



Uso de reatores em batelada operados em série inoculados com fungo basidiomiceto para remoção de corante

Marcus Vinicius Freire Andrade¹, André Cunha Leite², Helison Oliveira Máximo², Rinaldo Araújo³, Kelly Rodrigues³

¹Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental – IFCE. e-mail: marcusviniciusan@gmail.com

²Graduando Tecnologia e Gestão Ambiental – IFCE. Bolsistas do CNPq. e-mail: fulaninhosdetal@ifto.edu.br

³Professora do Departamento de Química e Meio Ambiente – IFCE. e-mail: gloriamarinho@ifce.edu.br; kelly@ifce.edu.br

Resumo: O importante cenário que a indústria têxtil representa no Brasil insere um quadro de grande produção com conseqüente aumento de insumos e geração de resíduos, principalmente, os líquidos. Estes resíduos apresentam alta toxicidade e podem interferir em toda a ecologia do ambiente caso seja lançado inadvertidamente. A busca de novas tecnologias eficientes e com relação custo benefício boa é o foco da atualidade. Frente a isso, o uso de fungos na biorremediação de efluentes coloridos têm mostrado resultados promissores que norteiam a sua aplicação para o tratamento destes resíduos. O objetivo deste trabalho foi usar dois reatores em bateladas sequenciais, operados em série e inoculados com o fungo *Phanerochaete chrysosporium* para remoção de corante Vermelho do Congo, sob a influência da presença de glicose como cossustrato, na concentração de 1g/L, no reator R1 e de 0,5g/L, no reator R2. Os reatores foram monitorados através da medição analítica do valor de pH, e das concentrações de corante, demanda química de oxigênio, amônia, nitrato e fósforo total. Foi realizada a atividade da enzima *manganês peroxidase*. Ao final de 10 ciclos estudados, registrou-se 95% de remoção global de corante, 80% de matéria orgânica, 76% para amônia, 88% para nitrato e 8% para fósforo total. A enzima *manganês peroxidase* se manteve em níveis basais no meio mineral apresentando valor médio de 2,6 $\mu\text{mol}/\text{min}$ no reator R1 e 2,3 $\mu\text{mol}/\text{min}$ no reator R2. A aplicação de reatores em série propiciou uma maior mineralização do corante e aumento da remoção percentual de amônia, nitrato e matéria orgânica, indicando assim a viabilidade do uso de reatores biológicos com fungos para o tratamento de efluentes têxteis.

Palavras-chave: Fungos, Glicose, Reatores em Bateladas, Vermelho do Congo.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação de águas naturais tem sido um dos grandes problemas ambientais na sociedade moderna. A economia de água em processos produtivos vem ganhando especial atenção devido ao valor agregado que tem sido atribuído a este bem, através de princípios como consumidor pagador e poluidor pagador incorporados em nossa legislação, através da Lei n°. 9433/97 (NASCIMENTO, 2008).

Dentro deste contexto, o setor têxtil apresenta destaque especial, devido ao seu grande parque industrial instalado gerar grandes volumes de efluentes, os quais, quando não corretamente tratados, podem causar sérios problemas de contaminação ambiental (SILVA FILHO *et al.*, 2007).

Alguns dos problemas comumente causados pelos corantes residem no fato dos mesmos alterarem a atividade fotossintética pela redução da penetração da luz solar, bem como na sua interferência em certos procedimentos operacionais do tratamento de águas residuárias municipais, como a desinfecção com ultravioleta (CUNICO *et al.*, 2009). Além disso, os corantes podem exercer toxicidade a certas formas da vida aquática devido à presença de metais substituintes e cloreto, sendo carcinogênicos e mutagênicos, existindo relatos de efeitos em humanos (BINUPRIYA *et al.* 2008).

A ruptura das ligações dos corantes, principalmente os que possuem a função azo, resulta na formação de subprodutos (aminas aromáticas) e outros intermediários com potencial carcinogênico e por isso é preciso à remoção destes corantes antes da disposição desses efluentes nos corpos receptores. (DAMASCENO, 2008).



