

Toxicidade de corantes degradados por ação de lacases produzidas por *Trametes hirsuta* (Fungi, Basidiomycota)

Paula Mulazzani Candiago¹, Rosane Maria Lanzer¹ (orient.)

1 – Universidade de Caxias do Sul, Laboratório de Toxicologia e Limnologia; pmcandiago@ucs.br; rlanzer@ucs.br;

INTRODUÇÃO

As indústrias têxteis, que possuem elevado potencial poluidor devido ao volume e a composição dos efluentes gerados, utilizam nos processos de tingimento a aplicação de corantes sintéticos e sucessivas etapas de lavagem para a retirada do excesso dos mesmos. Os corantes apresentam estruturas aromáticas complexas que garantem uma menor biodegradabilidade da cor (Fig.1) e devido a isso possuem alta estabilidade à luz, temperatura, ataque microbiano e detergentes (COUTO, 2009).

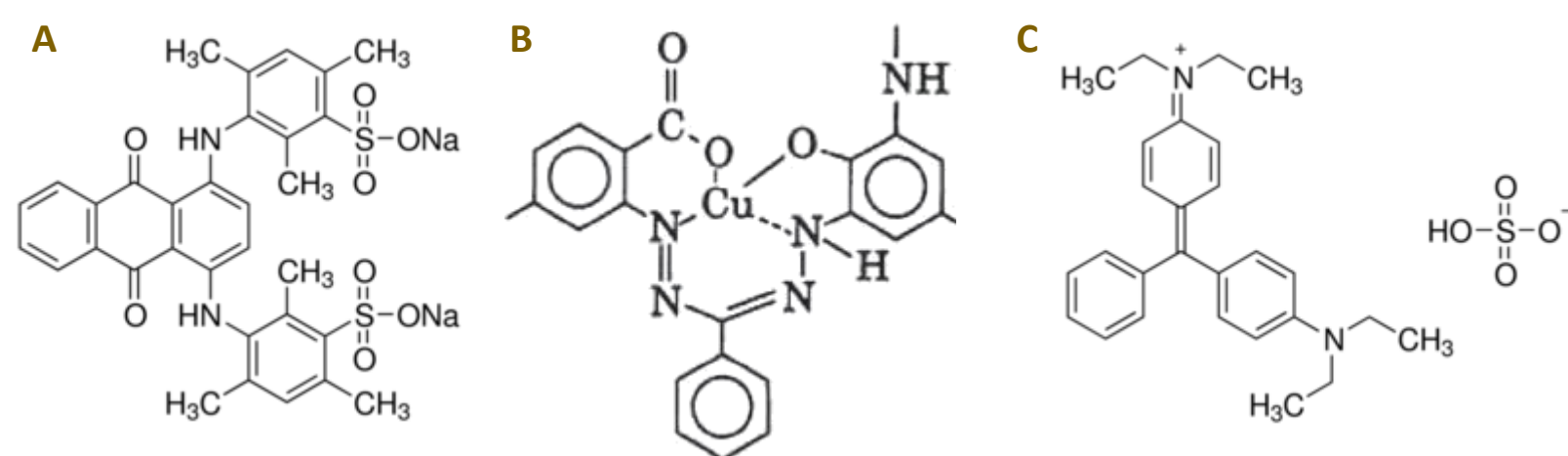


Fig. 1. Estruturas moleculares dos corantes Acid blue 80 (A), Reactive blue 220 (B) e Brilliant green (C).

Em busca da eliminação do excesso de lavagens para retirada do excesso de corantes e novas tecnologias de biorremediação, a biodegradação enzimática vem sendo estudada pelo laboratório de Enzimas e Biomassas da Universidade de Caxias do Sul, a partir do macrofungo *Trametes hirsuta* linhagem 358/10 (Fig.2). Este fungo é produtor de lacases, enzimas capazes de oxidar moléculas aromáticas, gerando a degradação oxidativa de compostos coloridos (CANTELE et al., 2017).



Fig. 2. Macrofungo *Trametes hirsuta*

O objetivo do trabalho foi avaliar a presença de toxicidade de preparados enzimáticos a partir da ação de *Trametes hirsuta*.

