



## **REDUÇÃO DA QUANTIDADE DE FÁRMACOS EM SOLUÇÕES AQUOSAS POR *Pleurotus ostreatus***

Elidiane Andressa Rodrigues (PIBIC/CNPq/UEM), Caroline Ap. Vaz de Araujo, Cristina Giatti Marques de Souza (Orientador), e-mail: cgmsouza@uem.com.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR.

### **Ciências Biológicas – Bioquímica dos Microrganismos**

**Palavras-chave:** biorremediação, sulfametoxazol, trimetoprima.

#### **Resumo:**

Este estudo avaliou a capacidade de *P. ostreatus* reduzir os antibióticos sulfametoxazol e trimetoprima, que são conhecidos por serem resistentes a tratamentos convencionais. Os cultivos foram realizados em meio 1% de extrato de farelo de trigo contendo 50mg/L de SMZ e TMT e sais de Vogel. A principal enzima produzida foi a lacase (413,48 U/L), após 15 h. Manganês peroxidase também teve sua maior atividade neste tempo (99,22 U/L). A redução dos antibióticos após o cultivo do fungo foi avaliada por HPLC. *P. ostreatus* foi mais eficiente na redução de SMZ (76,46%). A redução de TMT foi de aproximadamente 3,5 vezes menor do que a redução do SMZ. Os resultados mostram que o basidiomiceto estudado tem potencial para ser utilizado em processos de biorremediação.

#### **Introdução**

Nos últimos anos, estudos demonstram a presença constante de fármacos em ambientes aquáticos. Entre os diversos efeitos negativos, os mais preocupantes são os de bioacumulação e o surgimento de bactérias resistentes e recombinantes (Stuart et al., 2012).

Várias alternativas são propostas para eliminar a atividade farmacológica, devido à dificuldade de degradação desses compostos nos processos de tratamentos convencionais da água. Uma alternativa é o tratamento biológico. A biorremediação tem se destacado por ser um processo ecologicamente correto, não usar substâncias químicas, ter baixo custo e ser eficiente (Schmidt et al., 2003).



A utilização de basidiomicetos, como os fungos da podridão branca da madeira, tem se destacado devido à suas enzimas ligninolíticas serem capazes de degradar compostos xenobióticos e recalcitrantes incluindo determinados fármacos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a redução dos antimicrobianos trimetoprima (TMT) e sulfametoxazol (SMZ) em meio de cultura com *Pleurotus ostreatus*.

### **Materiais e métodos**

**Cultivos:** Os cultivos foram realizados em frascos de 125 mL contendo 1% de extrato de farelo de trigo, 50 mg/L de TMT e SMZ e meio mineral. O material foi esterilizado a 120°C e 1 atm, exceto os antimicrobianos que foram acrescentados antes do inóculo. Os cultivos foram inoculados com 3 discos de micélio ( $\varnothing$ 2 cm) e permaneceram em estufa a 28°C por 10, 15, 20, 25, 30 e 35 dias. Cultivos sem os fármacos foram utilizados como controle. Para a interrupção, os cultivos foram filtrados e centrifugados.

**Análises espectrofotométricas:** A atividade da lacase foi determinada utilizando-se ABTS em pH 4,5 (Hou et al., 2004). Os açúcares redutores liberados foram estimados pelo método do DNS (Miller, 1959). A atividade de Mn peroxidase foi determinada utilizando-se metodologia descrita em Wariishi et al., 1992. As absorbâncias foram lidas utilizando espectrofotômetro UV-visível - Shimadzu.

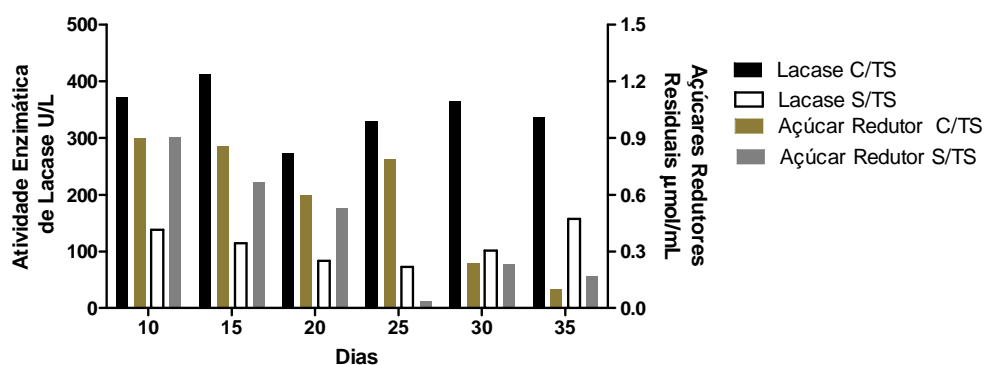
**HPLC:** A análise da redução na concentração dos fármacos após o tratamento fúngico foi realizada em HPLC usando um sistema LC-20AT Shimadzu (Shimadzu, Tokyo). As amostras foram analisadas em condição isocrática, fase móvel contendo ácido fórmico-acetonitrila (77:23;v/v) e fluxo de 0,5 ml/min.

