

## EFICIÊNCIA DA BIOMASSA VIVA E MORTA DE FUNGO FILAMENTOSO NA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE DIRECT BLACK 22

Arthur Filipe Ferreira Pequeno<sup>1</sup>  
Raphael Luiz Andrade Silva<sup>2</sup>  
Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa<sup>3</sup>  
Márcia Vanusa da Silva<sup>4</sup>  
Ana Lucia Figueiredo Porto<sup>5</sup>

### RESUMO

A indústria têxtil produz uma quantidade considerável de efluentes, consumindo milhares de litros de água na produção de tecidos coloridos. A água contaminada com corantes reativos ainda é despejada no meio ambiente de maneira inapropriada, o que provoca diversos problemas ambientais devido à liberação de componentes tóxicos pela degradação de suas partículas. Os fungos filamentosos possuem características em sua membrana que permitem retirar os corantes do meio líquido antes mesmo de degradá-los. Foram selecionados três fungos isolados da rizosfera do bioma caatinga, e avaliados quanto ao tempo necessário para descoloração do corante Direct Black 22. Dentre eles o fungo com maior potencial para descoloração foi o *Arspergillus sp* UCP1279, o único capaz de descolorir o dado corante em menos de 60 minutos. Portanto esse trabalho tem como objetivo comparar o desempenho da biomassa viva e morta (autoclavada) desse, na remoção do corante Direct Black 22. Foi observado que o fungo vivo e o morto (autoclavado) com 48h de crescimento, sob a velocidade de agitação de 120 rpm e uma temperatura de 30°C, foram capazes de descolorir respectivamente uma taxa de 97% e 41% do corante (125 mg/L) no limite de 180 minutos. Onde a biomassa viva apresentou um potencial maior de descoloração em longo prazo que a morta, possivelmente por ocorrer uma desnaturação das proteínas de membrana que interagem com o corante após a autoclavagem.

**Palavras-chave:** Biorremediação; Fungos, Descoloração, Corantes azo, Biomassa morta.

### INTRODUÇÃO

O crescimento populacional desordenado em conjunto com o aumento da industrialização, no último século, tem causado danos que põem em risco vários ecossistemas dos quais a vida no planeta se sustenta. Os efluentes industriais liberados em grandes

---

<sup>1</sup> Graduando do Curso de Licenciatura em Ciências biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco - PE, [arthurpequeno@outlook.com](mailto:arthurpequeno@outlook.com); (Autor)

<sup>2</sup> Doutorando do Programa de Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, [raphaelluizandradesilva@gmail.com](mailto:raphaelluizandradesilva@gmail.com)

<sup>3</sup> Pesquisador da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, [Romero\\_brandao@yahoo.com.br](mailto:Romero_brandao@yahoo.com.br);

<sup>4</sup> Professor Associada do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, [marciavanusa@yahoo.com.br](mailto:marciavanusa@yahoo.com.br);

<sup>5</sup> Professora Titular da Universidade Federal Rural de Pernambuco – URFPE, [analuporto@yahoo.com.br](mailto:analuporto@yahoo.com.br).

quantidades e com tratamento inadequado são os principais responsáveis pelo comprometimento da qualidade de águas de rios e oceanos (Khan *et al.*, 2013).

São produzidos por ano cerca 700 toneladas e 10 mil tipos de corantes e pigmentos em todo mundo. E estima-se que cerca de 40 a 65 L de água residuais, são descarregados para cada quilo de tecido que é tingido, liberando uma carga enorme de corantes sintéticos de concentrações variadas em forma de efluente, fazendo com que a indústria de produtos têxteis seja atualmente uma das maiores responsáveis pelo despejo de poluentes em corpos hídricos (Phugare, 2011; Imran *et al.*, 2015). Um dos principais problemas ocasionados por corantes na água é a coloração, que além de ser visualmente desagradável, também pode ser responsável por outros problemas, como impedir a fotossíntese de microalgas diminuindo os níveis de oxigênio dissolvido, além de poder ser tóxico tanto para a biota aquática, quanto para a população ribeirinha (Saroj *et al.*, 2015).

