



I-106 - AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE FUNGOS DE DECOMPOSIÇÃO BRANCA NA REMOÇÃO DO CORANTE FD&C AZUL Nº2 INDIGOTINA EM ÁGUA NO PROCESSO DE FILTRAÇÃO LENTA EM ESCALA PILOTO: ETAPA DE ESCOLHA DA ESPÉCIE A SER APLICADA NA FILTRAÇÃO LENTA

Maria Margareth Gonçalves Lopes⁽¹⁾

Farmacêutica pela Universidade Federal de Goiás. Especialista em tratamentos de resíduos sólidos e líquidos (UFG) Mestre em Engenharia Ambiental (UFG).

Mariangela Fontes Santiago⁽²⁾

Doutora em Química pela Universidade Estadual de Campinas (11/1999) e mestre em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa (2/1993). Atualmente é Revisor da Revista Eletrônica da Faculdade de Farmácia e professor associado I da Universidade Federal de Goiás. Membro do programa de pós-graduação da Engenharia do Meio Ambiente da Universidade Federal de Goiás, tendo experiência nas áreas de Bioquímica e Microbiologia.

Fernanda Neiva Uto⁽³⁾

Bióloga pela Universidade Estadual de Goiás. Gestora Ambiental pelo CEFET-GO. Mestranda em Engenharia Ambiental (PPGEMA-UFG).

Endereço⁽¹⁾: Rua T-36, 1477 – Setor Bueno – Goiânia – GO – CEP: 74223-050 – Brasil – e-mail: Margareth@ortoevidente.com.

Endereço⁽²⁾: Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Departamento de Tecnologia Farmacêutica. Praça Universitária esquina com primeira avenida- Setor Universitário - Goiânia, GO – CEP: 74605-220 -Brasil - Caixa-Postal: 131 - Telefone: (62) 2096044 Ramal: 225 Fax: (62) 2096037 URL da Homepage: <http://www.farmacia.ufg.br>

Endereço⁽³⁾: Av T63 qd 02b lt15 Bairro Anhanguera - Goiânia - GO. e-mail: fernanda.uto@gmail.com

RESUMO

Nas atividades industriais geradoras de resíduos os corantes são amplamente encontrados nos efluentes, quase sempre, constituindo um problema de ordem ambiental devido à sua toxicidade. O uso de fungos na degradação de corantes vem sendo estudado em diversos trabalhos científicos enquanto as vantagens econômicas e ambientais do uso de filtros lentos na produção de água bacteriologicamente segura há muito tempo já está descrita por diversos autores. Este trabalho teve por objetivo investigar a eficiência da remoção de corante artificial FD&C azul nº2 Indigotina, com uso do fungo de degradação branca *Trametes versicolor* em combinação com a filtração lenta. Para isso, foram instalados dois protótipos de filtros lentos denominados FL-A e FL-B em escala laboratorial, sendo que o filtro FL-A, foi inoculado com o fungo e o filtro FL-B, utilizado como controle, não foi inoculado com fungo. Os resultados mostraram que a filtração lenta tem grande potencial para remoção eficiente de cor quando empregada em conjunto com o fungo *Trametes versicolor*. Esta etapa do trabalho, ora apresentada, foi necessária para escolha da melhor espécie de fungo de degradação branca a ser introduzida no processo de filtração. Os critérios estabelecidos foram o menor desenvolvimento de biomassa, a maior produção enzimática e a melhor capacidade de descolorimento do corante FD&C azul nº2 Indigotina baseado no número de erlenmeyers descolorados.

PALAVRAS-CHAVE: Fungo de degradação branca; Corante; Filtração lenta.

INTRODUÇÃO

Com o advento da indústria os corantes sintéticos passaram a ser largamente empregados na produção têxtil, de curtumes, síntese de fármacos, produção de alimentos, tintas de paredes, tintas automotivas e muitos outros, desta forma passaram a ser amplamente encontrados nos efluentes, quase sempre, constituindo um problema de ordem ambiental devido à sua toxicidade e ao descarte inadequado (SOUZA, PERALTA-ZAMORA, 2005).