A remoção de corantes de efluentes industriais é uma tarefa desafiadora, porque, em geral, eles são estáveis e de difícil biodegradação. Apesar de sua coloração bem visível, a concentração do corante no efluente é baixa, porém é responsável por afetar não só a estética, mas a transparência das águas e a solubilização de gases em lagos, rios e outros corpos aquáticos, causando danos à flora e à fauna (PASCHOAL e TREMILIOSI-FILHO, 2005).

Atualmente, os fungos da podridão branca estão sendo utilizados na biorremediação de poluentes ambientais recalcitrantes e em tratamentos de efluentes industriais, ocorrendo a diminuição da toxicidade dos mesmos durante o processo de descontaminação, de forma natural, não necessitando de substâncias químicas (SOUSA e ROSADO, 2009). A utilização de fungos é uma alternativa promissora de tratamento, em face a capacidade destes micro-organismos de mineralizar compostos poluentes através de produção e liberação de enzimas extracelulares não específicas com alto poder oxidativo, sendo assim, as responsáveis pela biodegradação, transformação e redução da toxicidade de corantes (BERGSTEN-TORRALBA *et al.* 2009).

Neste contexto, a presente pesquisa propõe o uso de dois reatores em bateladas sequenciais em série para avaliar a remoção do corante vermelho do congo e sua mineralização, sobre influência da glicose como co-substrato em concentrações diferentes, em ambos os reatores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi desenvolvida utilizando dois reatores confeccionados em vidro, com biomassa imobilizada de *Phanerochaete chrysosporium*, reatores R1 e R2. O desenvolvimento da pesquisa compreendeu a execução das seguintes etapas: cultivo e contagem de esporos fúngicos, imobilização da biomassa, montagem e operação dos reatores em bateladas sequenciais em série.

2.1. Cultivo e contagem de esporos fúngicos

A espécie fúngica *Phanerochaete chrysosporium* foi cultivada em placas de Petri com meio de cultura descrito adiante, (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 em estufa microbiológica à 28°C, durante cinco dias. A seguir, os esporos foram removidos através de uma solução salina isotônica a base de Tween 80, sendo armazenados em frasco estéril, para posterior contagem microscópica em Câmara de Neubauer. A concentração de 2×10^6 esporos/mL foi utilizada para inocular o material suporte contido nos reatores.

2.2. Imobilização da Biomassa em Meio de Suporte

O material utilizado para a imobilização da biomassa foi espuma de poliuretano, usou-se redes de polietileno, como auxílio, para agrupar as espumas e facilitar a imobilização. O material foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Cada reator recebeu três redes de polietileno que continham em seu interior 5 gramas de espuma de poliuretano cada, formando assim, um total de quinze gramas de meio suporte, igualmente dividida nas redes de polietileno.

Cada conjunto foi transferido para os respectivos reatores contendo meio nutritivo composto por macro e micronutrientes. O meio nutritivo foi mantido durante 24 horas sem aeração, com o objetivo de promover a fixação dos esporos fúngicos no material suporte. Após esse período, o reator foi aerado continuamente, e a cada 48 horas houve a manutenção e troca do meio nutritivo.

2.3. Montagem e operação dos reatores em batelada sequencial em série

Os reatores utilizados no estudo, os quais possuíam volume reacional de 4L (R1) e 3,5L (R2) foram operados em ciclos de 48 horas. Estes foram dispostos em série, onde, R1 foi alimentado com meio mineral, descrito adiante, e seu efluente, após 48 horas, foi posteriormente encaminhado para o reator R2, a fim de obter maior mineralização possível do corante.

O reator R1 recebeu a cada ciclo meio mineral com a seguinte composição (g/L): KH_2PO_4 (0,2), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,5), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,1), $(NH_4)_2SO_4$ (0,2) e Vermelho do Congo (0,015). No meio mineral foi adicionado solução de micronutrientes (10mL/L), constituída por (g/L): $MgSO_4 \cdot 7H_2O$



(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).

O pH do meio mineral, em R1, teve seu valor modificado para faixa ácida (pH 4,5). Além disso, foi adicionado neste mesmo reator, glicose na concentração de 1g/L.

O reator R2 recebeu os efluentes oriundos do reator R1, após o período de um ciclo (48 horas) e a este foi adicionado glicose na concentração de 0,5g/L.