METODOLOGIA

O fungo, coletado na região sul do Brasil, foi submetido a cultivo líquido e a cultivo em estado sólido. Os extratos enzimáticos de lacases obtidos nos dois processos foram inoculados em placas contendo os corantes Acid blue 80, Reactive blue 220 e Brilliant green para a avaliação da degradabilidade da cor pela enzima. As amostras foram congeladas e enviadas ao Laboratório de Toxicologia e Limnologia para a avaliação da toxicidade.

Testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna* foram realizados com os preparados enzimáticos, com os corantes e com os corantes degradados em meio líquido e em meio sólido. A norma NBR 12713/2009 foi utilizada para a preparação dos ensaios. A toxicidade foi avaliada pela imobilidade dos organismos em cinco diluições e os resultados foram avaliados pelo Fator de Toxicidade (FT) (Fig.3).

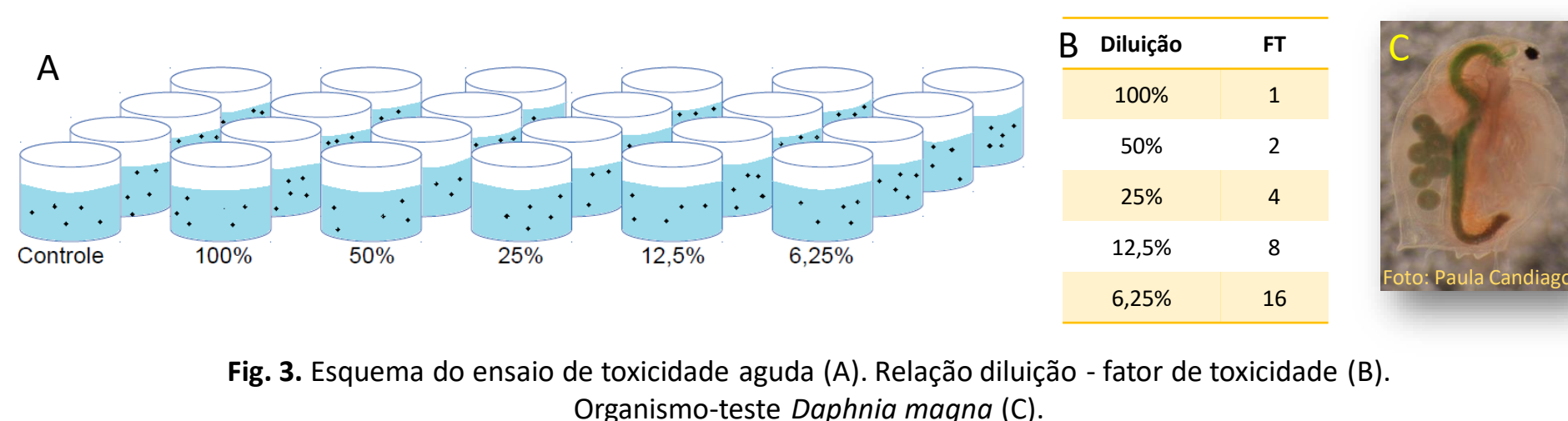


Fig. 3. Esquema do ensaio de toxicidade aguda (A). Relação diluição - fator de toxicidade (B). Organismo-teste *Daphnia magna* (C).

As amostras que não apresentaram toxicidade aguda foram designadas para o teste de toxicidade crônica com o nematódeo *Caenorhabditis elegans*. O ensaio crônico foi realizado seguindo a norma ISO/DIS 10872 (2010) (Fig.4). A toxicidade foi avaliada pela inibição do crescimento e da reprodução do organismo em quatro diluições. As diferenças nos endpoints em relação ao controle foram verificadas por meio dos testes Kruskal-Wallis e ANOVA ($\alpha \leq 0,05$) usando o programa IBM Statistics SPSS 21.

