

ESTUDOS PRELIMINARES SOBRE ATIVIDADE ADSORTIVA DO CORANTE VERMELHO CONGO PELO FUNGO *Lentinus crinitus*

Gérsia Gonçalves de Melo¹, Luana Camilla Cordeiro Braz¹, Vinícius Costa Amador¹, Emanuele Cardoso Dias¹, Édipo da Silva Almeida¹, Dayse Pereira Dias Silva¹, Raissa Mayane de Sousa Bezerra¹ e Glauciane Danusa Coelho^{2*}

¹Discentes do curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

² Professora Doutora. Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, PB. *Correspondência: Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande (CDSA - UFCG), Rua Luiz Grande, CEP 58540-000, Sumé, Paraíba, Brasil. E-mail: glauciane-coelho@ig.com.br.

RESUMO

A contaminação de água por corantes industriais é indubitavelmente um problema, dessa forma, o emprego de tecnologias como a biorremediação podem apresentar-se eficientes no tratamento de efluentes. Os fungos basidiomicetos vem sendo utilizados em processo de bioremediação de diversos xenobióticos, incluindo os corantes. Neste trabalho foi avaliado o efeito do modo de cultivo de *Lentinus crinitus* na adsorção do corante vermelho congo. Os experimentos foram conduzidos em cultivos estacionários e com agitação de 120 rpm, em meio contendo caldo de batata (2%) e vermelho congo na concentração de 12,5 mg/L. Os cultivos foram interrompidos com 24h, 48h e 72h. A variação de parâmetros como pH, biomassa e concentração de corante no meio de cultura foi avaliada. A avaliação visual de todos os cultivos permitiu observar a ocorrência de adsorção do corante pelo fungo. Os ensaios realizados demonstraram que houve maior adsorção do corante em cultivo estacionário, e não foi verificada relação entre o aumento da biomassa e a adsorção do corante vermelho congo.

Palavras-chave: Basidiomiceto, Adsorção, Biorremediação

ADPSORTIVE ACTIVITY OF DYE RED CONGO BY FUNGUS *Lentinus Crinitus* ESSAY

ABSTRACT

The water contamination by industrial dyes is an unquestionable problem, so the use of technologies such as bioremediation may be efficient in wastewater treatment. The use of basidiomycete fungi for bioremediation strategy for the degradation of several xenobiotics, including dyes. In this study the cultivation methods for *Lentinus Crinitus* in adsorption of the dye red congo were evaluated. The experiments were conducted in stationary crops and agitation of 120 rpm on a bed containing potato broth (2%), and red congo dye at a concentration of 12.5 mg / L. The cultivation was stopped at 24h, 48h and 72h. The parameters variation such as pH, biomass and dye concentration in the culture were evaluated. Visual assessment of all crops allowed to observe the occurrence of adsorption of the dye by the fungus. The tests carried out showed that adsorption of the dye was higher in stationary culture, and no relationship was found between the increase in biomass and the adsorption of the dye Congo Red.

Keywords: Basidiomycete, Adsorption, Bioremediation

INTRODUÇÃO

O avanço da atividade industrial e a necessidade de desenvolvimento de novos recursos que atendessem a necessidade da sociedade acarretaram a criação de

produtos e tecnologias que, em sua maioria, estão em consonância com a promoção de algum tipo de impacto ambiental. Nas indústrias, um dos principais responsáveis pela contaminação ambiental é o destino inadequado dos rejeitos.

Os níveis de degradação significativamente baixos dos resíduos produzidos pelas indústrias têxteis, incluindo corantes advindos de etapas de tingimento, que são descartados em efluentes com uma intensa coloração, contribuem veemente com a contaminação do meio ambiente. Deve-se considerar ainda que a composição deste efluente é excessivamente variável, visto a heterogeneidade dos corantes que são utilizados diariamente (1).

A composição química dos reagentes que são utilizados nos processos têxteis são compostos por substâncias orgânicas e inorgânicas, apresentando assim, composições químicas bastante variadas. Os corantes têxteis possuem alta estabilidade, pois são compostos com estruturas moleculares complexas, o que acarreta uma difícil biodegradabilidade (2).