Os corantes podem constituir um problema ambiental, com alteração da biota pela diminuição da penetração da luz em ambientes aquáticos e também um risco para a saúde pública, uma vez que esses corantes podem ser mutagênicos e/ou carcinogênicos. Os problemas ambientais associados à indústria têxtil derivam, sobretudo, do uso de corantes orgânicos dentre os quais um grande número desses compostos são recalcitrantes e também apresentam caráter carcinogênico e mutagênico. A descoloração de resíduos têxteis contendo corantes pode ser levada a cabo por enzimas produzidas por microrganismos (GRAÇA, 2000).

As indústrias, mais por exigência legal e menos por consciência ambiental, demandam tecnologias que sejam acessíveis do ponto de vista operacional, tecnológico e sobretudo não onerosas, uma vez que o tratamento dos resíduos tem reflexos no preço final do produto para o consumidor (LOPES, 2003).

Fungos de degradação branca, como *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium*, podem degradar um largo espectro de corantes azos, antraquinonas, heterocíclicos, trifenilmetano, e corantes polímeros, além da mineralização parcial deles por sistema enzimático e não-enzimático desses fungos (CAMARERO et al., 2005).

Pesquisas realizadas por Bahgat, Dewedar, Zayed (1999); Baig, Mehmood, Matin (2003); Farooq, AI-Yousef, (1993), mostram boas perspectivas na utilização da filtração lenta em plantas industriais para tratamento de efluentes produzindo água para reuso. Neste trabalho propõe-se a remoção de cor artificial, uma vez que esta apresenta risco para a saúde humana e o meio-ambiente, utilizando-se a metodologia de degradação enzimática por fungos de decomposição branca aplicado ao sistema de filtração lenta.

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste ensaio foi realizada a avaliação de espécies mediante o cultivo de fungos em placas de Petri, testes de descoloramento de corantes com Erlenmeyers, estudo e aplicação de determinações enzimáticas para Lacase (SZKLARZ et al., 1989-modificado), Manganês Peroxidase (KUWAHARA et al., 1984) e Lignina Peroxidase (TIEN e KIRK, 1984-modificado).

Para determinações enzimáticas foram realizados testes de uniformidade de cubetas e validação do espectrofotômetro B582- Micronal S/A –São Paulo, utilizado para análises enzimáticas e determinação de cor, comparando-o com outro equipamento a fim de determinar sua exatidão.

Os fungos utilizados foram obtidos a partir da Coleção de Cultura Tropical (CCT) Fundação André Tosello, Campinas, SP, *Trametes versicolor* (CCT 4521), *Lentinus edodes* (CCT 4519) e *Phanerochaete chrysosporium* (CCT 1999).

A escolha desses fungos como objeto de estudo deu-se em função de artigo científico que relata a eficiência de fungos na degradação de corantes (EICHLEROVÁ et al., 2005) e de experimentos laboratoriais preliminares que corroboraram os indicativos propostos.

Para cultivo dos fungos em placa de Petri foi preparado o meio de cultura denominado BGA (Batata, Glicose, Agar): 200mL de caldo batata, 20g de Glicose; 15g de agar – agar; água destilada em quantidade suficiente para completar 1000mL. O caldo de batata é obtido pelo cozimento de 1 Kg de batatas inglesas obtidas comercialmente em 1L de água, neste caso água destilada, coada em peneira de plástico e em filtro de papel, sendo o volume final completado para 1 L.

O meio foi autoclavado em temperatura de 120°C por 15 min e distribuído em placas de Petri, 10 a 15 mL por placa. Cada placa foi inoculada centralmente com um disco de 9 mm do micélio do fungo, esse procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar. As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 7 dias para crescimento dos fungos. Essa etapa é realizada para preparação das colônias a serem usadas na pesquisa e manutenção das espécies.

Posteriormente foram transferidos 10 discos de tamanho padronizado em 9 mm, do micélio de cada espécie de fungo separadamente, para 6 Erlenmeyers de 500mL, previamente autoclavados, contendo 200mL de água de poço, sem adição de nutriente, cultivados pelo período de sete dias à temperatura ambiente, sem agitação.



