

# XXXII Encontro de Jovens Pesquisadores

e XIV Mostra Acadêmica de Inovação e Tecnologia



PROBIC FAPERGS

AÇÃO DE FENOL-OXIDASES IMOBILIZADAS NA DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS LACCEL



Autores: Alana Araldi Dalpias, Gabriela Gambato, Roselei Claudete Fontana, Marli Camassola

# INTRODUÇÃO / OBJETIVO

Entre as principais causas de poluição dos recursos hídricos estão os compostos químicos produzidos e utilizados pelos humanos, dentre estes, os fármacos. Segundo estimativas do Conselho Federal de Farmácia (CFF), o Brasil descarta entre 10,3 e 19,8 mil toneladas de medicamentos anualmente, o que ocasiona diversos problemas socioambientais. Estes insumos causam riscos à saúde humana e à biodiversidade, ocasionando contaminações em solos e aquíferos. Assim, uma alternativa para reduzir a quantidade desses fármacos no ambiente, seria a utilização de enzimas capazes de degradar estes compostos químicos.

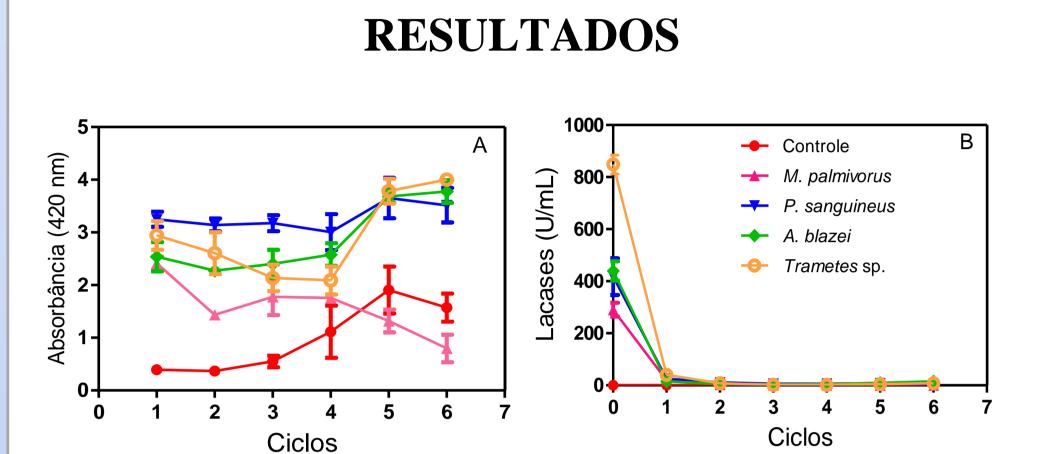
Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a redução das concentrações de fármacos por ação de extratos enzimáticos de macrofungos.

#### MATERIAL E MÉTODOS Produção de fenol-**Cultivo submerso** oxidases Concentração - Caldo de 200 g/L de batata Marasmiellus palmivorus das lacases - 20 g/L de glicose Com sulfato de Pycnoporus sanguineus - 50 mL/L de solução mineral Agaricus blazei amônio 60%. - água destilada qsp. 1 L Trametes sp. Síntese das partículas magnéticas e imobilização das lacases - Sulfato ferroso (FeSO4.7H2O) - Cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) - Quitosana Avaliação da estabilidade das Avaliação da ação das fenol-oxidases partículas magnéticas com a imobilizadas e livres na degradação dos enzima imobilizada fármacos diclofenaco e paracetamol -Extrato enzimático de cada Partículas com a enzima imobilizada macrofungo (2000U) - 5 mg/L de cada fármaco - 250 mg das partículas magnéticas - Tampão acetato 50mM qsp. 2 mL - Tampão acetato 50 mM qsp. 2 mL **Enzima livre** - Incubação por 24 horas, 25°C Extrato enzimático de *Pycnoporus* Leitura em 420 nm sanguineus (250U) - 5 mg/L de cada fármaco - Tampão acetato 50mM qsp. 2 mL - Incubação por 1 hora a 25°C - Analise em HPLC