### **Resultados e Discussão**

*Pleurotus ostreatus* se desenvolveu bem nas condições testadas, sendo que os cultivos contendo os fármacos tiveram maior produção enzimática tanto de lacase como de MnP. Nos meios com os fármacos, a maior produção de lacase ocorreu em 15 dias (413,48 U/L) sendo 3 vezes maior que nos cultivos controle (114,19 U/L) como pode ser observado na figura 1. De uma forma geral, os açúcares redutores do cultivo parecem não interferir na expressão enzimática da lacase. A atividade de MnP teve sua maior produção no período de 15 dias (99,22 U/L). Nos cultivos controle foi observada baixíssima quantidade desta enzima.



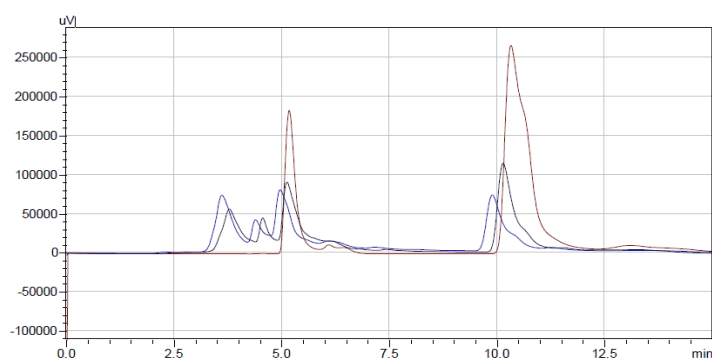
Os resultados mostram que os fármacos agiram como indutores da produção destas duas o que sugere uma ação enzimática sobre os fármacos uma vez que a análise por HPLC mostrou a redução dos antimicrobianos nos cultivos.



**Figura 1** - Atividade enzimática de lacase e açúcares redutores residuais dos cultivos com fármacos (C/TS) e na ausência deles (S/TS).

**Tabela 1:** Redução dos fármacos trimetoprima (TMT) e sulfametoxazol (SMZ) nos cultivos com *Pleurotus ostreatus*

Dias	Redução de TMT (%)	Redução de TMT (mg/L)	Redução de SMZ (%)	Redução de SMZ (mg/L)
10	21,35	10,67	70,78	35,38
15	27,63	13,81	76,46	38,23



**Figura 2** - Cromatograma representativo das análises em HPLC. Controle com padrões (—), em que no tempo de retenção 5 min indica o TMT e 10 min o SMZ. Cultivos com fármacos no período de 10 dias (—) e período de 15 dias (—).



Os picos nos tempos de retenção 5 e 10 minutos indicam o TMT e SMZ, respectivamente. Os demais picos indicam os componentes do meio de cultivo (Figura 2).

## Conclusões

Os resultados demonstram a capacidade do *P. ostreatus* em reduzir os antimicrobianos estudados. Pode-se atribuir essa redução à produção de enzimas ligninolíticas, uma vez que a expressão das enzimas foi maior nos cultivos com presença dos fármacos porém estudos *in vitro* e de biosorção com biomassa viva são necessários. A partir das análises de HPLC, verificou-se que o basidiomiceto teve melhor desempenho na redução de sulfametoxazol. Diante disso, é possível afirmar que o basidiomiceto estudado tem potencial para ser utilizado em processos de biorremediação.

## Agradecimentos

PPG/UEM, CNPq, Capes.

## Referências

HOU, H., ZHOU, J., WANG, J., DU, C., & YAN, B. Enhancement of laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its use for the decolorization of anthraquinone dye. **Process Biochemistry**, San Diego, v. 30, n. 11, p.1415-1419, 2004.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal. Chem.**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

SCHMIDT, P., WESCHSLER, F. S. & NASCIMENTO, J. S. Tratamento do Feno de Braquiaria pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.6, suppl 2, p.1866-1871, 2003.

STUART, M., LAPWORTH D., CRANE, E. & HART, A. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. **Science of The Total Environment**, San Diego, v.416, p.1-21, 2012.

WARIISH H., VALLI K., GOLD M.H. Manganese (II) oxidation by manganese peroxidase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 267, n. 33, p. 23668-23695, 1992.