

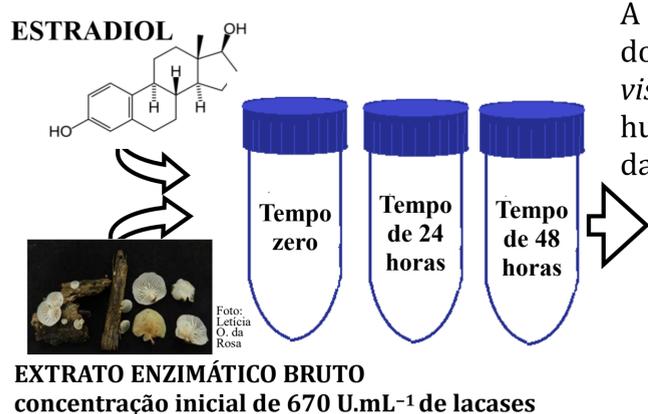
INTRODUÇÃO

O estradiol (E2) é um desregulador endócrino (DE) que tem ganhado destaque pela presença constante nos efluentes e impacto sobre as populações aquáticas e saúde pública. Os DEs afetam os seres vivos mesmo em baixas concentrações, e seus efeitos podem ser lentos e duradouros, que incluem a desmasculinização de machos, diminuição do número de espermatozoides, deformidades nos órgãos reprodutivos, alguns tipos de cânceres, entre outros. No Brasil o tratamento da água não remove de forma eficiente os DEs. Devido a essa contaminação, a biorremediação com enzimas fúngicas tem sido uma opção de baixo custo para remoção dos DEs. O macrofungo *Marasmiellus palmivorus* VE-111, apresenta alta produção de enzimas lignolíticas e lacases, capazes de degradar compostos químicos orgânicos.

OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial do extrato enzimático de *Marasmiellus Palmivorus* na degradação de estradiol.

METODOLOGIA



A análise da presença da presença de estradiol nas amostras foi realizada pelo uso do ensaio YES (*Yeast Estrogen Screen*), que utiliza a levedura *Saccharomyces cerevisiae* modificada geneticamente pela presença do REh [receptor de estrogênio humano] que reage com o E2 e possibilita análise da atividade estrogênica através da leitura da absorbância.

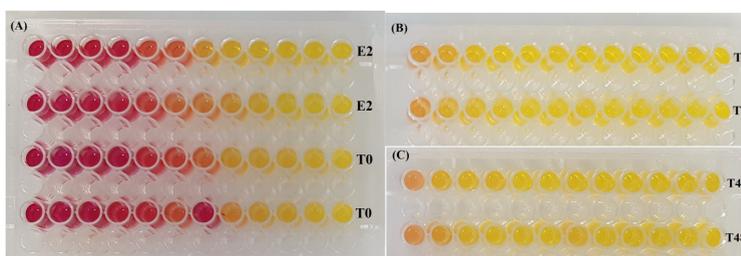


Figura 1: Placas demonstrativas do ensaio YES. (A) E2: Curva padrão (controle positivo) e T0: tempo zero. (B) T24: Tempo de 24 horas. (C) T48: tempo de 48 horas.

A curva padrão do ensaio YES foi considerada o controle positivo, sem contato com as enzimas e sem remoção do E2. O meio de ensaio foi considerado o controle negativo, sem E2. O resíduo de E2, nos diferentes tempos de exposição (T0, T24 e T48), foi analisado em comparação à curva padrão. As amostras foram comparadas utilizando-se o teste ANOVA de uma via, com pós-teste de Tukey.

RESULTADOS

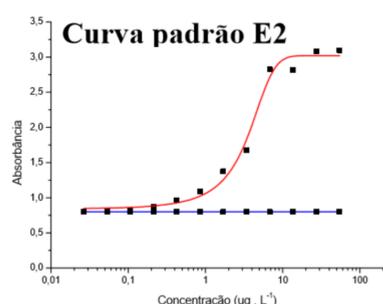


Figura 2: Valores de absorbância em função da concentração de E2 em escala logarítmica, da curva padrão de E2 (controle positivo em vermelho) e do meio de análise (controle negativo em azul).