Decorridos os sete dias, foi adicionado, aos Erlenmeyers contendo os 10 discos do fungo e água de poço, 100µl de corante FD&C azul N ° 2 Indigotina obtendo-se a concentração 20mg/L de corante. A determinação enzimática, nesta etapa, foi realizada antes da adição do corante, depois da adição do corante e depois da descoloração que ocorreu em 24 horas.

Posteriormente à escolha da espécie, a biomassa do fungo *Trametes versicolor* foi submetida a ensaios para definição de uma tecnologia para adição desta espécie a um sistema de filtração lenta em escala piloto construído para esta finalidade. A solução descorada com fungos foi mantida por um período 25 dias para verificação da estabilidade da descoloração. Na Figura 2 pode-se verificar a representação esquemática do estudo para seleção da espécie de fungo a ser utilizada no processo de filtração lenta. Nos ensaios da primeira carreira de filtração foram realizadas análises enzimáticas da solução corante de abastecimento, do sobrenadante dos filtros FL-A e FL-B, e do filtrado de ambos os filtros, ficando estabelecido que somente o sobrenadante do filtro FL-A fosse submetido à análise enzimática para diminuir a produção de resíduos de reagentes, uma vez que foram detectadas enzimas somente no sobrenadante do filtro FL-A. As atividades enzimáticas foram determinadas espectrofotometricamente e os resultados expressos em abs/min considerando o substrato oxidado durante 1 minuto, por 1 ml de caldo filtrado (U/ml).

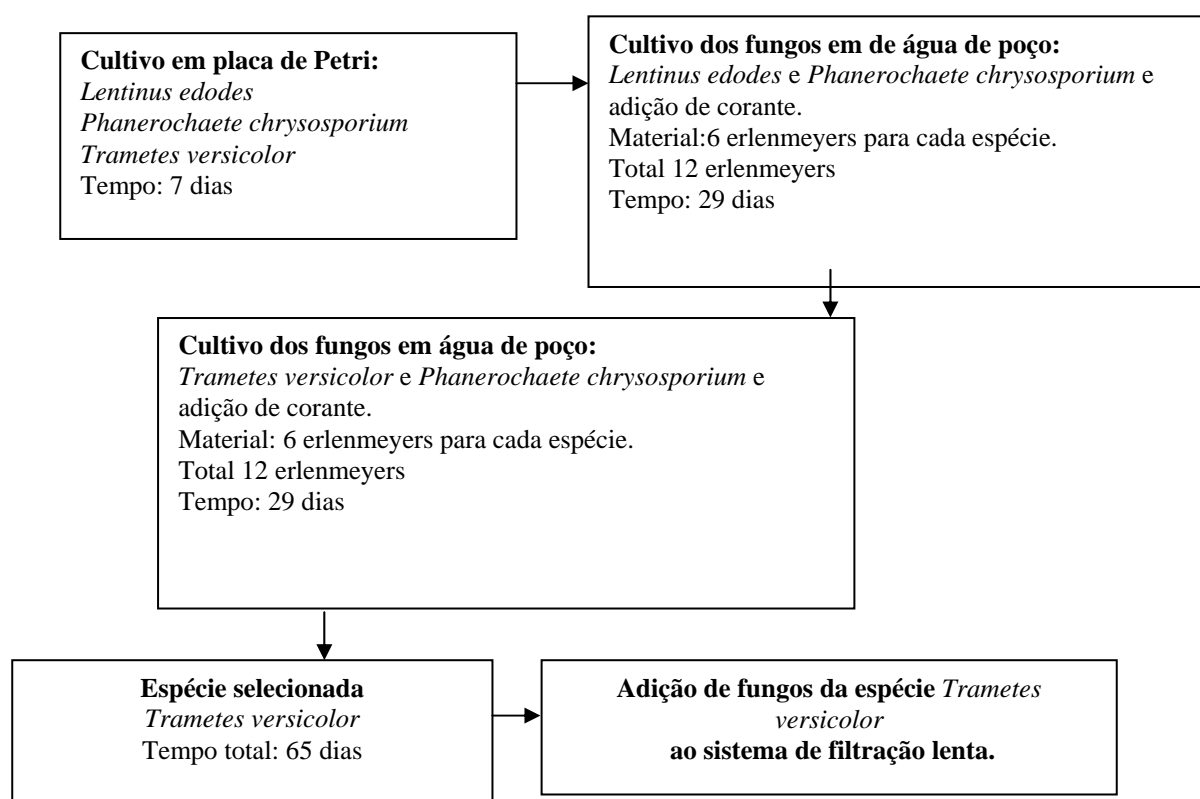


Figura 1 - Escolha da espécie de fungo a ser adicionada ao filtro lento FL-A.

