



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Uso de Biomassa Fúngica para Remoção de Fármacos

Caroline Aparecida Vaz de Araujo¹, Elidiane Andressa Rodrigues¹, Giselle Maria Maciel², Camila Gabriel Kato¹, Aline Cristine da Silva de Souza¹, Bruna Polacchine da Silva¹, Geferson de Almeida Gonçalves, Verônica Sayuri Nishida, Cristina Giatti Marques de Souza¹

¹Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Bioquímica CEP 87020-900 Maringá – Paraná - E-mail: (carolinearaujo1703@gmail.com)

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Departamento de Química e Biologia CEP 80230-901 Curitiba – Paraná

RESUMO

*Este estudo avaliou a capacidade biossorbitiva do basidiomiceto *Trametes sp* em absorver os antibióticos trimetoprima sulfametoxazol, que são conhecidos por serem resistentes a biodegradação. As culturas foram feitas utilizando biomassa tratada com o calor e/ou com soluções ácida (HCl 0.1 M), básica (NaOH 0.1M) e salina (NaCl 0.1 M) em 50 mg/L de trimetoprima e sulfametoxazol sob agitação por 24 horas. A maior quantidade de trimetoprima adsorvida foi com a biomassa tratada apenas com o calor (53,62%) enquanto que para o sulfametoxazol foi com a biomassa submetida ao tratamento com solução básica (35,74%). A redução da quantidade dos fármacos foi observada por análises em HPLC.*

Palavras-chave: biossorção, fármacos, fungo da podridão branca da madeira.

INTRODUÇÃO

Muitos estudos em diferentes países relatam a ocorrência de fármacos e hormônios estrógenos em águas superficiais, efluentes e lodos de estações de tratamento de esgoto e águas subterrâneas, com concentrações variando geralmente na faixa de ng/L a µg/L (Silva et al., 2011). São considerados micropoluentes, porque não são eliminados eficientemente nas estações de tratamento de esgotos convencionais. Apesar de serem micropoluentes, a entrada contínua pode levar a exposição crônica de baixo nível e acumulação com efeitos negativos potenciais em seres humanos e no ambiente (Lloret et al., 2010), como por exemplo, o surgimento de bactérias resistentes e recombinantes mais patogênicas.

O sulfametoxazol (SMX) e o trimetoprima (TMP) exibem atividade antimicrobiana de amplo espectro, geralmente empregados de maneira conjunta (ex. Bactrim e Infectrin). São encontrados frequentemente em águas residuais e são bastante resistentes aos tratamentos biológicos mais utilizados nas estações de tratamento de esgoto (Valcárcel et al., 2011). Ambos foram classificados como compostos de alto risco e de elevada relevância ambiental devido à ocorrência em águas superficiais e ecotoxicidade (Besse & Garric, 2008).

Várias formas de tratamento são propostas para reduzir a presença dessas substâncias em ambientes aquáticos, no entanto, é importante avaliar não somente a eficácia do tratamento de degradação, mas também a capacidade de eliminar a sua atividade farmacológica. Bioprocessos são opções tecnológicas competitivas economicamente com propriedades atraentes, como consumo energético reduzido e eficiência em condições moderadas de pH, temperatura e força

ônica (Torres et al., 2003). O uso de basidiomicetos, como os da podridão branca, e/ou suas enzimas como agentes de biodegradação de fármacos pode ser uma alternativa promissora. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial biossorbitivo da biomassa fúngica de *Trametes* sp em reduzir a quantidade dos agentes antimicrobianos trimetoprima (TMT) e sulfametoxazol (SMZ), que são frequentemente encontrados em águas residuais.

MATERIAL E MÉTODOS

Condições de Cultura

Cinco discos de micélio (15 mm) obtidos de placas com batata dextrose agar (BDA) foram transferidos para frascos Erlenmeyer (250 mL) com 50 mL de meio de batata dextrose (BD). Os frascos foram incubados por 5 dias a 28°C e sob agitação de 120 rpm. Os pellets foram colhidos assepticamente, lavados com água destilada e foram autoclavados a 121°C por 15 minutos. Após a autoclavagem, parte dos pellets ficaram imersos em soluções ácida (HCl 0,1 M), básica (NaOH 0,1 M) e salina (NaCl 0,1 M) por 1 h e posteriormente lavados sucessivamente. Aproximadamente 73 mg de peso seco foram colocados em frascos Erlenmeyer (125 mL) contendo 50 mg/L de TMT E SMZ e deixados por 24 h em agitação de 120 rpm a 28°C. O material foi filtrado em bomba a vácuo e centrifugado (10 min, 10.000 x g, 4 °C). Os cultivos foram realizados em duplicata.

Análise de Biossorção por HPLC

A análise da quantidade de TMT e SMZ adsorvidos foi feita em cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As amostras foram filtradas (0,2 mm, Millipore, Bedford, MA) e injetadas em um sistema aparelho Shimadzu, coluna de 5 mm C18 120 Å (4,6 mm x 250 mm) e com detector equipado com arranjo diodo e com software LC-Solution. A coluna foi mantida a 40 ° C durante toda a análise e a detecção foi em 265 nm. Para análise isocrática, a fase móvel usada foi uma mistura de ácido fórmico-acetonitrila a 77:23 (v/v) com um vazão de 0,5 mLmin⁻¹ e o volume de injeção de 10 µL. A quantidade de fármacos adsorvido no micélio (mg/g de biomassa seca) foi calculada de acordo com a equação (Pimental, 1995):

$$q = (C - C_0) \times V / m$$

onde:

q = quantidade de corante adsorvido em uma unidade de biomassa (mg/g)