A disponibilidade de corantes no mercado é de cerca de 100 mil (3). Em torno de 10 a 20% dos corantes que são destinados à processos de tingimento na indústria têxtil são descartados nos efluentes. Os corantes são considerados os principais responsáveis pelas contaminações detectadas em efluentes industriais e estes se mantêm de forma recalcitrante no meio ambiente pois são produzidos com aparatos para resistir à exposição, transpiração, luz, água, produtos químicos e ataques microbianos (4).

A molécula do vermelho congo constitui-se de agrupamento diazo que favorece a deslocalização dos elétrons na molécula e anéis aromáticos com os substituintes amino e sulfonato sódico. O Vermelho Congo é o sal sódico do ácido benzidinodiazobis-1-naftilamina-4-sulfônico, cuja fórmula molecular é dada por $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$, com massa molar de aproximadamente $696,7 \text{ g.mol}^{-1}$ e estrutura molecular bastante complexa contendo anéis aromáticos que dificultam ainda mais a sua degradação química (5).

A contaminação de água por corantes industriais é um sério problema à saúde humana, sendo assim, a descontaminação de efluentes contaminados com corantes torna-se imprescindível.

Os micro-organismos vêm sendo estudados, como uma alternativa às limitações das formas físicas e químicas para tratamento de efluentes têxteis, com o objetivo de eliminar os compostos tóxicos presente no meio. Fungos basidiomicetos degradadores de ligninas são indicados por estudos como eficientes na degradação de diversos

compostos, inclusive corantes, além de apresentarem alto potencial de ação na recuperação de ambientes contaminados (6).

Esse grupo de fungos é classificado com base em características macroscópicas de degradação, sendo assim divididos em: fungos de podridão branca, que degradam três componentes principais da madeira, sendo estes, celulose, hemicelulose e lignina, proporcionando conseqüentemente coloração clara na sua degradação; de podridão parda, que degradam polissacarídeos, celulose e hemicelulose, promovendo uma coloração escura nos locais degradados; e de podridão mole, que degradam madeira dura em ecossistemas florestais (7).

A degradação da lignina por basidiomicetos envolve enzimas extracelulares que, por abstração de elétrons do substrato, levam à formação de espécies radicais, as quais atuam na despolimerização da lignina e de uma série de compostos tóxicos e recalcitrantes (8-9).

Atualmente, os fungos causadores da podridão branca da madeira são frequentemente utilizados em tratamentos de biorremediação, principalmente na degradação de poluentes ambientais que são recalcitrantes e também no tratamento de efluentes (10).

Um grande número de corantes podem ser adsorvidos e/ou degradados por micro-organismos como, bactérias, fungos, algas e leveduras. A degradação de corantes por fungos causadores da podridão branca da madeira como o, *Lentinus crinitus*, já foi relatada na literatura por vários autores (11). O isolado de *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 utilizado neste trabalho é reconhecidamente eficiente na degradação do corante *Remazol Brilliant Blue* (RBBR) que é um derivado do antraceno e está relacionado a um importante grupo de organopoluentes (12).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do modo de cultivo do fungo *Lentinus crinitus* CCBt 2611 na adsorção do corante vermelho congo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

Microrganismo: O microrganismo *Lentinus crinitus* CCIBT 2611 (anteriormente numerado como CCB 274) foi cedido pelo Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente do estado de São Paulo. A cultura foi cultivada em placas de Petri contendo

meio MEA, composto por extrato de malte 2%, peptona 0,1% e ágar 2%, mantida em câmara BOD à 28°C durante aproximadamente 10 dias (Figura 1A).

Preparo do meio líquido: Foi preparado o meio de cultivo BDA, constituído por 200g de batata inglesa, 20g de sacarose e 1 L de água destilada. A batata foi cortada, fervida, filtrada e o volume foi ajustado com água destilada. Alíquotas de 100mL de caldo de batata foram distribuídas em erlenmeyers de 250mL, esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121°C. Ao caldo de batata adicionou-se o corante vermelho congo ajustando a concentração para 25 mg/L e inoculados (Figura 1B).

Inóculo: Para preparo do inóculo, o fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 foi previamente crescido em placas de Petri contendo MEA 2%, a 25°C, até que o micélio colonizasse toda a placa. A Figura 8 mostra uma colônia de *P. castanella* após 15 dias de incubação a 28° C. Foi utilizada 1/6 da placa picada para inocular cada 100mL de meio líquido.

