posteriormente empregado nos cultivos em meio líquido estacionário, utilizando diferentes condições e concentrações do corante. Notou-se que a atividade da lacase atingiu níveis elevados, alcançando o pico de 542,5 U/L na concentração de 25 mg/L, e a fonte de açúcar foi inferior a 5,0  $\mu$ \*mol/mL para todas as concentrações. Os resultados indicam a possibilidade que o fungo *T. versicolor* consegue realizar descoloração total do corante relacionado.

### INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos que demonstram um notável potencial na biodegradação de poluentes químicos tóxicos, destacando-se pela produção significativa de enzimas extracelulares, entre elas as ligninases e com foco especial nas lacases. Os fungos pertencentes à podridão branca da madeira (FPB) são reconhecidos por sua capacidade única de decompor completamente a lignina em dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e água (H<sub>2</sub>O).

As lacases, também conhecidas como benzenodiol, são membros da família das oxidases de cobre azul, catalisando de forma simultânea a oxidação de compostos aromáticos e a redução do oxigênio à água. Essas enzimas possuem um aumento significativo em sua utilização na bioindústria, isso se deve às propriedades das lacases, que apresentam alta eficiência na degradação de compostos relacionados à lignina, tanto fenólicos quanto não fenólicos, tornando-as uma excelente escolha para a biodegradação de recursos biológicos renováveis e a desintoxicação de poluentes ambientais altamente recalcitrantes (COUTO, TOCA-HERRERA, 2007).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Seleção de microrganismos*

Na seleção prévia da degradação dos corantes, três fungos basidiomicetos, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma lucidum*, foram mantidos em laboratório com repiques sucessivos em batata dextrose ágar (BDA). Placas de Petri contendo meio BDA e corante têxtil (Verde de Malaquita) foram inoculadas com discos de micélio dos fungos nas concentrações de 25, 75 e 150 mg/L. O halo de crescimento do micélio foi medido diariamente para determinação.

### *Condições de cultivo*

Dois discos miceliais do fungo de melhor desempenho na seleção, *T. versicolor*, foram inseridos em meio preparado com meio mineral, corante têxtil em mesmas concentrações relacionadas e suplementação de glicose 1%. Cultivos abióticos foram realizados como controle. Em sequência, os cultivos foram interrompidos e filtrados, a biomassa é secada em estufa até peso constante, enquanto o filtrado será utilizado para acompanhamento da degradação e determinação de atividade enzimática.

### *Determinação das atividades enzimáticas*

A atividade da lacase foi realizada de acordo com (MOTA et. al, 2015) utilizando o substrato ABTS.

### *Dosagem de Açúcar Redutor*

A dosagem de açúcar redutor foi realizada através da reação do DNS com as amostras tratadas.

### *Descoloração do corante*

A descoloração do corante foi determinada espectrofotometricamente, no comprimento de onda de 620 nm, e posteriormente avaliada pela seguinte equação:

$$\text{Descoloração (\%)} = \frac{(\text{ABS inicial} - \text{ABS final}) * 100\%}{(\text{ABS inicial})}$$

ABS final = absorbância da amostra tratada.

ABS inicial = Controle Abiótico das 3 concentrações.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo *Trametes versicolor* demonstrou o melhor desempenho em frente de uma baixa concentração do corante analisado. Logo, foi selecionado como possível melhor organismo para descoloração, e disperso em meio líquido com verde de malaquita. É possível perceber, por observação da Figura 1, que todas as concentrações do corante foram completamente descoloridas, o que comprova uma adaptação do microrganismo diante o estresse causado pelo meio em que se desenvolveu, como apontou Diorio et al. (2021).