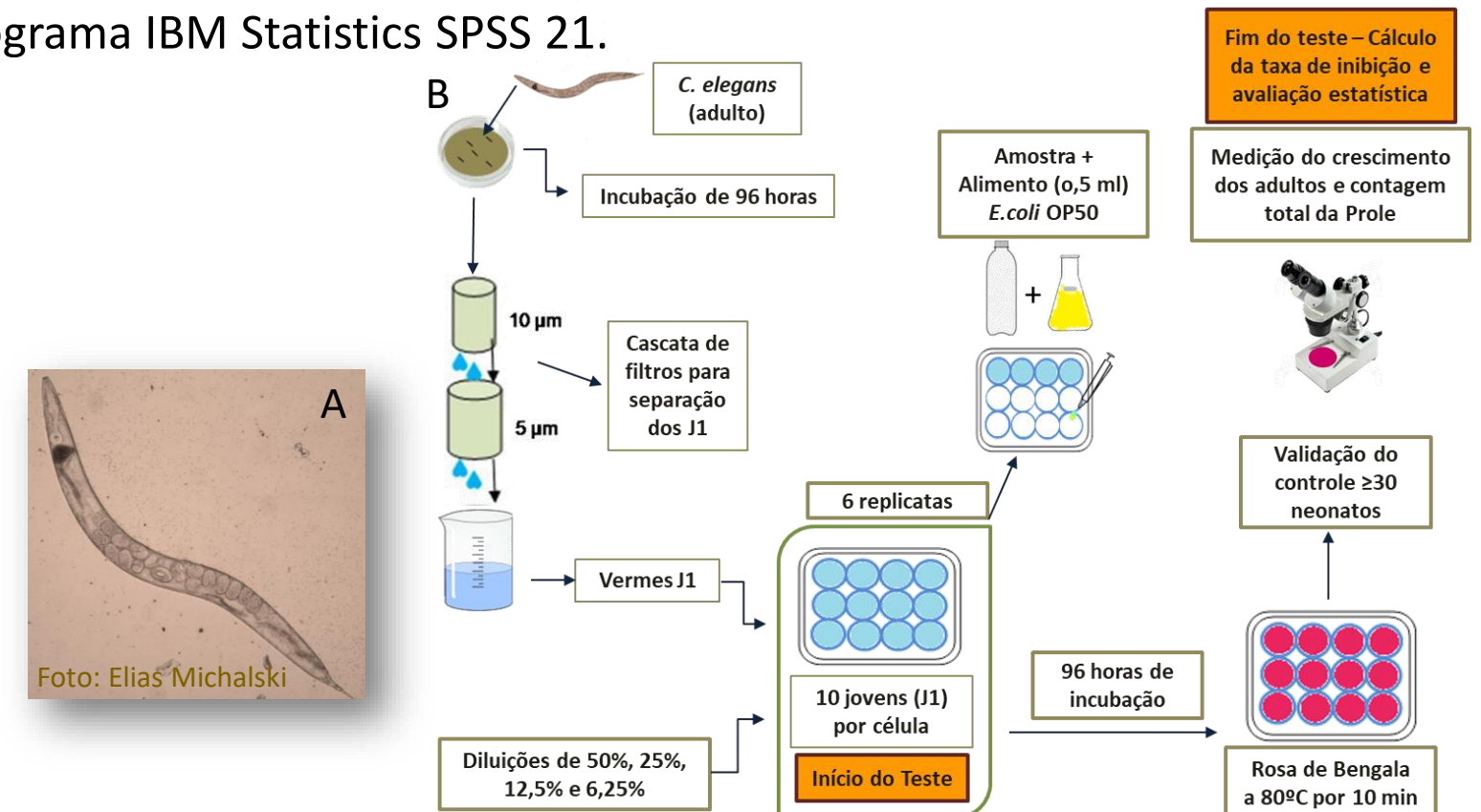


Fig. 4. Organismo-teste *Caenorhabditis elegans* (A) e esquematização do teste de toxicidade crônica (B).

As amostras que apresentaram toxicidade aguda para *D. magna* (Quadro 1) foram o meio cultivo líquido do fungo (FT2), o corante Acid blue 80 (FT1), o corante Acid blue 80 degradado no meio líquido (FT4), o corante Reactive blue 220 (FT16), o corante Reactive blue 220 degradado no meio líquido (FT4), o corante Brillante green (FT16) e o corante Brillante green degradado no meio líquido (FT16) e no meio sólido (FT16). Os extratos preparados com os corantes Acid blue 80 e Reactive blue 220 e o cultivo em estado sólido que não apresentaram toxicidade aguda foram analisados quanto a toxicidade crônica com *C. elegans* (Fig. 5).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