### RESULTADOS

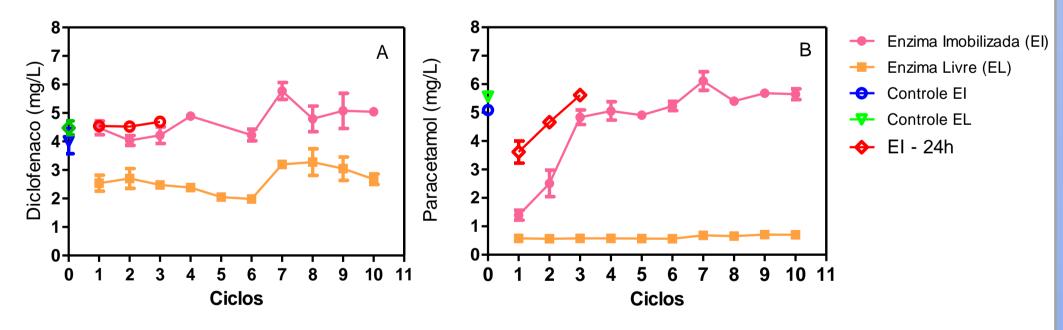
A estabilidade das partículas magnéticas com a enzimas imobilizadas foram avaliadas nos extratos enzimáticos de *Marasmiellus palmivorus* (VE111), *Pycnoporus sanguineus* (14G), *Trametes* sp. (059) e *Agaricus blazei* (A.b) (Figura 1).

Na Figura 1A estão apresentados os resultados da absorbância da oxidação do ABTS nas partículas magnéticas com a enzima imobilizada, onde foi possível observar que os extratos enzimáticos dos quatro fungos apresentaram resultados semelhantes, sendo que o VE111 teve maior decréscimo a partir da quarta semana. Na Figura 1B estão apresentadas as atividades de lacases na fração líquida, onde pode ser determinada a quantidade de lacases que não ficou imobilizada nas partículas. A partir disso, pode-se observar que as enzimas imobilizadas de *Pycnoporus sanguineus* se mantiveram mais estáveis durante o teste.



**Figura 1.** Absorbância referente a oxidação do ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) pelas enzimas imobilizadas nas partículas magnéticas (A) e atividade de lacases da fração líquida (B).

Na Figura 2 estão apresentados as concentrações de diclofenaco e paracetamol no controle e após a ação das enzimas livres e imobilizadas. Para a degradação do diclofenaco, ambas apresentaram mesmo comportamento, porém os valores de degradação com a enzima imobilizada foram baixos quando comparados com a enzima livre. Já para o paracetamol a enzima imobilizada foi efetiva apenas no primeiro ciclo. Também, foi avaliada a influência do tempo na degradação dos fármacos, no qual foram realizados ciclos de 24 horas, onde foi possível observar que o tempo não influencia na ação da enzima.



**Figura 2.** Concentração de diclofenaco (A) e paracetamol (B) em testes com enzima livre e imobilizada de *P. sanguineus*.

# **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir do cultivo dos diferentes isolados de fungos, foram obtidas diferentes atividades enzimáticas e estas apresentaram resultados positivos quando avaliadas na degradação do diclofenaco e paracetamol quando foi utilizada a enzima livre.

Diante dos resultados, observou-se que é possível imobilizar as fenol-oxidases, porém a ação destas enzimas não é eficiente nesta condição, quando comparado com a enzima livre. Desta forma, novos testes devem ser realizados, a fim de avaliar a viabilidade da imobilização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Wolfenden, R.S., Wilson, R.L. 1982. J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 02, 805-812

Silveira, T.R.; Ebling, C.D.; Dal Magro, L.; Rodrigues, R,C.; Schneider, W.D.H.; Camassola, C.; Menezes, E.W.; Meneguzzi, A.; Klein, M.P. 2020. Biocatal. Agric. Biotechnol. 30: 101859.