As amostras retiradas para monitoramento dos reatores foram nomeadas da seguinte forma: afluente R1 (ER1), efluente R1 – afluente R2 (SR1 – ER2) e efluente R2 (ER2).

O acompanhamento dos reatores foi realizado através das análises físico-químicas de pH, corante, DQO centrifugada, amônia, nitrato, fósforo total. As análises seguiram os procedimentos descritos em APHA (2005), excetuando-se corante que foi realizada de acordo com Rodrigues *et al.* (2010).

Realizou-se ainda a análise da enzima *manganês-peroxidase* ao final de cada ciclo, e sua técnica encontra-se descrita em Aguiar Filho (2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características físico-químicas do afluente e efluente dos reatores biológicos em batelada operados em série são exibidas na Tabela 1.

Tabela 1: Valores médios e de desvios-padrão dos parâmetros analisados do afluente e do efluente dos reatores em bateladas sequenciais.

Parâmetro Analítico	Valor médio \pm Desvio Padrão		
	Afluente R1	Efluente R1 / Afluente R2	Efluente R2
pH			
DQO (mg/L)	809 \pm 189	212 \pm 154 / 510 \pm 264	144 \pm 57
Corante (mg/L)	14,3 \pm 4	2,05 \pm 2	0,65 \pm 0,7
Amônia (mg/L)	64,7 \pm 6,8	22,9 \pm 11	15,3 \pm 5,6
Nitrato (mg/L)	6,5 \pm 1,2	4,7 \pm 1,6	0,7 \pm 1
Fósforo Total (mg/L)	48,9 \pm 5	48,7 \pm 8	45,7 \pm 4

O valor médio de corante afluente no reator R1 foi de 14,3 mg/L. Os valores efluentes de corante no reator R1 situaram-se no valor médio de 2,05 mg/L e para o reator R2, 0,65 mg/L. Quanto à matéria orgânica carbonácea, em termos de DQO dissolvida, o valor médio afluente para o reator R1 foi de 809 mg/L. Vale ressaltar que os valores afluentes de matéria orgânica no reator R2 têm seu valor maior, em virtude da adição de 0,5 g/L de glicose (cossustrato) no efluente do R1, que compõe o meio afluente do reator R2.

Quanto à remoção de corante no reator R1, esta apresentou valor médio de 85% para os 10 ciclos de estudo e variou entre 50% e 96%. Durante todos os ciclos, ocorreu remoção de corante do meio, indicando a eficiência do reator R1 na redução da concentração do Vermelho do Congo. Já para o reator R2, a remoção média alcançada foi de 50%, variando entre 14% e 96%, e nos ciclos 8º e 10º não houve remoção de corante. O sistema em série alcançou eficiência global de 95%, exibindo assim excelente remoção de corante, o que indicou que o uso dos reatores em série contribuiu para uma maior remoção do poluente.

O uso de cossustrato (glicose) em ambos os reatores, possivelmente, auxiliou para que estes atingissem bons percentuais de remoção de corante registrados neste trabalho, fato reportado por diversos autores como RODRIGUES, *et al.* (2011). O reator R1 foi responsável pela maior parte do consumo e metabolização do corante, restando ao reator R2, à função de polimento de seu residual, o que de certa forma foi endossado pelos percentuais de remoção do poluente em ambos os reatores, ainda que em R2, nos ciclos 8º e 10º, não se tenha observado diminuição da concentração de Vermelho do Congo.

Pant *et al.* (2008) trabalharam com o fungo *Phanerochaete chrysosporium* para remoção de corante Vermelho do Congo (15 mg/L) em meio sintético, por uso de reatores em batelada sob agitação, investigando a presença de fonte de carbono e nitrogênio, e obtiveram 88,8% de remoção de corante em quinze dias de operação, na presença de 5 g de glicose/L. Semelhantemente a estes autores, na presente pesquisa foram obtidos percentuais médios de remoção de corante de 85% (R1) e 50% (R2), utilizando menor concentração de cossustrato, 1 g/L de glicose (R1) e 0,5 g/L de glicose (R2), e em menor período de tempo (48 horas), mostrando assim que uma maior concentração de cossustrato não implicou necessariamente em uma maior remoção do poluente.