Modo de Cultivo: Os erlenmeyers foram incubados a 28°C de forma estacionária e com agitação de 120RPM. Os cultivos foram interrompidos e filtrados com 24, 48 e 72 horas e foram avaliados os seguintes parâmetros: 1. volume; 2. absorvância a 480nm; 3 massa seca; 4. pH. Todos os ensaios foram feitos em duplicata.

Determinação da adsorção do vermelho congo: A partir dos valores de absorvância, mostrados na figura 1, foi mensurada de maneira indireta a adsorção do corante pelo fungo *Lentinus crinitus* durante o tempo de cultivo (Figura IIA).

Análises dos dados: Foram calculadas médias e desvios-padrão para os resultados dos ensaios em duplicata. Os softwares utilizados para montagem de planilhas e plotagem de gráficos, foram o Microsoft Office Excel 2007 e Origin 8. Realizou-se também uma análise estatística dos resultados obtidos, no programa SISVAR, objetivando avaliar o nível de significância destes em função das variáveis tempo (24h, 48h, 72h) e regime do cultivo (agitação, estacionário). O teste utilizado foi o Teste t (LSD) com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 estão apresentados os valores para absorvância a 480 nm obtidos dos meios após interrupção do cultivo.

| Tempo (horas) | Absorbância 480 nm | | | |
|------------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|
| | Cultivo estacionário | | Cultivo sob agitação | |
| | Controle | Ensaio | Controle | Ensaio |
| 24 | 0,188 | 0,1665±0,006 | 0,385 | 0,3605±0,035 |
| 48 | 0,276 | 0,1735±0,011 | 0,764 | 0,7460±0,025 |
| 72 | 0,793 | 0,3200±0,011 | 0,865 | 0,8050±0,085 |

Figura 1. Dados de absorvância medidos no meio filtrado durante os três dias de cultivo.

Na figura 1 é possível observar que a maior porcentagem de adsorção do corante aconteceu no cultivo estacionário, sendo que após 72 horas houve adsorção de 60,8% do corante.

Os valores de pH aferidos durante o cultivo são mostrados na Figura IIB. Pode ser observado que houve variação de pH em ambas as maneiras de cultivo. Informações sobre a influência do pH sobre parâmetros de crescimento de fungos ainda são escassos na literatura, tendo-se apenas explanações sobre o efeito demandado pelo pH inicial do cultivo. No entanto, sabe-se que durante o crescimento, o metabolismo do fungo altera o pH do meio, através da absorção de ânion ou cátion, produção de ácidos orgânicos ou amônia. Como agravante têm-se ainda que, o tamponamento durante o cultivo é complicado, pois os próprios tampões podem ser assimilados ou tóxicos em concentrações que seriam minimamente exigidas para promoção efetiva do tamponamento (13).

Os fungos basidiomicetos tendem a neutralizar, através de elevações do pH, o ambiente devido reações metabólicas de autorregulação (14-15). Esta elevação promove a desprotonação do meio, acarretando em diminuição da difusão e da adsorção do corante (16).

Os dados obtidos da massa seca são apresentados na figura IIIA, pelas curvas de crescimento microbiano para os regimes de cultivo.

Tanto para o cultivo sob agitação quanto estacionário foram obtidas as maiores concentrações de biomassa em 72 horas de cultivo. Isto está em concordância com a literatura, onde se encontram resultados de ensaios com fungos, especificamente *Lentinus crinitus*, que apresentaram avanço no crescimento já desde o segundo dia de cultivo, tendo a melhor média obtida no terceiro dia (17).

Comparando os valores de adsorção do corante (Figura 2 A) e as medidas da biomassa (Figura 3 A), é observável que a porcentagem de adsorção não depende somente da concentração final de biomassa. Isso pode estar relacionado as mudanças no pH, visto que promove a dissociação de grupos funcionais que estão presentes nos sítios ativos do adsorvente, afetando conseqüentemente o processo de adsorção (16).

A Figura 3B e 3C mostra as variações do pH do meio, da adsorção de corante e da concentração de células, para o cultivo sob agitação (Figura 3B) e estacionário (Figura 3C).