70% dos corantes têxteis utilizados pertencem à classe dos corantes azo, caracterizados por possuir em sua estrutura molecular um ou mais grupos azo ( $-N=N-$ ), que quando degradada, geralmente, libera subprodutos cancerígenos e/ou tóxicos (Lang *et al.*, 2013; Tan *et al.*, 2014). Assim, é vital que esses efluentes sejam tratados, para isso muitas indústrias utilizam métodos físicos-químicos, como coagulação, adsorção, floculação, e eletrólise, para o seu tratamento. Porém esses métodos, ou não são suficientes para o tratamento ou provocam ainda, problemas secundários, como acúmulo de lodo, sobretudo no corpo hídrico atingido, tornando-se acumulados do assoalho e afetando principalmente o bentos (Kadam *et al.*, 2011; Singh *et al.*, 2015)

Os métodos biológicos representam uma ótima alternativa para solucionar esses problemas, utilizando microrganismos pode-se captar corantes e até mesmo metais pesados através do mecanismo de biossorção, podendo ser adsorvido, onde os resíduos são capturados e mantidos em suas membranas, e/ou absorvido, onde as partículas entram no citoplasma celular podendo ou não ser degradados por suas enzimas (Gupta e Suhas, 2009).

Em comparação com o tratamento por bactérias, a descoloração por fungos possui algumas vantagens, uma vez que utiliza um mecanismo de oxidação que gera subprodutos menos tóxicos, além de possibilitar a utilização do mecanismo de biossorção, possível apenas devido a suas propriedades de superfície celulares únicas, e uma quantidade de biomassa superior (Volesky, 1990). A possibilidade de utilizar fungos filamentos no processo de descoloração também é muito interessante para o empreendimento, devido ao seu baixo custo

e alto nível de adaptação, o que facilita a resistir e retirar nutrientes dos mais diversos meios (Solís *et al.*, 2012).

Os fungos filamentosos utilizados nesse experimento foram coletados do bioma Caatinga, para aproveitar os mecanismos que desenvolveram para resistir ao clima hostil do interior nordestino, esperando que seu metabolismo único, contribua para uma maior eficiência na descoloração e conseqüente tratamento do corante têxtil *Direct Black 22* (DB22), um dos corantes mais utilizados no tingimento de jeans no Pólo de Confecções do Agreste Pernambucano.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### MICRO-ORGANISMOS

As cepas de fungos filamentosos (*Mucor subullissimus* UCP 1262, *Cunninghamella phaeospora* UCP1303, e *Aspergillus sp* UCP1279) foram obtidas da coleção de micro-organismos da Universidade Católica de Pernambuco (UCP), Recife, Pernambuco, Brasil. As espécies fúngicas foram isoladas do solo do bioma Caatinga (Região Nordeste do Brasil) e mantidas em meio *Czapek Dox Agar*.

### CORANTE TETRA-AZO DIRECT BLACK 22

O corante utilizado foi o tetra-azo *Direct Black 22* (C. I. 35435; CAS 6473-13-8), que foi submetido sempre a hidrólise antes de ser usado no experimento. Esta etapa apresentou o ajuste do pH da solução do corante, preparada em água deionizada para  $11,0 \pm 0,05$  com o emprego de NaOH 20%, seguido por 1h de aquecimento à 80°C; após o resfriamento da solução, a mesma será neutralizada a pH  $7,0 \pm 0,05$  com HCl<sup>15</sup>.

### SCREENING DE FUNGOS FILAMENTOSOS PARA DESCOLORAÇÃO DO DIRECT BLACK 22

Os esporos obtidos das cepas da coleção de micro-organismos foram inoculados em tubos contendo meio *Czapek ágar* e mantidos a uma temperatura de 30°C durante 5 dias. Erlenmeyers de 250 ml contendo 60 ml de meio líquido (caldo glicosado: 10g de extrato de carne, 3g de peptona e 20g de glicose) foram inoculados com células de fungos provenientes

de uma suspensão de esporos a 0,05% de meio de tween 80 com um fator de concentração de  $10^4$  UFC/ $\mu$ L.

Após o inóculo, os frascos foram mantidos à 30°C em uma mesa agitadora (120 rpm) por 2 dias. Após o término do tempo estabelecido, foi adicionado em cada frasco 15 ml da solução do DB22 numa concentração de 50 mg/L, os frascos foram levados novamente à mesa agitadora (120 rpm) em 30°C e analisados ao longo do tempo.

### DESCOLORAÇÃO DO DIRECT BLACK 22 COM BIOMASSA VIVA E MORTA

Após o *screening*, foram preparados vários frascos de erlenmeyers de 250 ml contendo 60 ml de caldo glicosado, para inocular o fungo, mantido em 48h de crescimento a 30°C e 120RPM. Para análise da biomassa morta parte dos frascos com fungo crescido foram autoclavados a 121°C por 20 min.