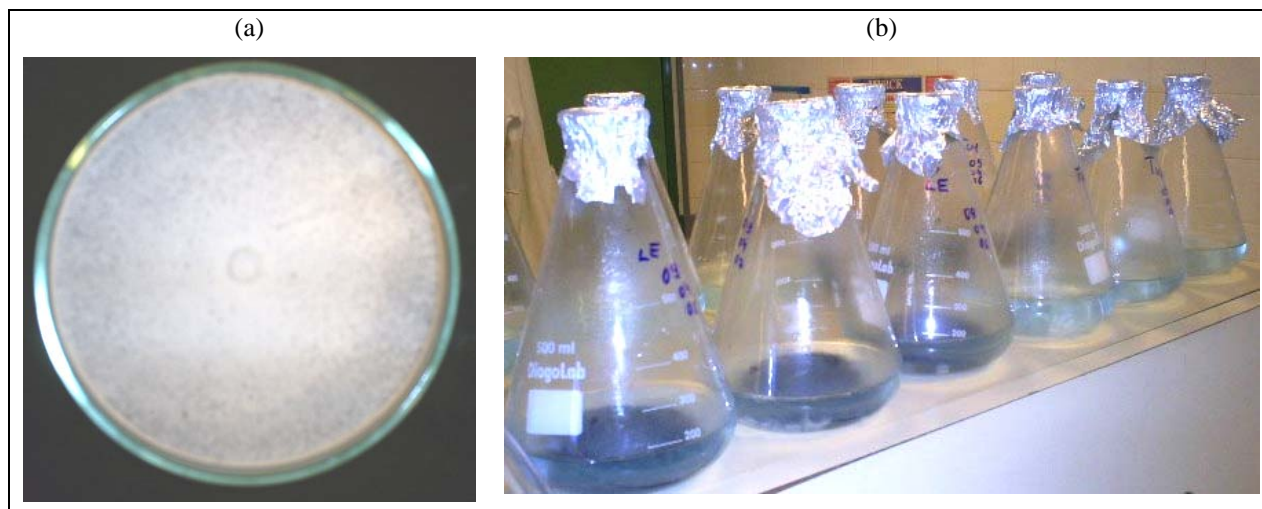


Figura 2 - Cultivo do fungo e experimento para escolha da espécie:(a) Cultivo do fungo *Phanerochaete chrysosporium* em placa. (b) Cultivo em solução dos fungos *Lentinus edodes* e *Phanerochaete chrysosporium*.

RESULTADOS

No ensaio comparativo entre os fungos *Phanerochaete chrysosporium* e *Lentinus edodes* o melhor resultado foi o menor crescimento do *Phanerochaete chrysosporium* com maior número de erlenmeyers descorados, pois é desejável uma menor quantidade de biomassa.

Na comparação entre o *Phanerochaete chrysosporium* e o *Trametes versicolor*, o fungo foi mais eficiente na descoloração do corante FD&C Azul N°2 Indigotina na concentração de 20mg, com menor biomassa foi o *Trametes versicolor*.

Nos Quadros 4.3.1 e 4.3.2 estão apresentados os resultados do ensaio com erlenmeyers contendo água de poço, discos de fungo e adição de corante FD&C azul N ° 2 Indigotina, indicando que o maior número de Erlenmeyers descorados e a maior produção enzimática foi encontrada no experimento com *Trametes versicolor*.

Quadro 1 - Primeira etapa do experimento preliminar para seleção do fungo.

