

# REMOÇÃO DE CORANTE AZO POR USO DE *PHANEROCHATE CHRYSOSPORIUM* INOCULADO EM REATOR EM BATELADA

Marcus V. F. ANDRADE (1), André C. LEITE (2), Karla M. L. SILVA (3), Glória SAMPAIO (4), Kelly RODRIGUES (5)

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Av. Treze de Maio, 2081, e-mail: [marcusviniciusan@gmail.com](mailto:marcusviniciusan@gmail.com)

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Av. Treze de Maio, 2081: [andreleite\\_gnr@hotmail.com](mailto:andreleite_gnr@hotmail.com)

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Av. Treze de Maio, 2081: [karla\\_mls@hotmail.com](mailto:karla_mls@hotmail.com)

(4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Av. Treze de Maio, 2081: [gloria@ifce.edu.br](mailto:gloria@ifce.edu.br)

(5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Av. Treze de Maio, 2081: [kelly@ifce.edu.br](mailto:kelly@ifce.edu.br)

## RESUMO

A intensa expansão industrial acarreta inúmeros impactos ao meio ambiente e dentre estes está à síntese de compostos recalcitrantes. Um dos ramos industriais que mais desenvolvem substâncias impactantes é a indústria têxtil com seus corantes sintéticos que apresentam difícil degradabilidade e podem ter diversos efeitos sobre a saúde humana e que são lançados nos efluentes gerados pela mesma. Partindo da perspectiva que o tratamento físico-químico destes efluentes é bastante oneroso, o tratamento biológico surge como uma tecnologia inovadora que vem alcançando resultados satisfatórios. Este trabalho propunha-se a estudar a viabilidade de aplicação de um reator em bateladas sequenciais inoculado com *Phanerochaete chrysosporium*. Para isso foi montado um reator em batelada com biomassa imobilizada do fungo e usou-se para estudo o corante Vermelho do Congo. O experimento foi monitorado através das análises de demanda química de oxigênio, corante, amônia, nitrato, nitrito, fósforo, ortofosfato e também foi analisada a atividade da enzima *manganês peroxidase*. Foram alcançados percentuais de remoção de corante de 100%, 78% de demanda química de oxigênio, 87% de remoção de amônia e 77% de remoção de nitrato.

**Palavras-chave:** batelada repetida, corante, *Phanerochaete chrysosporium*, reator biológico.

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria têxtil é um dos mais importantes ramos da economia brasileira, entretanto há uma preocupação com o destino final de seus efluentes, já que possuem alta carga orgânica e são ricos em corantes os quais não se aderem às fibras do tecido durante o processo de tingimento e que acabam sendo descartados com o efluente final. Tais corantes são danosos para a biota aquática e para os seres humanos, já que são relatados como carcinogênicos e mutagênicos (KHELIFI et al., 2008).

A presença do efluente colorido no corpo hídrico é prejudicial, pois reduz a penetração da luz solar o que implica na diminuição da taxa fotossintética, perturbando o equilíbrio local. Os principais corantes utilizados na indústria têxtil são da classe azo, identificados pela ligação (-N=N-), tais corantes possuem ligações muito fortes, sendo resistentes a algumas formas de tratamento (BARBOSA et al., 2009).

Apesar de existirem formas físicas e químicas de tratamento de efluentes têxteis, os microrganismos vêm sendo intensamente estudados com a finalidade de remover compostos tóxicos do meio ambiente. Estudos indicam fungos basidiomicetes degradadores de lignina como eficientes na degradação de diversos compostos e de corantes, além do alto potencial de ação na recuperação de ambientes contaminados (KAMIDA et al., 2005).

Basidiomicetes constituem o grupo mais conspícuo dos fungos no meio ambiente e compreendem muito diferentes grupos ecológicos, alguns apresentando aplicações biotecnológicas e ambientais (SONGULASHVILI et al., 2007). Neste contexto, foi objetivo do presente trabalho empregar um reator em batelada repetida inoculado com o basidiomicete *Phanerochaete chrysosporium* para a remoção do corante azo vermelho do congo utilizando glicose como co substrato.