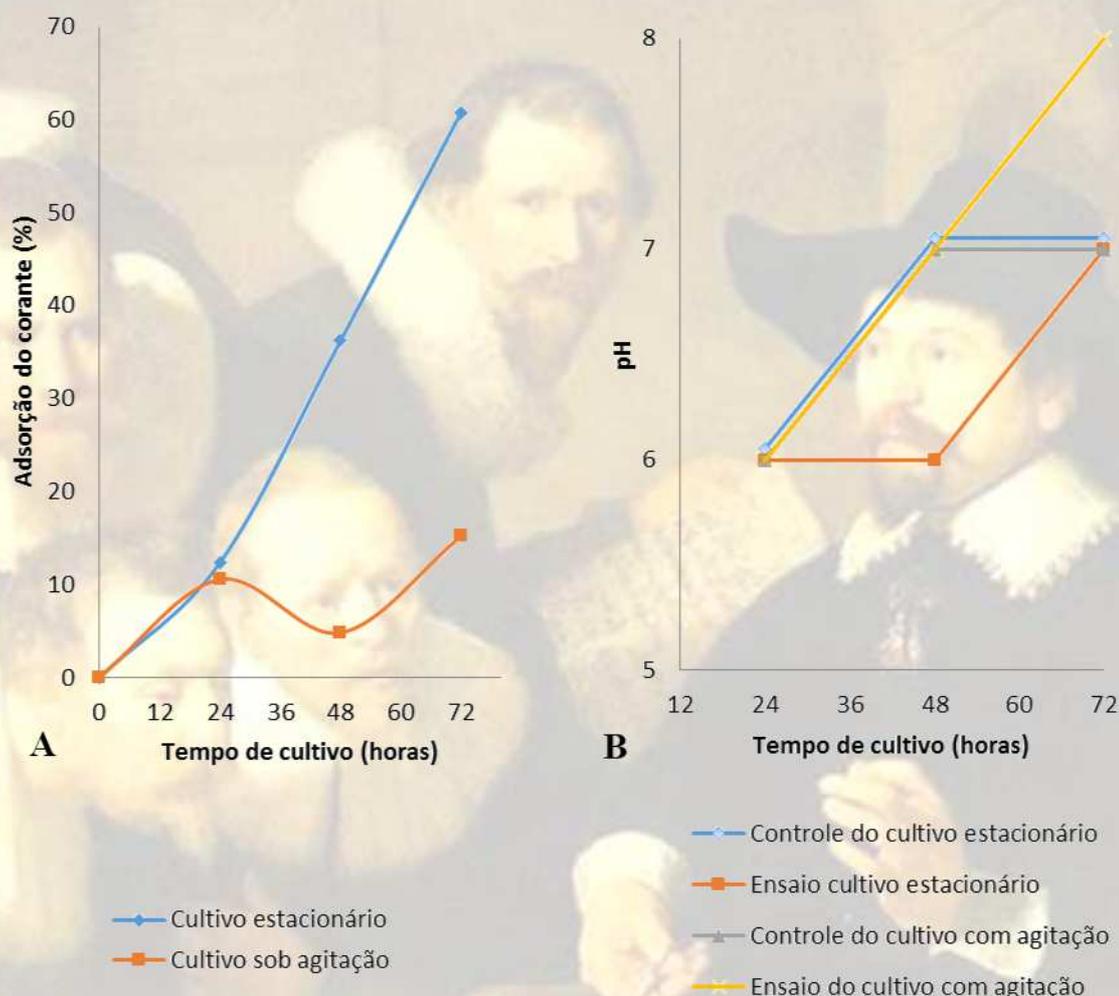


Figura 2. A: Porcentagem de adsorção de corante pelo fungo *Lentinus crinitus* em cultivo estacionário e sob agitação; B: Variação do pH em função do tempo de cultivo.

A análise estatística (Figura 4) demonstra a influência do tempo e do cultivo sob agitação e estacionário sobre a adsorção do corante em estudo pelo fungo. Os valores mais altos foram observados em cultivo estacionário. Tal constatação encontra-se em concordância com o já relatado na literatura, baseado em trabalhos que apresentam a obtenção de maior eficiência biosortiva em cultura estática (18).