Primeira etapa do experimento para seleção da espécie de fungo	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>		<i>Lentinus edodes</i>	
	2 unidades	3 unidades	1 unidade	3 unidades
Lacase ($\mu\text{M}/\text{min}$) inicial antes da adição do corante	0,8	0,59	0,68	0,076
Lacase intermediária ($\mu\text{M}/\text{min}$)	0,35	0,26	0,35	0,29
Lacase final ($\mu\text{M}/\text{min}$) pós 25 dias do descoloração	0,002	0,001	0,003	0,003

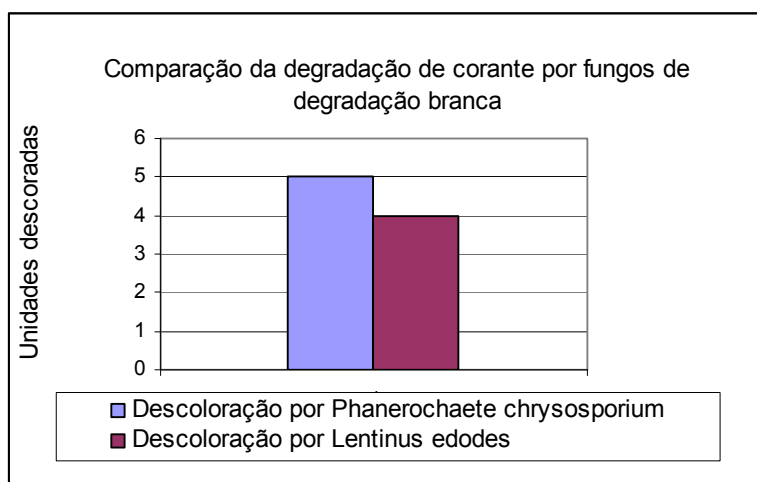
**Quadro 2 - Segunda etapa do experimento preliminar para seleção do fungo.**

Segunda etapa do experimento para seleção da espécie de fungo para inoculação no FLA	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>		<i>Trametes versicolor</i>	
Descoloração em N° de erlenmeyers	3 unidades	3 unidades	3 unidades	3 unidades
Lacase ($\mu\text{M}/\text{min}$) inicial antes da adição do corante	1,6	1,56	2,52	2,28
Lacase intermediária ($\mu\text{M}/\text{min}$)	0,45	0,53	0,65	0,80
Lacase final ($\mu\text{M}/\text{min}$) pós 25 dias da descoloração	0,003	0,005	0,003	0,003

A produção da lacase, pelo fungo *Trametes versicolor*, foi maior antes da adição do corante e decaiu com o passar dos dias, porém a descoloração após 25 dias foi irreversível. Não é possível, neste experimento, discorrer sobre o uso do corante como fonte de carbono pelo fungo uma vez que não houve produção enzimática após o acréscimo do corante.

Todos os fungos testados foram capazes de sobreviver nas condições impostas, apresentando uma turvação da solução relativa ao seu crescimento. O fungo selecionado, neste experimento, foi o *Trametes versicolor* que promoveu uma descoloração bastante eficiente e mais rápida da solução contendo 20mg/L do corante FD&C Azul N°2 Indigotina, apresentando uma produção da enzima lacase maior do que a dos outros fungos testados, não sendo detectado, neste experimento, as enzimas MnP e LgP.

Nas figuras 3 e 4 foram apresentados os resultados comparativos entre a descoloração apresentada pelos respectivos fungos em número de unidades descoradas, sendo o fungo *Trametes versicolor* foi mais eficiente na descoloração do corante FD&C azul n°2 Indigotina.

**Figura 3 - Estudo comparativo da descoloração do corante FD&C azul n°2 Indigotina.**

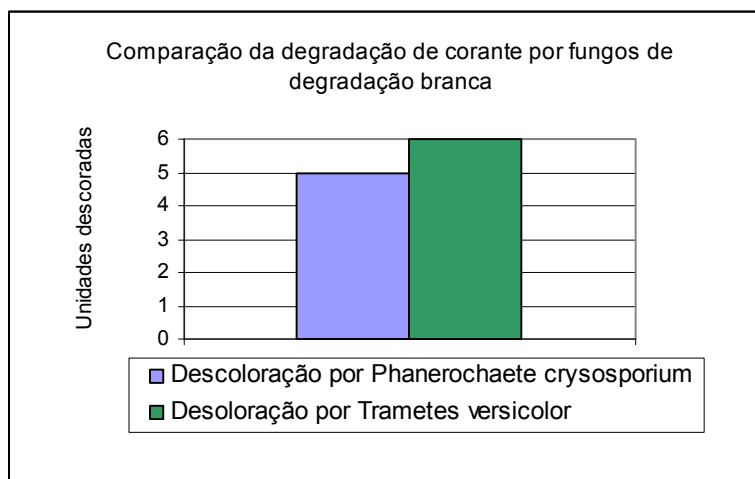


Figura 4 - Estudo comparativo da descoloração do corante FD&C azul nº2 Indigotina.