## 2 MATERIAIS E MÉTODO

O reator biológico em batelada repetida foi montado e operado em escala laboratorial, inoculado com *Phanerochaete chrysosporium*, para remoção de corante em meio aquoso sintético. A pesquisa foi dividida em etapas: cultivo e contagem de esporos dos fungos; imobilização da biomassa e montagem e operação do reator.

### 2.1. Inóculo

A espécie *Phanerochaete chrysosporium* foi cultivada em meio de cultura com a seguinte composição (g/L): Extrato de levedura (2), glicose (20),  $K_2HPO_4$  (1),  $KH_2PO_4$  (0,6),  $MgSO_4$  (0,5) e peptona (2). A cultura foi mantida sob 28°C em estufa microbiológica, durante cinco dias. Após esse tempo os esporos foram removidos com solução isotônica a base de Tween 80 e foram armazenados em frasco estéril. Como inóculo para os reatores foi usada a concentração de  $2 \times 10^6$  esporos/mL.

### 2.2. Imobilização da biomassa em meio suporte

A imobilização do fungo foi feita em espuma de poliuretano sob condição de agitação em mesa agitadora shaker a 150 rpm. Cinco gramas de espuma, previamente esterilizadas, foram colocadas em redes de polietileno e em seguida dentro de erlenmeyers que continham meio nutritivo com macro e micronutrientes. Os erlenmeyers foram mantidos em condição de agitação por 48 h, após esse intervalo o meio de cultura foi trocado e mantido novamente por 72 h, até ser transferido para o reator.

### 2.3. Montagem do reator em batelada repetida

O reator, confeccionado em vidro, possui volume total de 5 litros e foi operado em ciclos de quarenta e oito horas (48 h), recebendo a cada ciclo 4 L de meio basal com a seguinte composição: (g.L<sup>-1</sup>):  $KH_2PO_4$  (2),  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0,5),  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (0,1) e  $(NH_4)_2SO_4$  (0,2). Foram adicionados ao meio 30 mg.L<sup>-1</sup> de corante e 10 mL.L<sup>-1</sup> de solução mineral. A solução mineral continha em sua composição (g.L<sup>-1</sup>):  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (3,0), NaCl (1,0),  $MnSO_4 \cdot H_2O$  (0,5),  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (0,1),  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  (0,1),  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  (0,1),  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (0,082),  $H_3BO_3$  (0,01),  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (0,01).

Na montagem do reator, além da alimentação com o meio basal, acrescentava-se glicose (5 g/L), e o pH do meio era acidificado para faixa ácida. Em cada ciclo estudado houve a caracterização da alimentação do reator e o acompanhamento deste foi verificado através da realização das seguintes análises: DQO bruta e centrifugada (Demanda Química de Oxigênio), pH, amônia, nitrato, nitrito, NTK (Nitrogênio Total Khedajl), fósforo total, ortofosfato, corante e enzima manganês peroxidase (MnP). Todas as análises com exceção de corante e enzima, foram realizadas segundo APHA (2005), as outras têm seus procedimentos descritos em Silva Filho et al. (2006) e Aguiar Filho (2008), respectivamente.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