C₀ e C = concentração de corante na solução inicial (mg/L) e após a biossorção

V = volume da solução de corante

m = quantidade de biomassa (g) utilizada no experimento

Análise Estatística

Os dados foram submetidos ao teste ANOVA e comparados pelo teste Tukey (p < 0,05) usando o programa GraphPad Prism® (Graph Pad Software, San Diego, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O potencial de *Trametes* sp em processos biossorbitivos para a remoção de trimetoprima e sulfametoxazol foi avaliado submetendo a biomassa a 4 tipos de tratamentos. De acordo com os resultados, houve um aumento significativo na capacidade biossorbitiva para TMT com a

biomassa tratada apenas com o calor (adsorção de 53,62%) quando comparado com os tratamentos submetidos à solução ácida e salina (adsorção 37,45% e 39%, respectivamente). Não houve diferença significativa para a adsorção de SMZ, sendo que a maior adsorção ocorreu quando a biomassa foi tratada com solução básica (35,74%). Em geral, a biomassa fúngica teve maior absorção do antibiótico TMT (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de biossorção em % e mg/g de biomassa seca de trimetoprima (TMT) e sulfametoxazol (SMZ) a 50 mg/L.

Tipos de Tratamentos	Biossorção (%) TMT	mg de TMT adsorvido/g de biomassa seca	Biossorção (%) SMZ	mg de SMZ adsorvido/g de biomassa seca
Calor	53,62	26,81	29,60	14,80
NaOH	41,29	20,64	35,74	17,87
HCl	37,45	18,72	32	16
NaCl	39	19,50	29,62	14,81

A diferença na quantidade dos fármacos adsorvidos na biomassa fúngica pode ser atribuída às mudanças ocorridas na parede celular do micélio. Adsorção de solutos a partir de soluções ou matérias sólidos em suspensão (adsorventes) ocorre principalmente através de um dos seguintes mecanismos: troca de moléculas a partir da solução ao adsorvente, adsorção física, devido à forças de van der Waals e quimissorção (Bhole et al., 2004).

As análises em HPLC mostraram que o tempo de retenção para TMT foi de aproximadamente 5 minutos e para SMZ de 10 minutos. As análises mostraram a redução da quantidade dos antibióticos nas culturas de *Trametes* sp após o estudo de biossorção em 24 horas (Figura 1).

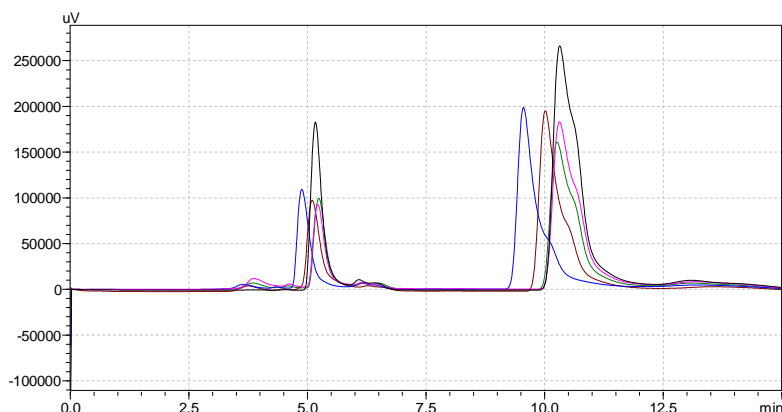


Figura 1. Cromatografia dos filtrados após 24 horas de cultura com *Trametes* sp mostrando a redução da quantidade dos fármacos, padrões trimetoprima e sulfametoxazol (—), biomassa



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

tratada apenas com o calor (–), com solução ácida (–), solução básica (–) e solução salina (–).

CONCLUSÕES

Os resultados mostram que para a melhor remoção de trimetoprima por meio de biossorção é a utilização da biomassa tratada apenas com o calor. Para a remoção de sulfametoxazol não há diferença significativa nos diferentes tipos de tratamentos, porém a biomassa tratada com solução básica adsorveu mais este fármaco. Sendo assim, *Trametes* sp pode ser utilizado como biossorvente no tratamento complementar de águas residuais contendo este tipo de poluente.

Agências de Fomento: CNPq, Capes

REFERÊNCIAS

- BESSE, J.-P., GARRIC, J. Human pharmaceuticals in surface waters implementation of a prioritization methodology and application to the french situation. **Toxicology Letters**, 176(2), 104-123, 2008.
- BHOLE, B.D., GANGULY, B., MADHURAM, A., DESHPANDE, D., JOSHI, J. BIOSORPTION OF METHYL VIOLET, BASIC FUCHS IN AND THEIR MIXTURE USING DEAD FUNGAL BIOMASS, **CURR. SCI.** 86 (12) 1641–1645, 2004.
- LLORET, L., EIBES, G., LU-CHAU, T.A., MOREIRA, M.T., FEIJOO, G., LEMA, J.M. Laccase-catalyzed degradation of anti-inflammatories and estrogens. **Biochemical Engineering Journal**, 51(3), 124-131, 2010.
- PIMENTEL, D. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. **J. Agric. Environ. Ethics** 8, 17–29, 1995.
- SILVA, B.F.D., JELIC, A., LÓPEZ-SERNA, R., MOZETO, A.A., PETROVIC, M., BARCELÓ, D. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the ebro river basin. **Chemosphere**, Espanha 85(8), 1331-1339, 2011
- TORRES, E., BUSTOS-JAIMES, I., LE BORGNE, S. Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants. **Applied catalysis b-environmental**, 46(1), 1-15, 2003.
- VALCÁRCEL, Y., GONZÁLEZ ALONSO, S., RODRÍGUEZ-GIL, J.L., GIL, A., CATALÁ, M. Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the madrid region (spain) and potential ecotoxicological risk. **Chemosphere**, 84(10), 1336-1348, 2011.