Nas figuras 5 e 6 foram apresentados os gráficos relativos à produção de lacase, ficando evidente que o maior pico de produção de lacase deu-se antes da adição do corante, por volta do 5º e 6º dia.

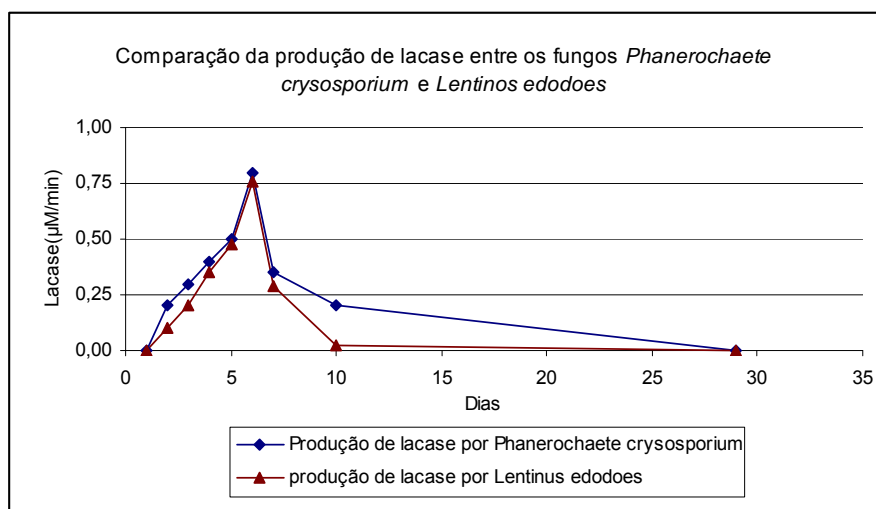


Figura 5 - Estudo 1 comparativo da produção de lacase por fungos com adição de corante no 7º dia.

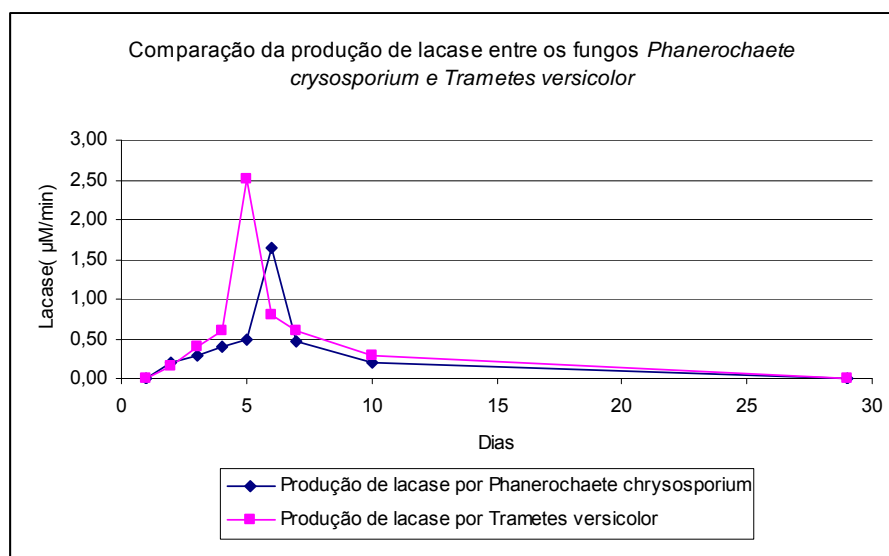


Figura 6 - Estudo 2 comparativo da produção de lacase por fungos com adição de corante no 7º dia.