Na Figura 1(a) estão apresentados os valores percentuais de remoção de corante para ambos os reatores operados.

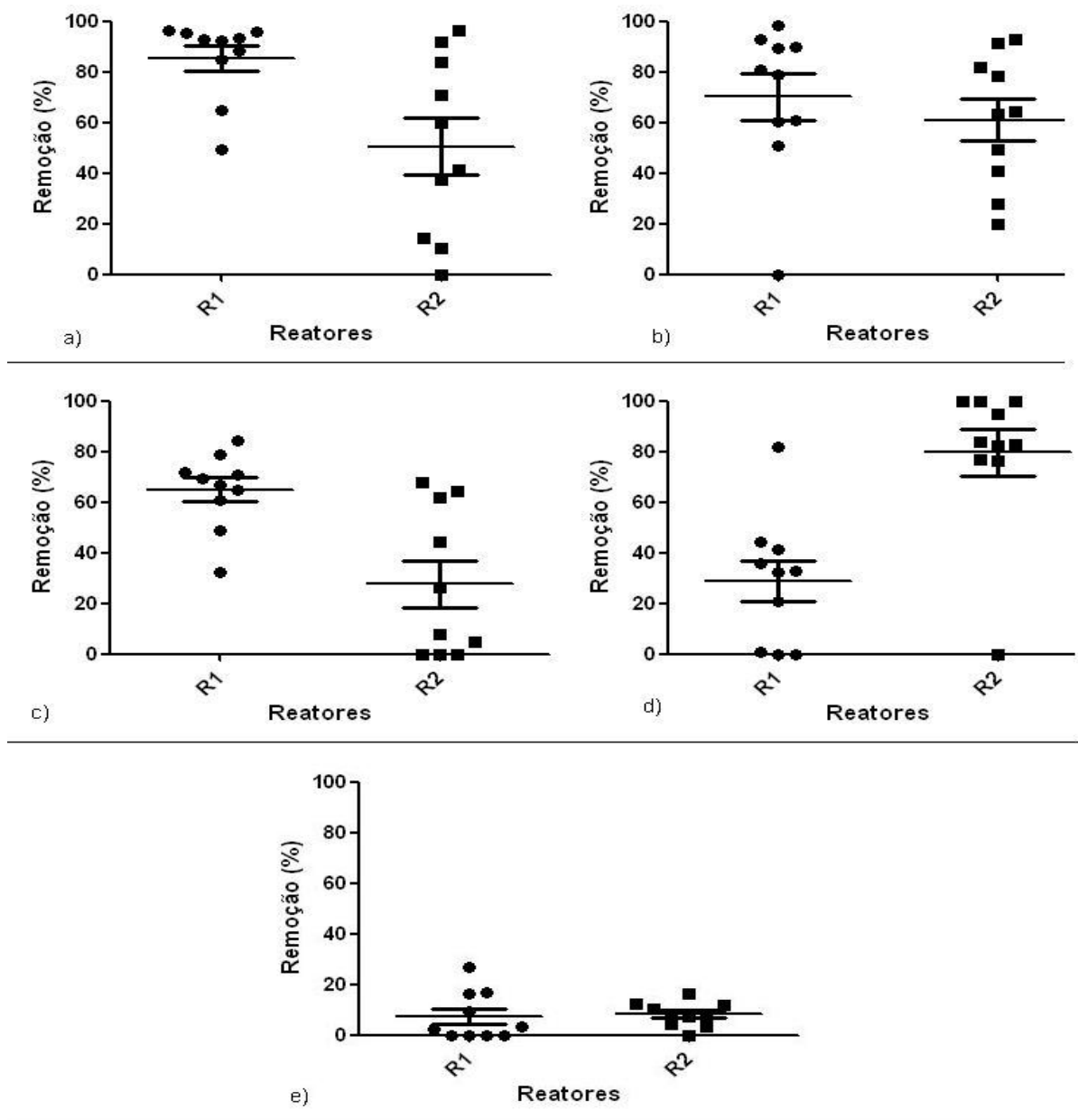


Figura 1: Valores percentuais de remoção exibindo a média e seu respectivo erro padrão para os reatores em bateladas seqüenciais operados em serie durante os ciclos estudados. Corante (a). DQO (b). Amônia (c). Nitrato (d). Ortofosfato (e).