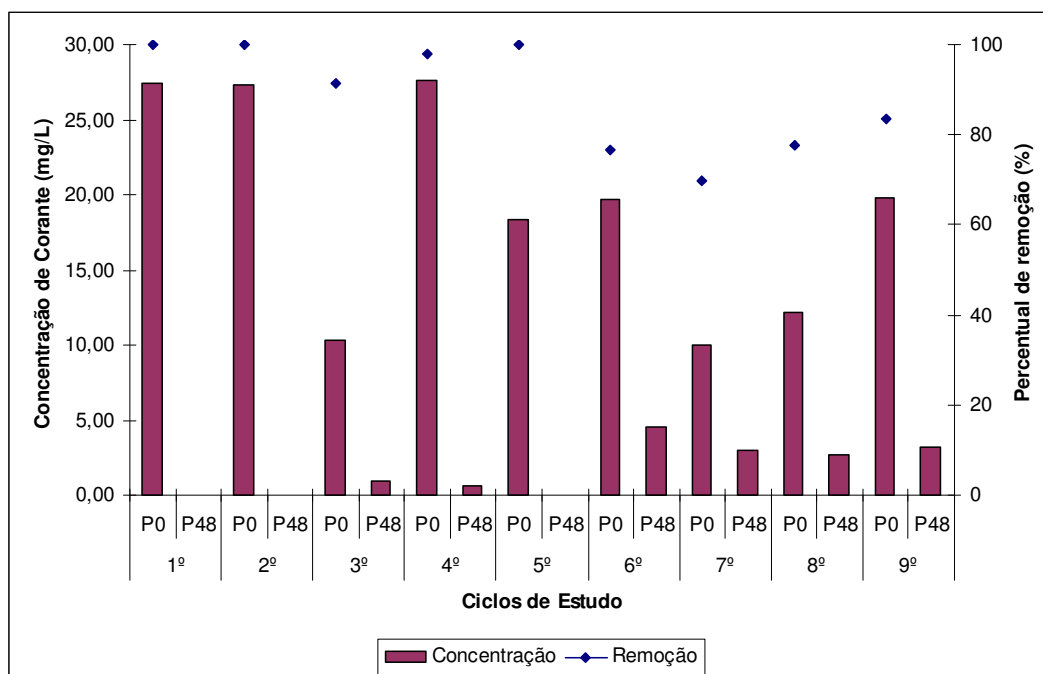
O reator foi operado durante nove ciclos e a caracterização do meio basal está demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1. Características do meio sintético têxtil utilizado na operação do reator em batelada.**

Parâmetro	Valor Médio ± DP	Parâmetro	Valor Médio ± DP
pH	4,5 ± 0,39	Amônia (mg/L)	35,7 ± 6,3
Ortofosfato (mg/L)	219 ± 59,4	Fósforo Total (mg/L)	314 ± 79
Corante (mg/L)	19,11 ± 7,2	Nitrato (mg/L)	3,71 ± 1,4
DQO bruta (mg/L)	4202 ± 1802	Nitrito (mg/L)	0,73 ± 0,3
DQO centrifugada (mg/L)	3909 ± 1470	NTK (mg/L)	37,9 ± 9,7

Ao longo do experimento, em relação aos dados de corante, foram obtidos percentuais de remoção significativos durante os cinco primeiros ciclos, sendo eles, respectivamente, de 100%, 100%, 91%, 98% e 100%, demonstrando a versatilidade do fungo na remoção de corante do meio mesmo na fase de adaptação da biomassa às condições estabelecidas e mantidas no reator. A partir do sexto ciclo o percentual de remoção decai para 77% e provavelmente tenha ocorrido devido à perda de biomassa imobilizada do reator que foi verificada ao final do quinto ciclo de operação. Durante o sétimo e oitavo ciclos o percentual de remoção de corante se mantém e sobe para 84% durante o nono ciclo.

Vale ressaltar, que embora tenha havido boa remoção de corante no meio durante os primeiros ciclos, parte dela pode estar associada ao processo de adsorção do corante no micélio do fungo, fato que foi ratificado, através de inspeção visual, onde a biomassa adquiriu coloração avermelhada característica do corante utilizado no experimento. Outrossim, o rápido decaimento na concentração de corante, observado nos primeiros ciclos, também pode ser advindo da adsorção de corante no meio suporte. A variação na concentração de corante e os percentuais de remoção estão demonstrados na Figura 1.



**Figura 1:** Variação de corante ao longo do experimento e percentuais de remoção de corante durante os ciclos.

Em relação à matéria orgânica bruta presente no reator, durante os nove ciclos estudados, houve percentual máximo de remoção de DQO no segundo ciclo, 75,4%, e o mínimo de 17,3% no quinto ciclo, quando ocorreu o desprendimento de biomassa que e essa pode ter sido incorporada durante a análise de DQO. Os outros percentuais de remoção estiveram na faixa de 40% de remoção e provavelmente tenha se dado devido à alta carga orgânica, proveniente da glicose (5 g/L), empregada no reator. Ainda em relação à DQO bruta, uma parcela da matéria orgânica não removida pode ser proveniente da degradação biológica do corante pelo fungo, onde há a remoção do cromóforo, seguida da formação de subprodutos que não são facilmente removidos e permanecem no meio, sendo assim quantificados como DQO.

