

# Avaliação espectrofotométrica e por HPLC-DAD da ação das ligninases produzidas por *Pycnoporus sanguineus* sobre o corante Orange II.

Roberto J. Y. Fujida<sup>1</sup>(IC), Eleni Gomes<sup>2</sup>(PQ), Mauricio Boscolo<sup>1\*</sup>(PQ).

<sup>1</sup>Departamento de Química e Ciências Ambientais –Ibilce-Unesp– Campus de São José do Rio Preto, SP.  
\*boscolo@ibilce.unesp.br.

<sup>2</sup>Departamento de Biologia – Ibilce-Unesp – Campus de São José do Rio Preto, SP.

Palavras Chave: azo corantes, orange II, ligninases.

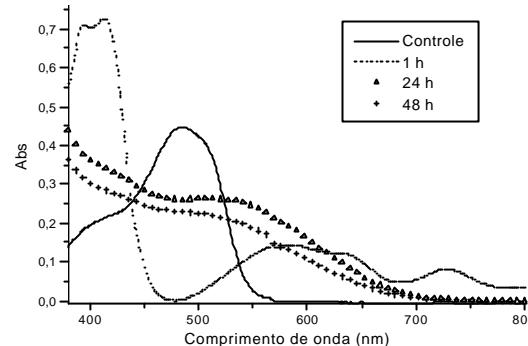
## Introdução

Os azo corantes constituem uma grande classe de corantes sintéticos e são caracterizados pela presença de um ou mais grupamentos (-N=N-) ligados a sistemas aromáticos<sup>1</sup>. Os fungos basidiomicetos apresentam um interessante complexo enzimático ligninolítico (lacase, Mn-P e lignina peroxidase) e têm demonstrado boa eficiência na degradação de corantes sintéticos e com alto potencial de ação na recuperação de ambientes contaminados. Estudos demonstram que a capacidade destes fungos em degradar corantes sintéticos está relacionada com a similaridade estrutural desses compostos com a lignina, e assim constituindo uma forma promissora para remediação de efluentes industriais<sup>2,3,4</sup>. Através da biotransformação destes azo corantes, outros compostos potencialmente tóxicos podem ser gerados como aminas, benzidinas e outros compostos intermediários com potencialidade carcinogênica. Assim, foi realizada uma avaliação da ação das ligninases produzidas por *Pycnoporus sanguineus* sobre o corante Orange II.

## Resultados e Discussão

A avaliação do potencial de degradação do azo corante Orange II [10 mg/L] pelo extrato enzimático bruto do fungo *Pycnoporus sanguineus* após a primeira semana de cultivo em farelo de trigo foi realizada *in vitro*, a temperatura ambiente na ausência de luz, em tampão acetato pH 3,5 e ABTS (mediador da lacase). A reação foi monitorada por espectrofotometria (380-800nm) e HPLC-DAD ( $C_8$ , 25x4,6x5μm); fluxo de 0,5mL/min composto de tampão fosfato 3mM, pH 7 e acetonitrila em gradiente de 15% a 60% em 40 min mantido por 5 minutos; vol. de injeção: 20μL.

Após uma hora de reação, a banda em 485 nm referente ao Orange II diminui 99.5% (Figura 1), e é possível observar o surgimento de uma banda em 420 nm referente ao ABTS<sup>+</sup> resultante da ação enzimática. Entretanto, com o decorrer da reação, houve uma alteração das características espectrais da solução,



indicando uma possível perda da capacidade oxidativa da lacase sobre o ABTS.

**Figura 1.** Espectros eletrônicos da reação em pH 3,5 mais ABTS após 1, 24 e 48 horas de reação.

A análise por HPLC-DAD nos tempos de reação, mostrou que o pico referente ao corante ( $t_r = 23,9$  min e  $\lambda_{max} 485\text{nm}$ ) diminuiu significativamente a partir de 1 h de reação. Por outro lado, novos picos observados entre 8 e 10 min com  $\lambda_{max} 220-258\text{nm}$ .

## Conclusões

As enzimas produzidas pelo fungo basidiomiceto *P. sanguineus* utilizado neste trabalho possuem potencial para aplicação no tratamento de resíduos industriais, principalmente de indústrias têxteis, devido à degradação do corante estudado. Porém deve-se atentar aos possíveis produtos formados, que podem inviabilizar o processo. De acordo com os dados cromatográficos e seus respectivos espectros obtidos pelo DAD, o surgimento de picos com  $\lambda_{max}$  230-250nm indica a formação de compostos aromáticos de menor peso molecular comparados ao Orange II, possivelmente aminas resultantes da degradação deste corante. Neste caso, a biorremediação dos azo corantes pela ação enzimática do extrato de *Pycnoporus sanguineus* deve ser reavaliada em função dos produtos oriundos de sua ação.

## Agradecimentos

À FAPESP, processo 06/01092-2.

<sup>1</sup>Kunz, A.; Zamora-Peralta, P.; Moraes, G. A. S.; Durán, N. Quim. Nova. **2001**, v. 25, 78,82. <sup>2</sup>Chet, I.; Trojanowski, J.; Huttermann, FEMS Microbiology Letters. **1985**, v. 29, .37,43. <sup>3</sup>Kirk, T. K.; Farrell, R. L. Annual Review of Microbiology. **1987**, v. 41, 465,505. <sup>4</sup>Davis, S., Burns, R. G. Applied Microbiology and Biotechnology. **1990**, v. 32, 721,726.