Quanto à remoção de matéria orgânica, expressa em DQO dissolvida, o reator R1 apresentou remoção média de 70%, e variou na faixa de 51% a 98%, excetuando-se o 8º ciclo, onde não houve remoção, nos outros ciclos foram observadas remoções, mostrando a capacidade dos micro-organismos de consumirem o vermelho do congo como matéria orgânica.

Ainda para esta mesma variável, o reator R2 apresentou remoção média de 61% que oscilou para os 10 ciclos estudados, entre 20% e 91%. No 8º ciclo, apesar de não se ter registrado remoção de corante no reator R1, verificou-se que o reator R2 foi responsável pelo percentual de 64%, gerando uma média global de 59%. Contudo, a média do percentual de remoção global para o sistema durante a operação dos reatores foi de 80%.

Na Figura 1(b) estão exibidos os percentuais de remoção de DQO dissolvida em ambos os reatores que foram operados em regime batelada e em série.

Os percentuais de remoção de DQO dissolvida, cruzados aos de corante, podem indicar que os micro-organismos foram capazes de remover o corante e seus subprodutos, além da glicose adicionada, a qual também é fonte de carbono, em ambos os reatores.

Os dados pertinentes às frações nitrogenadas (amônia e nitrato) endossaram o bom desempenho do reator R1 quanto ao consumo de amônia, alcançando percentual de remoção de 65%, em contraposição ao reator R2 que apresentou percentual médio de 28%. Contudo, a remoção global para o sistema operado em série alcançou percentual de remoção de amônia superior, de 76%.

Já para nitrato, observou-se que o reator R1 apresentou uma baixa remoção média, situada em 29%, contrapondo-se ao reator R2, que alcançou para este mesmo parâmetro, remoção média de 80%. Da mesma forma que para amônia, a eficiência global do sistema foi muito melhor, tendo a mesma atingido remoção global de nitrato de 88%.

Na Figura 1(c) e 1(d) estão mostrados os percentuais de remoção de amônia e nitrato, respectivamente, em ambos os reatores em bateladas sequenciais.

Embora a amônia seja a fonte prontamente assimilada pelos fungos houve considerável remoção de nitrato, o que mostrou a versatilidade do *Phanerochaete chrysosporium* em consumir ambas as formas de nitrogênio. A assimilação de nitrato ou de nitrito pelos micro-organismos conduz à redução de ambas as formas de nitrogênio a amônia, através de vias metabólicas específicas (GRIFFIN, 1994), o que endossou os percentuais de remoção registrados.

Quanto a fósforo total, o reator R1 apresentou remoção média de 8%, e o reator R2, remoção média de 9%, perfazendo uma remoção global de 8%. Estes resultados mostraram que houve remoções baixas desta variável, de modo que o fósforo removido deve ter sido possivelmente, utilizado para o suprimento metabólico quanto à geração de ATP e produção de biomassa.

No reator R1 a remoção de fósforo total sofreu um pouco mais de variação nos percentuais, mas sem deixando um baixo erro padrão na média, e já no reator R2, os dados percentuais de remoção são mais homogêneos.

A enzima *manganês-peroxidase* (MnP) foi secretada e encontrada em valores baixos em ambos os reatores, 2,6 $\mu\text{mol}/\text{min}$ no reator R1 e 2,3 $\mu\text{mol}/\text{min}$ no reator R2. Esta enzima está implicada nos processos biotecnológicos e há indícios de sua participação frente à remoção de diversos poluentes, principalmente corantes. Na Figura 2 são mostradas as variações da atividade enzimática da MnP.



Figura 2: Variação na concentração da enzima *manganês-peroxidase* nos reatores em batelada operados em série, R1 e R2, ao longo dos ciclos de estudo.

A secreção desta enzima ligninolítica é influenciada pelas concentrações de nutrientes como carbono e nitrogênio (ELISASHVILI e KACHLISHVILI, 2009). Uma vez que nos reatores as condições nutricionais (corante e DQO – fonte de C; e amônia e nitrato – fonte de N) se mantiveram adequadas, justificou-se o fato da baixa secreção desta no meio, a qual, possivelmente seria aumentada caso houvesse redução acentuada nas concentrações dos nutrientes.