Comparativamente, Aloui et al. (2007) tratando resíduos semi-sólidos da indústria de azeite através de uma coluna de fermentação utilizando o *Phanerochaete chrysosporium*, obteve 20,8% de remoção de DQO. O autor revela que este foi um bom percentual de remoção, visto que o conteúdo do seu substrato possuía alta carga orgânica, fato similar foi observado no presente trabalho, entretanto, com maiores percentuais de remoção de DQO bruta, se comparadas com o autor supracitado.

Já em relação à matéria orgânica dissolvida no meio, DQO centrifugada, obteve-se percentual máximo de 78,5% durante o primeiro ciclo e percentual mínimo durante a fase que houve desprendimento da biomassa no meio, no quinto ciclo, onde foi alcançado percentual de 13,5% de remoção.

A variação de matéria orgânica bruta e dissolvida está demonstrada na Figura 2 (a) Matéria Orgânica Bruta e (b) Matéria Orgânica Dissolvida.

O pH do meio, como referido na Seção 2, foi acidificado para a faixa ácida e durante todos os ciclos tendeu a decair pouco e permanecer na faixa ácida. Provavelmente, isso se mostra como um reflexo da atividade metabólica do fungo ao degradar os componentes do meio mineral, que incluem o corante, a glicose e os nutrientes. Na Figura 3 está ilustrada a variação de pH ao longo dos ciclos que compuseram o experimento.

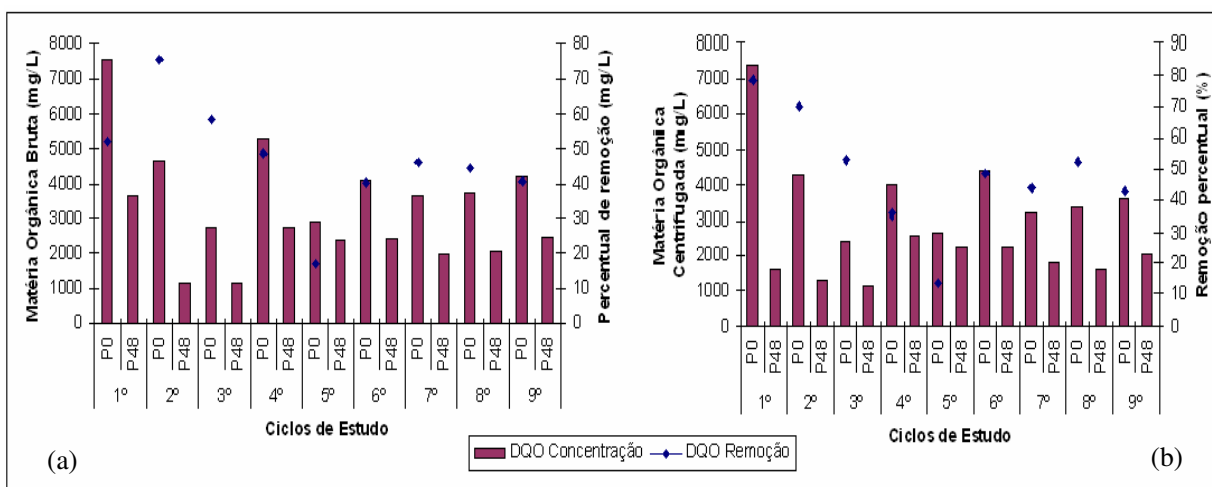


Figura 2: Variação da Matéria Orgânica Bruta ao longo dos ciclos no experimento em batelada repetida

