TRATAMENTO DO EFLUENTE DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA COM OS FUNGOS SELECIONADOS: Pycnoporus sanguineus e Trametes versicolor.

WATANABE, Renata Alberto de Morais¹; **JUNIOR**, Hélio Mendes de Oliveira²; **GARCIA**, Telma Alves³; **SANTIAGO**, Mariângela Fontes⁴

Palavras-chave: tratamento, efluente, fungo e lacase

1. INTRODUÇÃO

Sabe-se que a indústria farmacêutica é uma das que contribui ao processo de contaminação ambiental através de seus resíduos gerados, principalmente durante os processos de síntese de fármacos que utilizam uma gama de compostos halogenados, tanto como reagentes, solventes ou intermediários. O uso de fungos capazes de degradar compostos orgânicos parece ser um método bastante promissor para o tratamento desse efluente, em particular, os fungos de decomposição branca que possuem um sistema enzimático capaz de tolerar altas concentrações de poluentes tóxicos. A lacase é uma polifenoloxidase produzida por diversos fungos, plantas e bactérias. A enzima é uma glicoproteína, que contém cobre no seu sítio ativo e catalisa a redução do O_2 para a água com simultânea oxidação de substratos fenólicos (NEW et al., 2000). O objetivo desse trabalho é realizar o tratamento do efluente de uma indústria farmacêutica e comparar seus parâmetros físico-químicos e biológicos antes e após o tratamento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

- <u>2.1 Microrganismos utilizados</u> Os microrganismos utilizados no estudo foram o *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor*. Ambas as cepas foram cedidas pela Fundação Tropical André Tosello (Campinas, SP).
- <u>2.2 Coleta do efluente</u> A coleta foi realizada em uma indústria farmacêutica na região de Anápolis, Goiás, Brasil, e o efluente armazenado sob refrigeração à aproximadamente 4°C.
- 2.3 Meio de cultura para o crescimento do fungo Agar Batata
- 2.4 Tratamento Método modificado descrito por Santiago, 1999
- <u>2.5 Análise de parâmetros físico-químicos e biológicos do efluente industrial</u> Estes parâmetros serão analisados antes, durante e após os tratamentos dos efluentes feitos pelos microrganismos, tomando-se como referência a legislação ambiental brasileira vigente.
- <u>2.6 Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio DBO e Demanda Química de Oxigênio As análises de DBO e DQO foram realizadas usando o método padrão APHA (1992).</u>
- <u>2.7 Determinação de sólidos totais</u> O teor de sólidos totais no efluente foi determinado pelo método padrão APHA (1992).
- <u>2.8 Determinação do teor de cinzas</u> O teor de cinzas foi determinado pelos métodos modificados SILVA (1995) e Instituto Adolfo Lutz (1985).
- <u>2.9 Determinação de cor do efluente</u> A cor foi medida de acordo com o método padrão CPPA (1975).
- <u>2.10 Determinação de fenóis totais</u> A quantidade de fenóis totais foi determinada calorimetricamente, conforme o procedimento padrão de Folin-Ciocalteu (APHA, 1992).
- 2.11 Determinação da atividade enzimática da Lacase antes e após o tratamento com microrganismos (SZKLARZ et al., 1989-modificado) A atividade enzimática da Lacase foi determinada, em duplicata utilizando-se seringaldazina como substrato enzimático. A mistura de reação foi de 300µL de tampão acetato de sódio 0.05 mol/L (pH = 5.0), 600µL de filtrado

(previamente filtrado e centrifugado a uma velocidade de 12.000 rpm durante 15 minutos a 4°C) e 100μL de seringaldazina 1 mol/L.

<u>2.12 - Ensaios de toxicidade</u> - Será avaliado através do ensaio de toxicidade de *Artemia salina* (McLAUGHLIN *et al.*, 1995)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O quadro 1 mostra que há diminuição da massa dos sólidos totais até 72h de tratamento e há uma diminuição da quantidade de fenóis a partir de 72h. E as amostras controles de ambos os parâmetros citados se mantiveram constantes. Na amostra 1 tratada e nos seus controles houve aumento da quantidade de cinzas provavelmente pela formação de produtos de degradação do funço.

Parâmetro	Sem	24h após	48h após	72h após	96h após
	tratamento	Tratamento	tratamento	tratamento	tratamento
Sólidos	2,9g	2,5g	1,7g	1,2g	1,8g
PH	5,42	3,75	3,20	5,56	6,06
Fenóis	12,33mg/L	12,63mg/L	12,31mg/L	8mg/L	11,17mg/L
Lacase Após	0,0416 Abs/	0,106 Abs/	0,00633 Abs /	0,10 Abs/	0,3436 Abs/
3 min	min	min	min	min	min
Lacase Após	0,023 Abs/	0,0636 Abs/	0,0029 Abs/	0,12 Abs/	0,24 Abs/
5 min	min	min	min	min	min

Quadro 1 : Dados referentes à determinação dos parâmetros da amostra 1 tratado com o fungo *Pycnoporus sanguineus*.

