# POTENCIAL DEGRADAÇÃO DE IBUPROFENO POR FUNGOS DA PODRIDÃO BRANCA

Matheus Catanio Silva (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Rafael Castoldi (Orientador), e-mail: matheus-catanio-silva@hotmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** Ciências biológicas/ Ciências da saúde

**Palavras-chave:** Fármacos, fungos da podridão branca da madeira, biodegradação.

## Resumo

Os fármacos utilizados no dia-a-dia são cada vez mais detectados em rios e lagos, alguns compostos tem sua degradação mais lenta no meio ambiente e acabam por retornar aos sistemas de tratamento de água. Em alguns casos mesmo o tratamento não elimina completamente o ativo. Estudos mostram que o Ibuprofeno (IBU) vem sendo observado no tratamento de águas residuais, gerando consequências ao meio ambiente e a saúde humana. Este projeto teve como objetivo testes preliminares de fungos da podridão branca da madeira para serem utilizados na biorremediação de ibuprofeno. Inicialmente, 4 fungos foram cultivados em meio sólido junto a IBU para a seleção, dentre eles *Pleurotus ostreatus, Trametes* sp*., Pleurotus pulmonarius e Oudemansiella canarii*. O fungo *Pleurotus ostreatus* teve destaque de crescimento e foi escolhido para cultivo em meio líquido. observando as atividades das enzimas ligninolíticas e celulolíticas como lacase, manganês peroxidase e lignina peroxidase.

## Introdução

Os fármacos são substâncias químicas indispensáveis em nosso cotidiano, sendo usados não em áreas da saúde, como em áreas de cultivo. Antigamente, pouca importância se dava às consequências dessas substâncias ao meio ambiente. Com o passar do tempo, estudos relacionados a fármacos no meio ambiente começaram a crescer e tomar maior espaço na literatura.

Milhares de diferentes moléculas ativas são atualmente usadas no Brasil e no mundo para tratar ou prevenir doenças, sendo que centenas de novas moléculas são sintetizadas anualmente para substituir os fármacos ultrapassados. Uma vez administrados, os fármacos podem ser excretados na sua forma original ou como metabólitos ativos, e podem alcançar o meio ambiente por diversos caminhos (ZUCCATO et al., 2000). Os produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal (PPCPs) são preocupações dos cientistas se tornando uma classe reconhecida de poluentes, recebendo

atenção considerável sobre a toxicidade sobre o meio ambiente (EVGENIDOU et al., 2015). Essas substâncias podem atingir o meio ambiente por diferentes rotas, sendo os efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE's) a principal delas. O avanço das técnicas analíticas, como a cromatografia líquida de alta eficiência, a cromatografia gasosa e os detectores de massas nas últimas décadas, contribuiu muito com os trabalhos de detecção destes compostos (IVAN, 2012).Visto isso, a biorremediação torna-se essencial, sendo esta, um processo que utiliza principalmente microrganismos, plantas, enzimas microbianas ou vegetais para desintoxicar e degradar contaminantes no ambientes, com a finalidade de restaurar a saúde do ecossistema.

Os fungos são particularmente adequados para colonização dos ecossistemas devido sua capacidade de produzir enzimas extracelulares, como lacases e ligninases, além de ser uma fonte mais barata e acessível (GODLEADS et al., 2015). Os fungos da podridão branca possuem alto potencial de biorremediação, devido a produção de enzimas extracelulares específicas que degradam diversos substratos, sendo exemplos disso, a lacase (E.C. 1.10.3.2), manganês peroxidase (E.C. 1.11.1.13) e lignina peroxidase (E.C. 1.11.1.14).

## Materiais e métodos

### Biossorvente e fármaco:

Os fungos foram obtidos na coleção de culturas do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e alimentos e o Ibuprofeno na forma líquida, de uma farmácia local.

### Procedimento:

De início foi feita uma análise no espectrofotômetro acerca do pico de absorbância do Ibuprofeno líquido da marca Medley o qual resultou em 198nm. Foram selecionados 4 fungos da podridão branca sendo eles, *Pleurotus ostreatus, Trametes, Pleurotus pulmonarius e Oudemansiella canari*i. Os cultivos foram feitos em placas de petri com meio sólido BDA junto a Ibuprofeno líquido nas concentrações 0 (controle), 40, 160, 280 e 400 µL, cada concentração em triplicata, totalizando 60 placas de petri. Ademais foram armazenados em uma estufa com temperatura média de 28ºC até total colonização. Dentre os 4 fungos cultivados, o melhor resultado de crescimento se mostrou sendo o *Pleurotus ostreatus,* o qual foi escolhido como representante para a próxima etapa do procedimento.

Com isso, o fungo escolhido foi cultivado em placas de petri apenas com BDA, deixados até total colonização em uma estufa a 28ºC. Depois disso foram feitos repiques de 2 discos de micélio para o inóculo em erlenmeyers de 250mL com 100mL de meio mineral (VOGEL, 1956), contendo glicose (0.5%), extrato de levedura (0,2%) e tampão citrato.