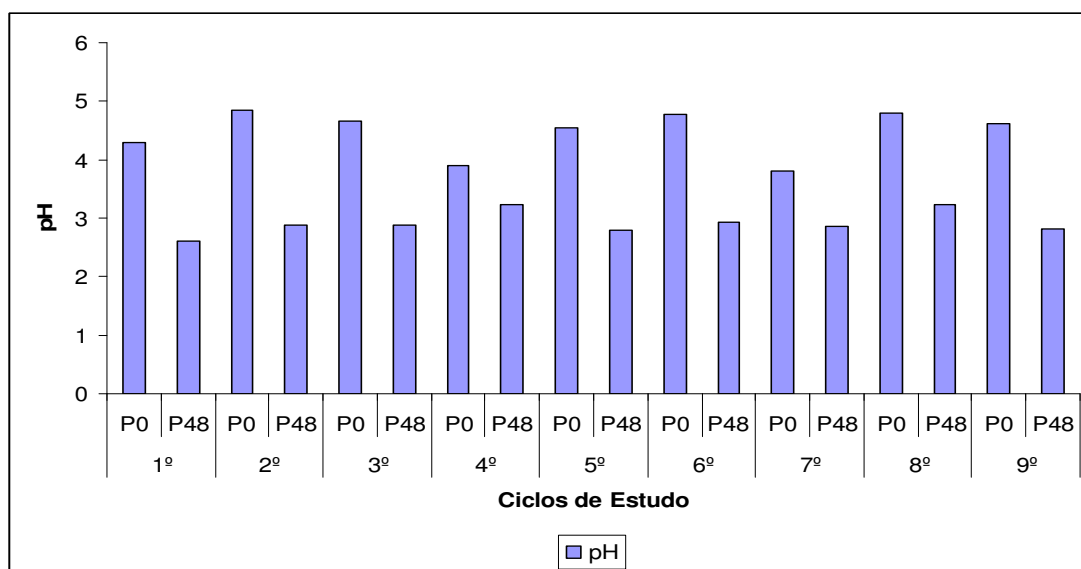


Figura 3: Variação de pH ao longo dos ciclos que compuseram o experimento em batelada repetida

Ao se estudar os dados pertinentes às frações nitrogenadas (amônia, nitrato, nitrito, NTK) ao longo do experimento no reator em bateladas sequenciais, verificou-se considerável remoção para todas elas, fato bastante promissor uma vez que o fungo inoculado no reator, *Phanerochaete chrysosporium* tem interferência direta em seu metabolismo pelo nitrogênio, uma vez que este regula a síntese de enzimas produzidas e excretadas pelo micro-organismo.

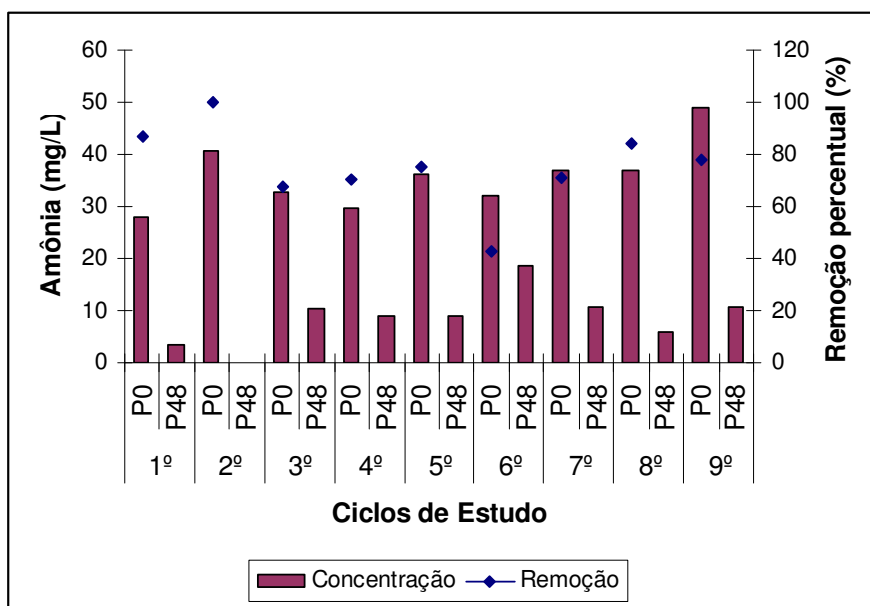
Para a fração de nitrogênio amoniacal, obteve-se 100% como percentual máximo de remoção durante o segundo ciclo, com eficiência mínima de 42% durante o sexto ciclo. A variação de amônia ao longo do experimento está ilustrada na Figura 4.

Em relação à concentração de nitrato durante o experimento, houve remoção deste em um intervalo que variou de 70% a 90%, apresentando percentual máximo de remoção de 96% durante o oitavo ciclo de operação e percentual mínimo durante o nono ciclo de operação, 37,4%. Na Figura 5 está demonstrado a variação na concentração de nitrato ao longo do experimento.

