

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

WATANABE, Renata Alberto de Moraes¹; JUNIOR, Hélio Mendes de Oliveira²; SALES, Paulo de Tarso Ferreira³; GARCIA, Telma Alves⁴; SANTIAGO, Mariângela Fontes⁵

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 O₂ 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 com os fungos *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor* e determinar as características químicas e biológicas antes e após o tratamento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Microrganismos utilizados - Os microrganismos utilizados no estudo foram o *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor*. Ambas as cepas foram cedidas pela Fundação Tropical André Tosello (Campinas, SP).

2.2 - Coleta do efluente - 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.

2.5 - Análise química e biológica do efluente industrial - Esses parâmetros serão analisados antes e após os tratamentos dos efluentes feitos pelos fungos.

2.5.1 - Determinação de sólidos totais - APHA (1992).

2.5.2 - Determinação do teor de cinzas - SILVA (1995) e Instituto Adolfo Lutz (1985)

2.5.3 - Determinação de cor do efluente - CPPA (1975).

2.5.4 - Determinação de fenóis totais - Procedimento padrão Folin-Ciocalteu (APHA, 1992).

2.5.5 - Determinação da atividade enzimática da Lacase (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.

2.5.6 - Determinação da atividade enzimática da Manganês-peroxidase - KUWAHARA *et al.*, 1984.

2.5.7 - Determinação da atividade enzimática da Lignina-peroxidase - TIEN e KIRK, 1984.

2.5.8 - Ensaios de toxicidade - Será avaliado através do ensaio de toxicidade de *Artemia salina* (McLAUGHLIN *et al.*, 1995).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse trabalho foram realizados os tratamentos das amostras 1, 2 e 3 com o fungo *Pycnoporus sanguineus* e também foi feito o tratamento da amostra 1 com o fungo *Trametes versicolor*, sendo o experimento realizado nas mesmas condições para os dois fungos em estudo. As tabelas 1 e 3 mostram que há diminuição da massa dos sólidos totais até 72h de tratamento. Já na amostra 2 (Tabela 2), percebe-se uma diminuição constante dessa matéria

orgânica. E nas amostras controles esses valores se mantiveram constantes. Nas amostras 1 e 2 tratadas (dados não demonstrados) e nos seus controles houve aumento da quantidade de cinzas provavelmente pela formação de produtos de degradação do fungo. Já na amostra 3 tratada, têm-se uma diminuição das cinzas em 96 horas e nas amostras controle, a quantidade de cinzas é maior em 24h e 72h de tratamento.

Parâmetro	Sem tratamento	24h após Tratamento	48h após tratamento	72h após tratamento	96h após 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

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

Parâmetro	Sem tratamento	24h de tratamento	48h de tratamento	72h de tratamento	96h de tratamento
Sólidos	8,5g	3,0g	2,5g	2,0g	1,0g
pH	5,89	3,38	3,78	4,23	5,95
Fénois	21,07 mg/L	17,97 mg/L	15,50 mg/L	15,13 mg/L	11,63 mg/L

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

Parâmetro	Sem tratamento	24h de tratamento	48h de tratamento	72h de tratamento	96h de tratamento
Sólidos	6,0g	5,5g	4,5g	2g	5,5g
pH	4,53	4,39	4,70	5,12	5,38
Fénois	26,92 mg/L	13,82 mg/L	11,39 mg/L	17,14 mg/L	14,68 mg/L

Tabela 3: Dados referentes à determinação dos parâmetros da amostra 3 tratada com o fungo *P. sanguineus*.

O pH das amostras 1 e 2 tratadas (Tabelas 1 e 2) sofreu uma alcalinização após 48 horas. Na amostra 3 (Tabela 3), essa alcalinização foi constante. Na amostra 1 tratada (Tabela 1), há uma diminuição da quantidade de fenóis a partir de 72 horas de tratamento. Já na amostra 2 tratada (Tabela 2), a concentração de fenóis reduz ao longo do mesmo e esses valores, assim como na amostra 3 (Tabela 3) são bem menores que o observado no efluente in natura. Em todas as amostras houve aumento significativo da cor durante o tratamento, provavelmente pela produção de pigmentos pelo fungo.