6. CONCLUSÕES

O fungo *Phanerochaete chrysosporium*, inoculado no sistema de reatores em bateladas sequeciais e operado em série, mostrou-se eficiente na remoção de corante Vermelho do Congo. O uso de cossustrato em ambos os reatores, possivelmente, auxiliou na obtenção dos percentuais de remoção de corante registrados em 85% para o reator R1 e 50% para o reator R2, perfazendo um percentual global de 95%. As remoções de DQO foram consideráveis em ambos os reatores. Registraram-se bons percentuais médios de remoção de nitrogênio em ambos os reatores, 29% e 80% para nitrato em R1 e R2 respectivamente e 65% e 28%, para amônia em R1 e R2, visualizando-se que a inclusão de um reator em série, auxiliou na remoção da fração nitrogenada e também do corante. A enzima *manganês peroxidase* apresentou variações mínimas em ambos os reatores e manteve-se no valor de 2,6 $\mu\text{mol}/\text{min}$ no reator R1 e 2,3 $\mu\text{mol}/\text{min}$ no reator R2.

AGRADECIMENTOS

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



REFERÊNCIAS

- BERGSTEN-TORRALBA, L.R.; NISHIKAWA, M.M; BAPTISTA, D.F; MAGALHÃES, D.P; DA SILVA, M. Decolorization of different textile dyes by *Penicillium simplicissimum* and toxicity evaluation after fungal treatment. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.808-817, 2009
- BINUPRIYA, A.R, SATHISHKUMAR, M., SWAMINATHAN, K., KU, C.S., YUN, S.E. Comparative studies on removal of Congo red by native and modified mycelial pellets of *Trametes versicolor* in various reactor modes. **Bioresource Technology**, Essex,v.99, p.1080–1088, 2008.
- CUNICO, P., MAGDALENA, C. P., CARVALHO, T. E. M., FUNGARO, D. A. **Adsorção de Corante Reativo Preto 5 em Solução Aquosa Utilizando Cinzas Leves de Carvão**. 2nd International Workshop, Advances in Cleaner Production, São Paulo – Brazil – May 20th-22nd – 2009.
- DAMASCENO, O. I. C. **Remoção de corantes em solução aquosa e efluentes de indústria têxteis por adsorção em cabelo humano**. 2008.147f.. Dissertação (Mestrado) – Viçosa, Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa.
- ELISASHVILI, V., KACHLISHVILI, E. Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white-rot *Basidiomycetes*. **Journal of Biotechnology**, v. 144, p. 37–42, 2009.
- GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. 2. ed. New York: Wiley-Liss, 1994, p.458.
- NASCIMENTO, C. R. S. **Avaliação do potencial de descoloração e detoxificação de corantes utilizados em indústria têxtil por fungos isolados de sedimento do Parque Nacional da Serra da Capivara (PI)**. 2008. Dissertação (Mestrado) – RJ. Fundação Oswaldo Cruz.
- PANT, D., SINGH, A., SATYAWALI, Y., GUPTA, R. K. Effect of carbon and nitrogen source amendment on synthetic dyes decolourizing efficiency of white-rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium*. **Journal of Environmental Biology**, v.29, n.1, p.79-84, 2008.
- PASCHOAL, F. M. M., TREMILIOSI-FILHO, G. Aplicação da tecnologia de eletrofloculação na recuperação do corante índigo blue a partir de efluentes industriais. **Química Nova**, v.28, n.5, p.766-772, 2005.
- RODRIGUES, K., SILVA, K. M. L., SILVA, G. M. M., LIMA, P. C. C., WANDERLEY, R. P., SILVA, G. Remoção de corante por uso de *Aspergillus niger* AN400 em reator em bateladas seqüenciais. **Química Nova**, v. 34, n.7, p. 1119-1123, 2011.
- 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. **Anais... II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, João Pessoa – PB – 2007.
- SOUSA, A.F; ROSADO, F.R. Utilização de fungos basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.2, n.1, p. 121-139, jan./abr, 2009.