Para a fração nitrito, houve percentual máximo de remoção de 98% durante o quinto ciclo e percentual mínimo de remoção de 53% no sexto ciclo. A variação deste parâmetro ao longo dos ciclos operados está demonstrado na Figura 6.

Já em relação à Nitrogênio Total Khedjal (NTK), houve remoção máxima de 97% durante o quarto ciclo no experimento e mínimo percentual de remoção durante o quinto ciclo do experimento, 41%. A variação deste parâmetro está ilustrada na Figura 7.

Conforme Griffin (1994) a assimilação de nitrato ou de nitrito pelos microrganismos conduz à redução de ambas fontes de nitrogênio a amônia, através de vias metabólicas específicas e tal fato é comprovado nesta pesquisa pois de acordo com as Figuras 4, 5, e 6 com o decaimento do nitrato e do nitrito há também o decaimento na concentração de amônia.



**Figura 4: Variação de amônia ao longo dos ciclos que compuseram o experimento em batelada repetida**

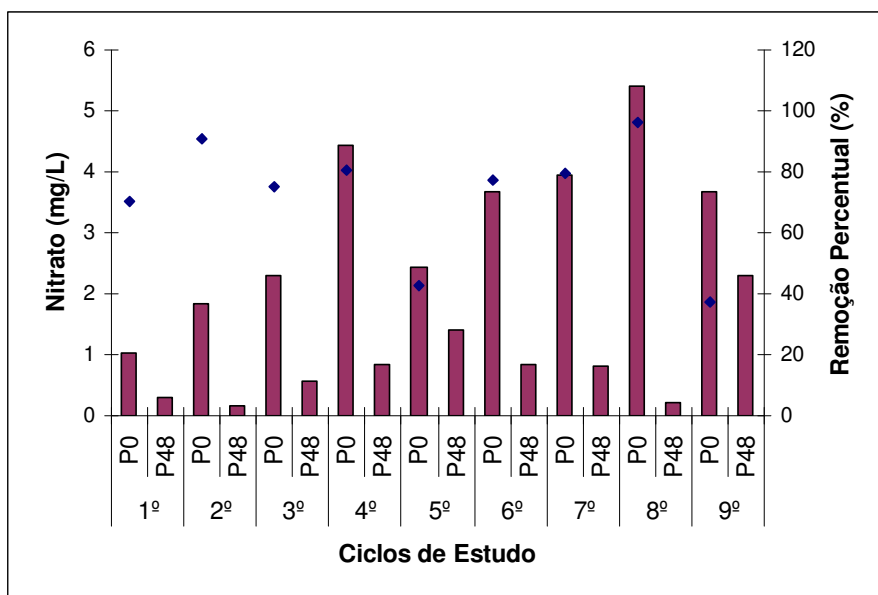


Figura 5: Variação de nitrato ao longo dos ciclos que compuseram o experimento em batelada repetida

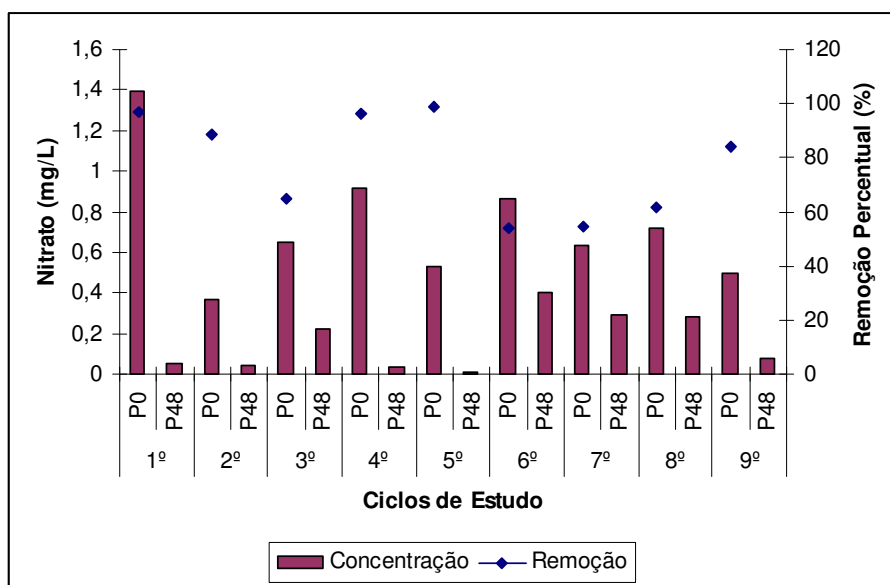


Figura 6: Variação de nitrito ao longo dos ciclos que compuseram o experimento em batelada repetida