Produção de Lacase - Amostras 1, 2 e 3 - *Pycnoporus sanguineus*

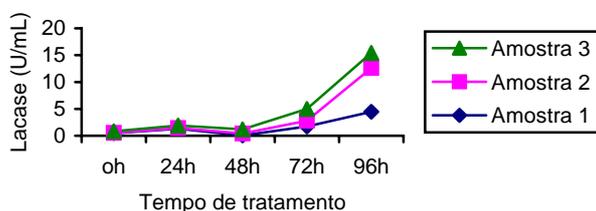


Gráfico 1: Dados referentes à determinação de lacase das amostras 1, 2 e 3 com o fungo *P. sanguineus*.

Nas três amostras a maior produção de lacase (Gráfico 1) foi em 96h de tratamento e em suas amostras controle essa produção foi nula. 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*. Além disso, o *T. versicolor* se mostrou superior também na quantidade de fenóis degradada. A maior produção de manganês peroxidase na amostra 2 pelo fungo *P. sanguineus* foi em 96h e na amostra 1 pelo fungo *T. versicolor* foi em 72h de tratamento. A produção de manganês peroxidase nas amostras 1 e 3 tratadas com *P. sanguineus* foi nula. O mesmo foi observado na produção de lignina peroxidase nas amostras 1, 2 e 3 com o fungo *P. sanguineus* e na amostra 1 tratada com o fungo *T. versicolor*. Em relação aos testes de toxicidade com *Artemia salina*, a amostra 2 tratada com o fungo *Pycnoporus sanguineus* e a amostra 1 tratada com ambos os fungos, mostraram que há uma média de 70% larvas vivas e somente 30% mortas. Na amostra 3 tratada, a média de larvas vivas é de 40%. Já na amostra 1 sem tratamento 60% das larvas sobreviveram e 40% morreram, e nas amostras 2 e 3 sem tratamento 20% das larvas estavam vivas e 80% mortas, sugerindo que o tratamento diminui a toxicidade do efluente.

4. CONCLUSÃO

Diante dos resultados, conclui-se que os fungos *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor* são bons produtores da enzima lacase e conseqüentemente poderão ser utilizados num futuro próximo para tratar os efluentes industriais diminuindo seu impacto ambiental.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

CCPA. Technical Section Standart Method H5P, 1975.

KUWAHARA, M. *et al.* Separation and Characterization of two extra cellular H₂O₂ dependent oxidizes from ligninolytic Cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. **FBS Lett**, 169: 247-250, 1984.

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

NEW, A. P. Analytical techniques use for monitoring the biodegradation of Fluorinated compounds in waste streams from 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 fenoloxidasas 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 phenoloxidasas and peroxidases by wood-rotting fungi. **Mycology**, 81: 234-240, 1989.

TIEN, M.; KIRK, K. Lignin degrading Enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: Purification Characterization and Catalytic Properties of a Unique H₂O₂ requiring Oxygenizes. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, 81: 2280-2284, 1984.

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/PIBIC - IFS - SECTEC

¹ Iniciação científica/PIVIC, Laboratório de Enzimologia, Faculdade de Farmácia/UFG, nanatiwatanabe@yahoo.com.br

² Bolsista de iniciação científica. Faculdade de Farmácia, Laboratório de Enzimologia, heliojunior10@yahoo.com.br

³ Mestrando do PPGEMA, Laboratório de Enzimologia, Faculdade de Farmácia/UFG, paulogyn8@hotmail.com

⁴ Doutoranda/ Instituto de Ciências Biológicas/Laboratório de Enzimologia, telma@farmacia.ufg.br

⁵ Orientadora/Faculdade de Farmácia/UFG, mfs@farmacia.ufg.br