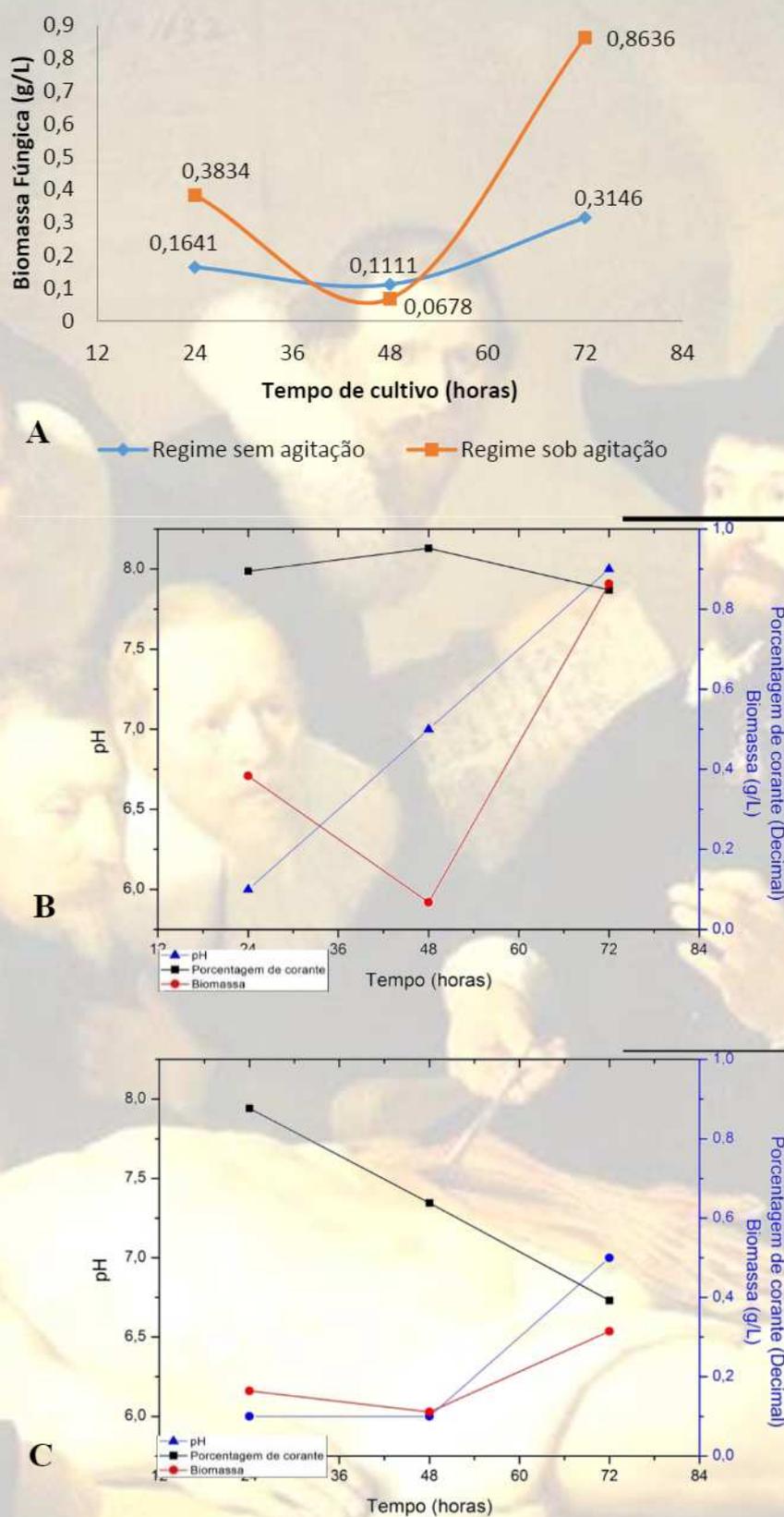


Figura 3. A: Curva de crescimento microbiano em até 72 horas de cultivo; Comparativo do crescimento microbiano, adsorção do corante e variação do pH do meio em: B: Cultivo sob agitação e C: Cultivo estacionário.

Arquivo analisado:

F:\Gérsia\Documents\Meus arquivos recebidos\UFCG\2014.2\Artigo Sengebio\Análise Estatística.DB

Variável analisada: % de Adsorção

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|------------------------|-------------|--------|--------|
| Regime | 1 | 2069.683672 | 2069.683672 | 15.523 | 0.0043 |
| Tempo | 2 | 1457.346439 | 728.673219 | 5.465 | 0.0319 |
| erro | 8 | 1066.642185 | 133.330273 | | |
| Total corrigido | 11 | 4593.672297 | | | |
| CV (%) = | 49.53 | | | | |
| Média geral: | 23.3109069 | Número de observações: | 12 | | |

Teste t (LSD) para a FV Regime

DMS: 15,3732118902092 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 6
 Erro padrão: 4,71399111100609

| Tratamentos | Médias | Resultados do teste |
|--------------|-----------|---------------------|
| Agitação | 10.177985 | a1 |
| Estacionário | 36.443829 | a2 |

Figura 4. Análise estatística realizada no programa SISVAR. Teste t (LSD) com nível de significância de 5%.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a adsorção foi significativamente superior no cultivo estacionário em relação ao cultivo com agitação.