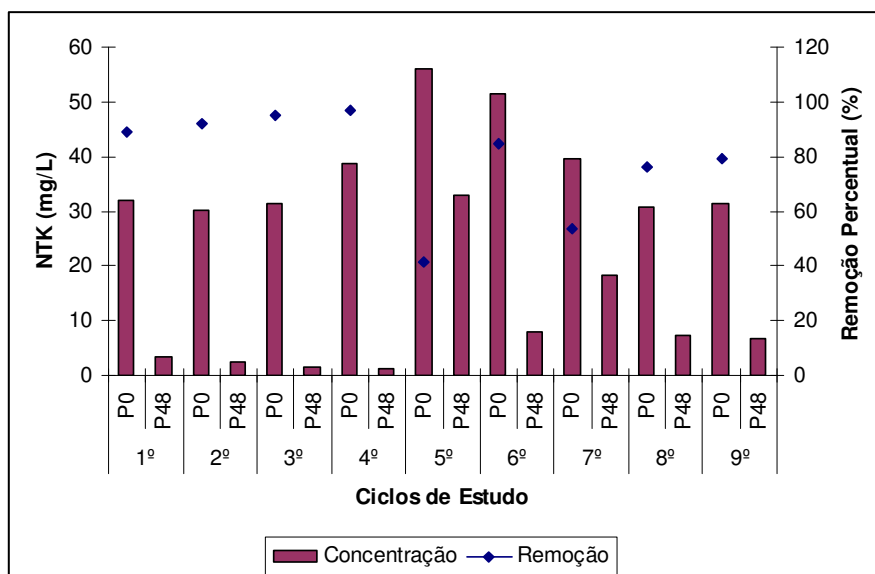


Figura 7: Variação de NTK ao longo dos ciclos que compuseram o experimento em batelada repetida

Com relação aos parâmetros fósforo total e ortofosfato foram observados ao longo dos ciclos que compuseram o experimento, ciclos de síntese e consumo de ambos os parâmetros, configurando assim uma ampla variação destas variáveis, indicando o possível armazenamento de fósforo nos vacúolos celulares e sua posterior liberação (LI e KANE, 2009).

Com relação a enzima *Manganês peroxidase*, esta apresentou atividade em intervalo de 2 a 13  $\mu\text{mol}^{-1}.\text{min}$ , sendo seu maior pico observado durante o terceiro ciclo do experimento, quando a atividade foi de 13,45  $\mu\text{mol}^{-1}.\text{min}$ , onde comparativamente, foi registrado 91% de remoção de corante. A variação na atividade da enzima está demonstrada na Figura 8.

Singh e Pakshirajan (2010) trabalharam com a mesma espécie fungica, em experimento batelada para remoção do corante Direct Red – 80 avaliando a atividade da enzima *Manganês peroxidase*, e obtiveram atividade enzimática de 13  $\mu\text{mol}^{-1}.\text{min}$  em 48 horas de experimento, fato também observado neste presente trabalho.