RESULTADOS DO TESTE DE TOXICIDADE AGUDA COM <i>D. magna</i>		
Nome da amostra/corante	Fator de Toxicidade (FT)	Foto referente ao ensaio
Controle 358, cultivo líquido	FT2	-
Controle 358, cultivo sólido	Toxicidade não detectada	
Controle Acid blue 80	FT1	
Teste 358, cultivo líquido+ Acid blue 80	FT4	
Teste 358, cultivo sólido + Acid blue 80	Toxicidade não detectada	
Controle Reactive blue 220	FT16	
Teste 358, cultivo líquido+ Reactive blue 220	FT4	-
Teste 358, cultivo sólido + Reactive blue 220	Toxicidade não detectada	
Controle Brilliant green	FT16	
Teste 358, cultivo líquido + Brilliant green	FT16	
Teste 358, cultivo sólido + Brilliant green	FT16	

Quadro 1. Resultados dos testes de toxicidade aguda com foto referente ao ensaio.

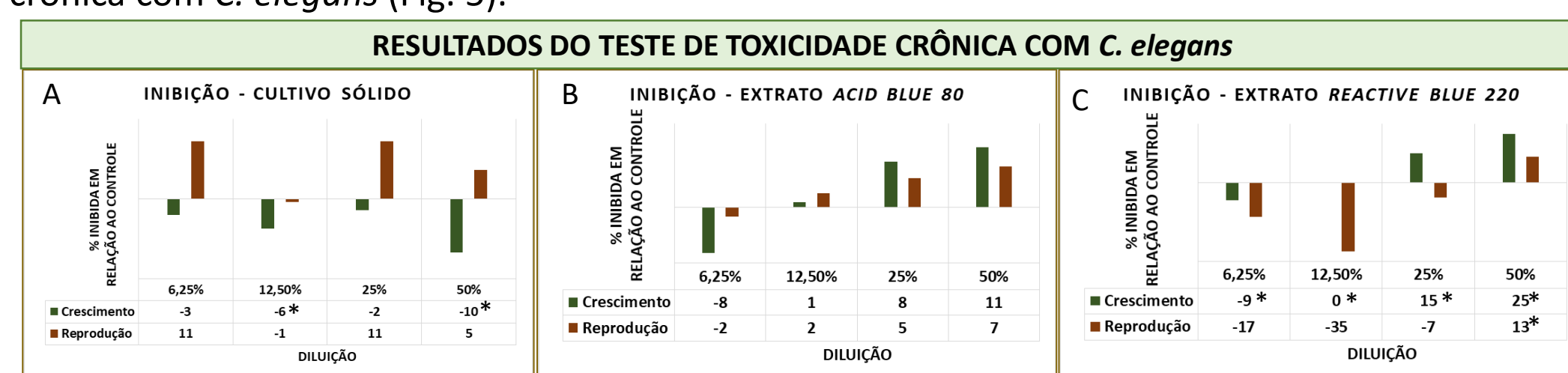


Fig. 5. Porcentagem de crescimento e reprodução de *C. elegans* em relação ao controle e diferenças estatísticas significativas, * $p \leq 0,05$.

O resultado encontrado (Fig. 5) caracteriza uma relação dose-resposta com um modelo de resposta bifásica do organismo, indicando efeito hormético nos resultados (CALABRESE, 2015). O estudo evidencia uma potencialidade do fungo para a biodegradação da cor em corantes, visto que três amostras não apresentaram toxicidade aguda. Porém, a toxicidade crônica encontrada evidenciou a importância da realização dos testes com uma resposta fisiológica do organismo. A utilização de indicadores de níveis tróficos distintos auxiliou na identificação de sensibilidades particulares a cada organismo, assegurando uma resposta mais confiável dos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 12713: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). 4 ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2016. 27 p.
BRITISH STANDARD INSTITUTION INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. BS ISO 10872:2010: Water quality - Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). 1 ed. Geneva: British Standards, 2010. 18 p.
CALABRESE, Edward J. Hormesis: principles and applications. Homeopathy. Amherst, p. 69-82. 04 fev. 2015.
CANTELE Camila et al. Synthetic dye decolorization by *Marasmiellus palmivorus*: Simultaneous cultivation and high laccase-crude broth treatment. Biocatalysis And Agricultural Biotechnology. Caxias do Sul, p. 314-322. 01 nov. 2017.
COUTO, Susana Rodriguez. Dye removal by immobilised fungi. Biotechnology Advances. Tarragona, p. 227-235. 13 jan. 2009.