Divididos em 5 categorias, cada uma com diferentes concentrações de Ibubrofeno junto ao meio líquido, sendo estas 0 (controle), 16, 64, 112 e

160µL, cada concentração em triplicata. Os erlenmeyers contendo os fungos foram colocados sob agitação em um shaker a 120 rpm e 28ºC por 12 dias. Amostras do líquido foram coletadas para análise de absorbância, sendo colocadas em tubos eppendorf e armazenadas no freezer. Os líquidos foram diluídos em uma proporção 1:100 e analisados em um espectrofotômetro em cubeta de quartzo e observados os picos de absorbância referentes a faixa de 198nm.

## Resultados e Discussão

Os fungos da podridão branca secretam várias enzimas extracelulares para a degradação de biomassa, como a lacase (E.C. 1.10.3.2), manganês peroxidase (E.C. 1.11.1.13) e lignina peroxidase (E.C. 1.11.1.14). Alguns estudos se mostraram positivos, como o realizado pela Universidade Autônoma de Barcelona, sobre compostos ibuprofeno, ácido clofíbrico e carbamazepina (ERNEST et al., 2009).

Mediante o cultivo dos 4 fungos em meio sólido BDA + Ibuprofeno líquido, o fungo *Oudemansiella canarii* não apresentou um desenvolvimento satisfatório em nenhum cenário, enquanto *Pleurotus pulmonarius* e *Trametes sp.,* apesar do crescimento em concentrações mais baixas como 40 e 160 µL, não se destacaram em concentrações mais altas. Com isso, o que apresentou melhor crescimento em todas as concentrações (40,160, 280, 400) µL, foi o fungo *Pleurotus ostreatus* (Fig. 1) sendo escolhido para o cultivo em meio líquido.

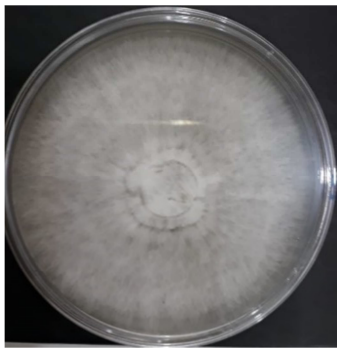

Fig 1. *Pleurotus ostreatus* em meio BDA + Ibuprofeno 400µL

Os resultados do crescimento do *P. ostreatus* em meio líquido estão apresentados na Tabela 1. Este teste visa observar a possível degradação do Ibuprofeno por enzimas ligninolíticas do fungo *Pleurotus ostreatus*, que resultaria em uma redução no pico de absorbância das amostras ao longo dos dias. Na maior concentração de Ibuprofeno testada (160 µL) foi onde melhor obteve diminuição da absorbância. Esse resultado pode ter relação com maior produção de enzimas ligninolíticas estimuladas pela maior concentração de Ibuprofeno ou mesmo devido a absorção do fármaco pelo fungo.

No entanto é necessário novos experimentos para determinar se o Ibuprofeno está sendo degradado efetivamente ou mesmo ocorreu absorção.

Tabela 1. Absorbância de Ibuprofeno após cultivo em meio líquido com P. ostreatus. Média ± Desvio padrão das amostras feitas em triplicatas

| Ibuprofeno (µL) | Absorbância (198nm) |
|---|---|
| Controle | 231,60 ± 07,98 |
| 16 | 235,06 ± 08,32 |
| 64 | 209,44 ± 15,85 |

| | |
|---|---|
| 112 | 205,05 ± 11,60 |
| 160 | 155,18 ± 35,69 |

## Conclusões

Inúmeros fungos têm sido testados como biorremediadores de PPCPs, entre eles os fungos da podridão branca. O Ibuprofeno é um fármaco bastante utilizado, bem como inúmeros outros compostos que podem desencadear efeitos negativos no meio ambiente. Apesar da primeira etapa em meio sólido ter mostrado um possível potencial de biodegradação do Ibuprofeno por parte do fungo *Pleurotus ostreatus,* com a inconsistência dos dados da segunda etapa, não se pode ter certeza se ocorreu a degradação.

## Agradecimentos

Ao meu orientador, Rafael Castoldi, pela orientação e oportunidade de realizar este projeto.
Aos meus colegas de laboratório, pela paciência e ajuda que me deram quando entrei.
Ao CAPES e ao CNPq pela bolsa de auxílio.

## Referências

ZUCCATO, E., CALAMARI, D., NATANGELO, M., FANELLI, R. “**Presence of therapeutic drugs in the environment**”, The Lancet, Vol. 355, p. 1789-1790, 2000.

EVGENIDOU, E.N., KONSTANTINOU, I.K., LAMBROPOULOU, D.A. Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review. **Sci. Total Environ.** 505, p. 905-926, 2015

IVAN, J. S. S. **Estudo do potencial de biodegradação de 17α-etinilestradiol, carbamazepina e ibuprofeno por fungos ligninolíticos e bactérias**. Tese (mestrado engenharia de alimentos) – Unicamp, 2012.

GODLEADS, O. A., PREKEYI, T. F., SAMSON, E. O., IGELENYAH, E. Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmention: A Review. **International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation**, v. 3, (1), p. 28-39, 2015.

ERNEST, M.U., MIRIAM, P.T., TERESA, V., GLORIA, C. **Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by Trametes versicolor**. Chemosphere, 74, p. 765 – 772, 2009