- yerrepertus sun outreus.								
Parâmetro	Sem	24h de	48h de	72h de	96h de			
	tratamento	tratamento	tratamento	tratamento	tratamento			
pН	5,89	3,38	3,78	4,23	5,95			
Cor	319,15 UC	224,43 UC	468,75 UC	519,88 UC	367,42 UC			
Lacase após	0,0016Abs/	0,0082 Abs/	0,021 Abs/	0,068 Abs/	0,566 Abs/			
3 min	min	min	min	min	min			
Lacase após	0,0012 Abs/	0,0053 Abs/	0,022 Abs/	0,072 Abs/	0,495 Abs/			
5 min	min	min	min	min	min			

Quadro 2: Dados referentes à determinação dos parâmetros da amostra 2 tratado com o fungo *P. sanguineus*.

Nas amostras 1 e 2 houve aumento significativo da cor, provavelmente pela produção de pigmentos pelo fungo (a metodologia deve ser revista). O pH das amostras tratadas em ambos os efluentes sofreu uma queda e após 48h, uma alcalinização.

Nos dois efluentes a maior produção de lacase foi em 96h de tratamento e em suas amostras controle essa produção foi nula. Na amostra 1 o valor de DBO foi de 3.400mg/L O₂ antes do tratamento e 1.200mg/L O₂ depois de 96h de tratamento, e a DQO foi de 4.357,5mg/L O₂ e 2.130mg/L O₂, respectivamente. A amostra 1 tratada com o fungo Trametes versicolor manteve seu pH constante. Houve uma diminuição da cor, mostrando que a metodologia nesse caso foi adequada. A sua produção de lacase foi maior e mais rápida que a do *P. sanguineus*, sendo superir a 1,653Abs/min após 1min e 30s do início da reação enzimática. Além disso, o *T. versicolor* se mostrou superior também na quantidade de fenóis degradada. No teste de toxicidade houve uma média de 8 larvas vivas na amostra 1 tratada e somente 2 mortas. Enquanto que no efluente sem tratamento houve 6 larvas vivas e 4 mortas, sugerindo que o tratamento diminui a toxicidade do efluente.

O gráfico mostra que em todos os tempos, na amostra 1 tratada houve degradação de moléculas complexas, sendo que o melhor resultado ocorreu após 48h de tratamento.

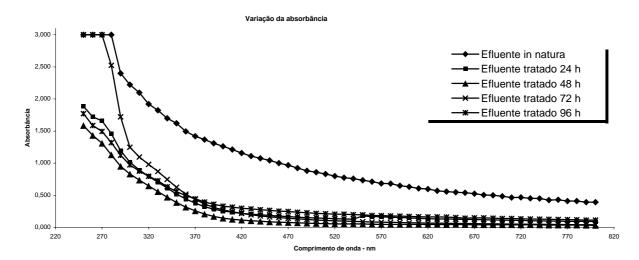


Gráfico 1: Dados referentes a variação de absorbância da amostra 1 tratada com o fungo *Pycnoporus sanguineus*.

4. CONCLUSÃO

Concluímos que os fungos *Pycnoporus sanguineus* e *Tramates versicollor* são bons produtores da enzima lacase e conseqüentemente são capazes de tratar o efluente da indústria farmacêutica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALT ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17. ed. APHA. Washington, DC, 1992

CCPA. Technical Section Standart Method H5P, 1975.

McLAUGHLIN J. L.; COLMAN-SAIZARBITORIA T.; ANDERSON J. E. Tres bioensayos simples para quimicos de productos naturales. **Revista de la Sociedad Venezolana de Química**, 18 (4): 13-18 (1995).

NEW, A. P. Analytical tecniques use for monitoring the biodegradation of Flourinated compounds in waste streams fron pharmaceutical production. **Journal Chromotografy A**, 889(1-2): 177-84, aug. 2000.

SANTIAGO, M. F. Estudo de substâncias de baixa massa molar que mimetizam as fenoloxidases com aplicações em tratamento de efluentes industriais. Tese de doutorado – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

SILVA, F. T. Obtenção de insumos químicos a partir do aproveitamento integral do bagaço de cana. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

SZKLARZ, G. D.; ANTIBUS, R. K.; SINSABAUGH, R. L.; LINKINS, A. E. Production of phenoloxidases and peroxidases by wood-rotting fungi. **Mycology**, 81: 234-240, 1989.

FONTE DE FINANCIAMENTO - CNPq/PIBIC - IFS - SECTEC

¹ Iniciação científica/PIVIC, Laboratório de Enzimologia, Faculdade de Farmácia/UFG, <u>rewfarm@yahoo.com.br</u>
² Bolsista de iniciação científica. Faculdade de Farmácia, Laboratório de Enzimologia, <u>heliojunior10@yahoo.com.br</u>

³ Doutoranda/ Instituto de Ciências Biológicas/Laboratório de Enzimologia, telma@farmacia.ufg.br

⁴ Orientadora/Faculdade de Farmácia/UFG, mfs@farmacia.ufg.br