Pode-se concluir também que além da capacidade de degradar o corante RBBR, o isolado de *Lentinus crinitus* CCIBt 2611, apresenta potencial para ser aplicado em processos de bioremediação de efluentes contaminados com corantes azóicos, como é o caso do corante vermelho congo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Dellamatrice PM. Biodegradação e Toxicidade de Efluentes Têxteis e Efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana-SP. 2003, 137f. Tese (Doutorado em

- Ecologia de Agrossistemas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.
2. Forgiarini E. Degradação de Corantes e Efluentes Têxteis Pela Enzima Horseradish Peroxidase (HRP). 2006, 110f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
 3. Soares GMB. Aplicação de Sistemas enzimáticos à degradação de corantes têxteis. 2000. 173f. Tese (Doutorado em Engenharia Têxtil) – Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2000.
 4. Carvalho CC. Produção de Ligninases por Basidiomicetos através de Fermentação em estado sólido, caracterização e aplicação das enzimas. 2005, 112f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2005.
 5. Queiroz MTA, Fernandes CM, Alvim LB, Costa TC, Amorim CC. Produção Mais Limpa: Fenton Homogêneo no Tratamento de Efluentes Têxteis. VIII SEGeT – Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia, 2011.
 6. Kamida H. Biodegradação de Efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. *Quim. Nova*, v. 28, n. 4, p. 629-632, jul./ago. 2005.
 7. Soares CHL. Estudos Mecanísticos de degradação de efluentes de indústria de papel e celulose por fungos basidiomicetos degradadores de madeira. 1998, 133f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1998.
 8. Fabbrini M., Galli C, Gentili P. 2002. Comparing the catalytic efficiency of some mediators of lacase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 16: 231–240.
 9. Shah V, Nerud F. 2002. Lignin degrading system of white-rot fungi and its exploitation for dye decolorization. *Canadian Journal of Microbiology*. 48: 857-870.
 10. Maziero R. Produção de Exopolissacarídeos por basidiomicetos em cultura submersa: “Screening”, caracterização química preliminar e estudo de produção utilizando *Irpece lacteus* (Fr. Fr.)Fr. 1996, 181f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
 11. Niebisch CH. Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract, *J. Hazard. Mater.*, 2010.
 12. Machado KMG, Matheus DR, Bononi VLR. Ligninolytic Enzymes Production And Remazol Brilliant Blue R Decolorization By Tropical Brazilian Basidiomycetes Fungi. *Brazilian Journal of Microbiology* (2005) 36:246-252.
 13. Carlile MJ, Watkinson, SC. *The fungi*. London: Academic Press, 1997. 460p.
 14. Vieira GRT, Liebl M, Tavares LBB, Pauler T R, Smânia Júnior A. Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and antimicrobial metabolites by *Polyporus tricholoma* Mont.. *Brazilian Journal of Microbiology* v. 39, p. 561-568, 2008.
 15. Wisniewski AC, Amazonas MA, Palma MB, Tavares LBB. Produção de enzimas amilolíticas por *Macrocybe titans* em resíduo do processamento de cerveja. *Revista Brasileira de Biociências*, 2010 (in press).
 16. Mittal A, Mittal J, Kurup L. Adsorption isotherms, kinetics and column operations for the removal of hazardous dye, Tartrazine from aqueous solutions using waste materials – Bottom Ash and De-Oiled Soya, as adsorbents. *Journal of Hazardous Materials*. B136, 567-578, 2006.
 17. Koide JP, Carmo CdaC, Damasceno AA, Silva CV, Nunes AdaS, Silva AC. Otimização das Condições de Crescimento de Fungos Apodrecedores de Madeira Encontrados no Município de Parintins-Am. 62ª Reunião Anual da SBPC.
 18. Miquelante FA. Prospecção de Fungos Filamentosos Halotolerantes para Uso na Descoloração de Corantes Têxteis Curitiba. 2011, 88f. Tese (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.