Martins et al. (2003) no estudo comparativo de degradação fúngica de corantes azo, também encontrou que o fungo *Trametes versicolor* foi o mais apropriado para a degradação do efluente simulado com oito tinturas têxteis com grupos carboxílicos e sulfônicos, apresentando as porcentagens mais elevadas de descoloração e os valores mais baixos de biomassa.

CONCLUSÕES

No experimento para indicação da melhor espécie para aplicação ao sistema de filtração lenta o fungo selecionado foi o *Trametes versicolor*. Todos os fungos testados foram capazes de descolorir o corante e produzir lacase. Os estudos posteriores indicaram ser possível a adição da biomassa deste fungo ao sistema de filtração lenta, demonstrando haver uma perspectiva promissora para a utilização de fungos de degradação na descoloração de corantes associados às tecnologias de filtração lenta.

AGRADECIMENTO

À FAPEG (Fundação de amparo a pesquisa do estado de Goiás)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAHGAT M; DEWEDAR, M. A.; ZAYED A. Sand-filters used for wastewater treatment: buildup and distribution of microorganisms. **Water Research**, Vol. 33, Nº.8, p.1949-1955, Egito, 1999.
2. BAIG, M. A.; MEHMOOD, B.; MATIN, A. Removal of chromium from industrial effluents by sand filtration. **Electronic Journal Environmental Agricultural and Food Chemistry**, vol.2, Nº 3, p. 374-379, Paquistão, 2003.
3. EICHLEROVÁ, I; HOMOLKA, L.; LISÁ L.; NERUD F. Orange G and Remazol Brilliant Blue R decolorization by white rot fungi *Dichomits squalens*, *Ischnoderma resinsum* and *Pleurotus calyprtratus*. **Chemosphere**, vol. 60, p.398-404, Prague, Czech Republic, 2005.
4. CAMARERO, S.; IBARRA D.; MARTÍNEZ, M. J.; MARTÍNEZ, A. T. Lignin-Derived compounds as efficient laccase mediators for decolorization of different types of reocaltrant dyes. **American Society for Microbiology, Applied Biochemical Biotechnology** vol. 71, n.º 4, p. 1775-1784, apr. 2005.
5. GRAÇA, M. B. S. **Aplicação de sistemas enzimáticos à degradação de corantes têxteis**. Tese (Doutorado em Engenharia Têxtil) Universidade do Minho, Escola de Engenharia, Departamento de Engenharia Têxtil, Portugal, p.156 2000.



6. KUWAHARA, M.; GLENN, J. k.; MORGAM, M. A.; GOLD, M, H. Separation and Characterization of two extra cellular H_2O_2 dependent oxidizes from ligninolytic Cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. **FBS Letter**, vol. 169, p. 247-250, 1984.
7. LOPES, M.M.G. Levantamento e identificação das substâncias encontradas nos resíduos líquidos e sólidos de uma indústria farmacêutica. Monografia apresentada como requisito para a conclusão do Curso de Especialização em Tratamento e Disposição Final de Resíduos Sólido e Líquido da Universidade Federal de Goiás, Escola de Engenharia Civil. 2003.
8. MARTINS A. M. M.; LIMA, N.; SILVESTRE A. J. D.; QUEIROZ, M. J.; Comparative studies of fungal degradation of single or mixed bioaccessible reactive azo dyes. **Chemosphere**, vol., p. 52, 967–973, 2003.
9. SOUZA, C.R.L.; PERALTA-ZAMORA, P. Degradação de corantes pelo sistema ferro metálico/peróxido de hidrogênio. **Química Nova**, vol. 28, n.º 2, 226-228, 2005
10. SZKLARZ, G. D.; ANTIBUS, R. K.; SINSABAUGH, R. L.; LINKINS, A. E. Production of phenoloxidases and peroxidases by wood-rotting fungi. **Mycology**, vol. 81, p. 234-240, 1989.
11. TIEN, M.; KIRK, K. Lignin degrading Enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: Purification Characterization and Catalytic Properties of a Unique H_2O_2 requiring Oxygenizes. **Proceeding National Academic Science USA**, vol. 81, p. 2280-2284, USA, 1984.