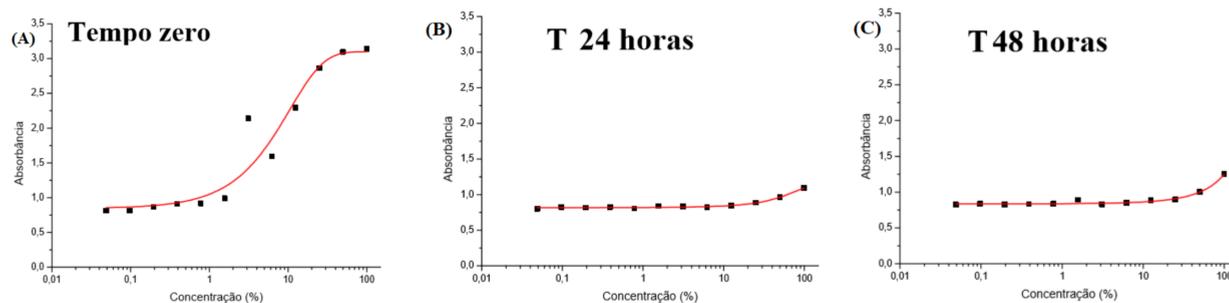


Figura 3: Valores de absorbância em função da concentração de E2 nos tempos zero (A), 24 horas (B) e 48 horas (C) em contato com a enzima em relação a concentração inicial de 54,5 µg. L⁻¹.

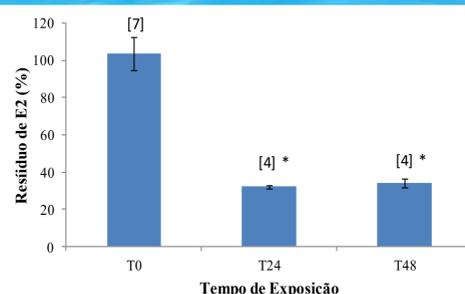


Figura 4: Resíduo de E2 nos tempos T0, T24 e T48 em relação ao controle positivo (curva padrão de E2). (*) diferença significativa entre T24 e T48 em relação ao T0 ($p < 0,05$; ANOVA, Tukey).

DISCUSSÃO

A amostra T0 ficou semelhante ao controle positivo, confirmando que não houve ação imediata das enzimas. Os tempos T24 e T48 não apresentaram diferenças significativas, demonstrando que a remoção ocorre já nas primeiras 24 horas, necessitando de mais estudos quanto ao tempo mínimo necessário. A amostra em contato com a enzima por 24 horas e 48 horas apresentou remoção de cerca de 70% de E2, sendo possível se chegar a melhores resultados refinando o extrato enzimático, como já relatado na literatura. As lacases, presentes no extrato enzimático, degradam os anéis aromáticos do E2, essa é a porção que se liga ao REh e induz a resposta estrogênica. Outros DEs sintéticos apresentam anéis aromáticos em sua composição e se ligam ao REh de mesma forma. Essa característica possibilita prever o potencial das lacases em degradar outras substâncias DEs. A concentração de E2 utilizada neste trabalho foi a padrão do teste YES (54,5 µg. L⁻¹), sendo que mais estudos devem ser realizados utilizando-se concentrações de E2 mais próximas à realidade de efluentes ou águas superficiais, que normalmente são da ordem de ng.L⁻¹.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As enzimas provenientes do fungo *M. palmivorus*, principalmente as lacases, apresentam um potencial para aplicações futuras no tratamento de efluentes e remoção de E2 e de outros DEs.

REFERENCIAS

- Cantele, C.; Fontana, R. C.; Mezzoma, A. G.; Rosa, L. O.; Poletto, L.; Camassola, M.; Dillon, A. J. P. **Synthetic dye decolorization by *Marasmiellus palmivorus*: Simultaneous cultivation and high laccase-crude broth treatment.** Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul, Brazil, 12, 15, 2017.
- Reis Filho, R. W.; De Araújo, J. C.; Vieira, E. M. **Hormônio sexuais estrógenos: Contaminantes Bioativos.** Quim. Nova, Vol. 29, No. 4, 817-822, 2006.
- Routledge, E. J.; Sumpter, J. P. **Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assayed using a recombinant Yeast screen.** Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 15, No. 3, pp. 241-248, 1996.
- Tamagawa, Y.; Yamaki, R.; Hirai, H.; Kawai, S.; Nishida, T. **Removal of estrogenic activity of natural steroidal hormone estrone by lignolytic enzymes from White rot fungi.** Chemosphere, 65, 97, 2006.