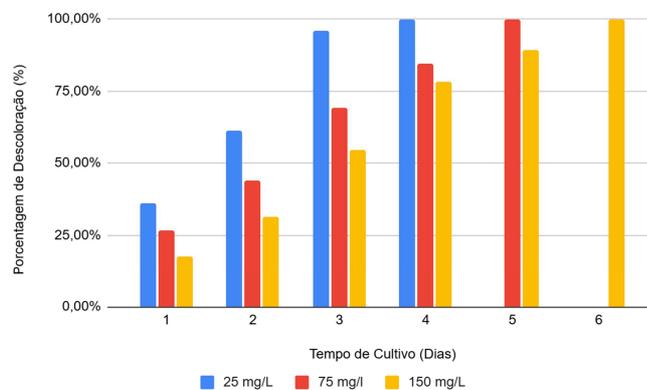


Figura 1 - Descoloração do Verde de Malaquita no período de 7 dias de incubação

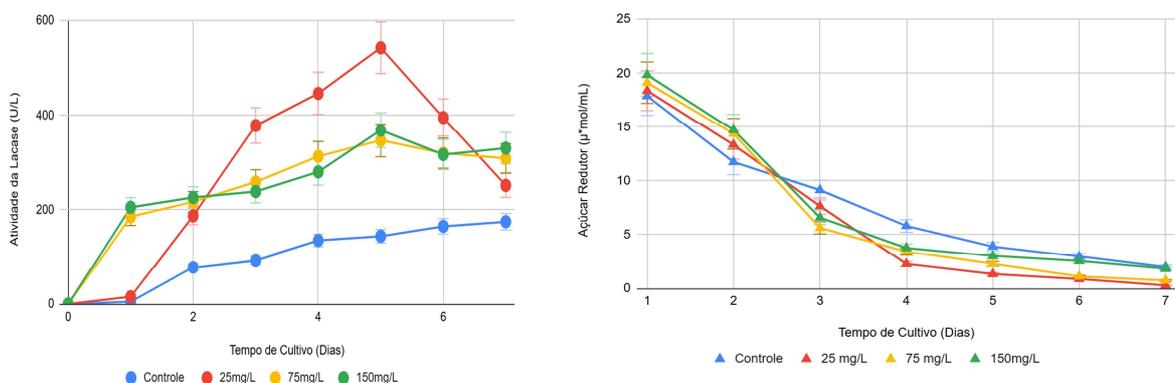


Figura 2 - Atividade da lacase e consumo de açúcar redutor durante incubação

Quanto à atividade enzimática, observou-se melhor indução da lacase no meio de menor concentração, alcançando um pico no quinto dia de cultivo, com produção de 542,5 U/L. Os picos das demais concentrações também ocorreram no quinto dia de cultivo, com produção de 346,7 e 348,2 U/L, nas concentrações de 75

e 150 mg/l, respectivamente. É possível compreender que a lacase foi induzida a reagir para que houvesse adaptação do fungo diante o estresse oxidativo.

Além disso, pode-se observar na Figura 2, que à medida que a fonte de carbono é consumida, a atividade da lacase se dispõe ainda mais. O açúcar redutor chega próximo à totalidade de consumo, importante para relacionar a adaptação do fungo ao meio com sua propriedade de descoloração.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que o fungo *T. versicolor* conseguiu realizar total descoloração do Verde de Malaquita. Contudo, é importante ressaltar que são necessárias pesquisas adicionais para conferir a desintoxicação das amostras coletadas.

## AGRADECIMENTOS

Volto meus agradecimentos ao enorme apoio dos meus pais, meus orientadores, ao Laboratório de Bioquímica de Microrganismos da Universidade Estadual de Maringá e aos órgãos de fomento à pesquisa e educação, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Araucária e Universidade Estadual de Maringá, meus sinceros agradecimentos.

## REFERÊNCIAS

COUTO, S. R., TOCA-HERRERA, J. L. **Laccase production at reactor scale by filamentous fungi**. *Biotechnology Advances*, v. 25(6), p. 558–569, 2007.

DIORIO, L.A.; FRÉCHOU, D.M.S.; LEVIN, L. N. **Removal of dyes by immobilization of *Trametes versicolor* in a solid-state micro-fermentation**. *Revista Argentina de Microbiología*, v. 53, n. 1, p. 3-10, 2021.

MOTA, T. R., KATO, C. G., PERALTA, R. A., BRACHT, A., DE MORAIS, G. R., BAESSO, M. L., & PERALTA, R. M. (2015). **Decolourization of Congo red by *Ganoderma lucidum* laccase: evaluation of degradation products and toxicity**. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226, 1-11.