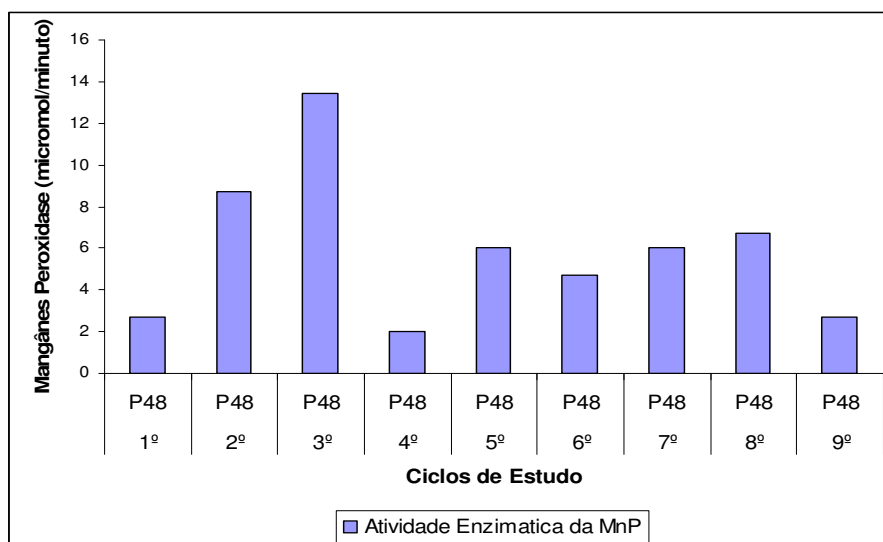


Figura 8: Variação na atividade enzimática da MnP ao longo dos ciclos que compuseram o experimento em batelada repetida

#### 4 AGRADECIMENTOS

A Deus, ao CNPq – Brasil pelo apoio financeiro (Edital Jovens Pesquisadores no. no. 567552-2008) concessão de bolsas de iniciação científica.

#### 5 CONCLUSÃO

A utilização de *Phanerochaete chrysosporium* no reator em batelada repetida se mostrou boa quanto à remoção de corante Vermelho do Congo. O pH exibido durante os ciclos estudados demonstra um bom perfil metabólico do fungo indicando que este estava degradando e formando subprodutos de origem ácida. Houve considerável remoção de matéria orgânica bruta e dissolvida no meio, remoções significativas das frações nitrogenadas e um bom perfil de atividade enzimática, entretanto, não houve remoções significativas quanto às frações fosfatadas no meio.

#### REFERÊNCIAS

AGUIAR FILHO, J. M. M. **Análise enzimática de fungos lignocelulolíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana de açúcar.** Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agrossistemas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz), 80p., Piracicaba, 2008.

ALoui, F., ABID, N., ROUSSOS, S., SAYADI, S. **Decolorization of semisolid olive residues of “alperujo” during the solid state fermentation by *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Pycnoporus cinnabarinus* and *Aspergillus niger*.** Biochemical Engineering Journal, v. 35, 120 – 125, 2007.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20a. ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

BARBOSA, B. C. A. **Biorremediação de água residuária sintética têxtil por uso de tratamento biológico conjugado anaeróbio/aeróbio.** Monografia de Conclusão do Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental – IFCE - 2009.

GRIFFIN, D. H. **Fungal physiology.** 2 ed. New York. Wiley-Liss, 458 p. 1994.

KAMIDA, H. M., DURRANT, L. R., MONTEIRO, R. T. R., ARMAS, E. D. (2005). **Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*.** Química Nova, Vol. 28, No. 4, 629-632.

KHELIFI, E., GANNOUN, H., TOUHAMI, Y., BOUALLAGUI, H., HAMDI, M.. **Aerobic decolourization of the indigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors.** Journal of Hazardous Materials, v. 152, n. 2, p. 683-689, 2008.

LI, S. C., KANE, P. M.. **The yeast lysosome-like vacuole: Endpoint and crossroads.** 2008. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, Volume 1793, Edição 4, Abril/2009, p. 650-663.

SILVA FILHO, H. A. SANTOS, M. V. E. SAMPAIO, G. M. M. S. ARTHAUD, I. **Ensaio de Toxicidade e Remoção de corantes têxteis por processo biológico.** II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa – PB – 2006.

SINGH, S., PAKSHIRAJAN, K. **Enzyme activities and decolourization of single and mixed azo dyes by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*.** International Biodeterioration and Biodegradation, v. 64, p. 146 – 150, 2010.

SONGULASHVILI, G.; ELISASHVILI, V.; WASSER, S.P.; NEVO, E.; HADAR, Y. (2007). **Basidiomycetes laccase and manganese peroxidase activity in submerged fermentation of food industry wastes.** *Enzyme Microb. Technol.* 41, 57-61.