Posteriormente foi adicionado aos frascos 15 ml do corante *Direct Black 22* a uma concentração de 125 mg/L e colocados sob agitação a 120 rpm à 30°C. Amostras de 2 ml foram coletadas num intervalo de tempo de 15 min durante 180 minutos para medir as taxas de absorvância e foi utilizado frascos com 60 ml de água deionizada e 15 ml do corante (125 mg/L) como medida de controle do experimento. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Todas as amostras foram analisadas em um espectrofotômetro e sua descoloração medida pela taxa de absorvância do sobrenadante em uma faixa de 475nm, utilizando a seguinte fórmula (Bakshi *et al.*, 2006):

$$\text{Descoloração (\%)} = [(A_i - A_t) / A_i] \times 100$$

Onde  $A_i$  é a absorvância inicial do corante e  $A_t$  a absorvância ao longo do tempo.

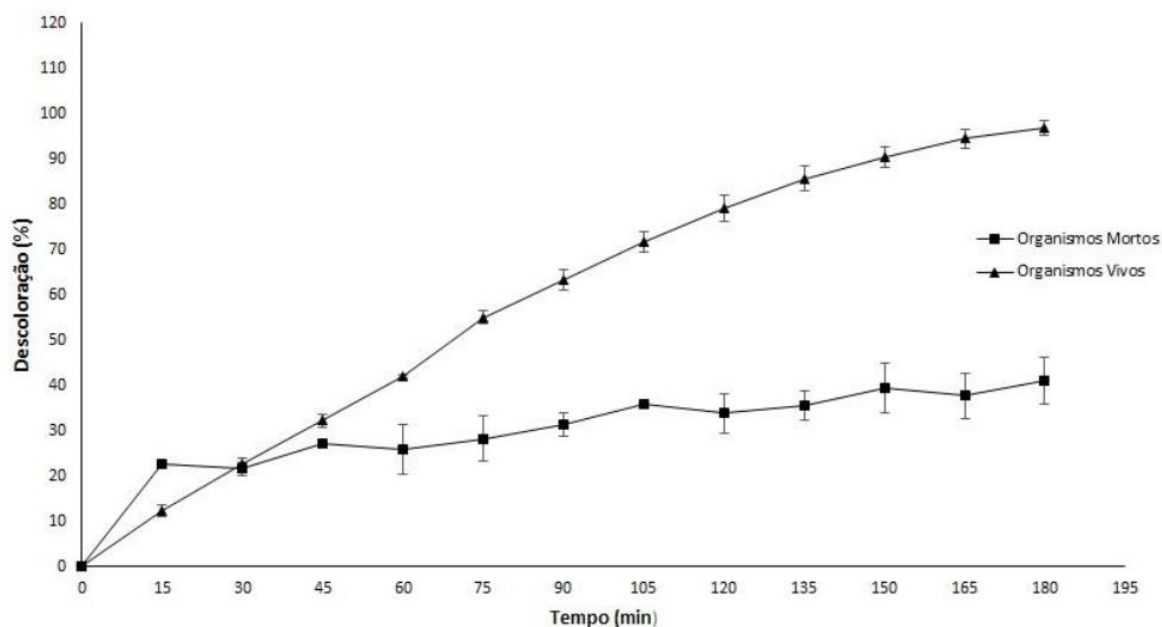
### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes feitos com as três cepas de fungos filamentosos, para determinar o fungo com maior eficiência de remoção do corante DB22 (50 mg/L) em um determinado intervalo de tempo, demonstraram que a cepa *Aspergillus* sp. UCP1279 é a mais eficiente nesse parâmetro, uma vez que foi a única capaz de apresentar uma descoloração máxima em menos de 60

minutos. Já o fungo *Mucor subullissimus* UCP 1262 demonstrou a capacidade de remover o corante apenas em um intervalo de tempo superior a 60 minutos, mas inferior a 120 minutos. Enquanto a *Cunninghamella phaeospora* UCP1303 não removeu o corante antes de 180 minutos. Portanto o fungo *Aspergillus sp* UCP1279, foi escolhido por possuir o melhor desempenho dentre os demais citados.

Nos experimentos comparativos utilizando biomassa viva e morta (autoclavada) do fungo *Aspergillus sp*. UCP1279 na remoção do corante DB22 (125 mg/L) foi revelado que, mesmo que em momentos iniciais (até 30 min) a biomassa morta tenha apresentado uma taxa maior de descoloração, nos minutos que sucederam, a sua descoloração alcançou uma taxa máxima de 41% de descoloração em 180 minutos. Já a biomassa viva, apesar do desempenho relativamente menor no início, apresentou um crescimento exponencial, que chegou a alcançar uma taxa de 97% no mesmo limite de tempo. Deixando claro que a biomassa viva do dado fungo foi mais eficiente que a morta.

**Figura 1-** Descoloração do Direct Black 22 pela biomassa viva e biomassa morta (autoclavada) de *Aspergillus sp* UCP1279 (180min; 30°C; sob agitação de 120 rpm; corante 125 mg/l)



O estudo de descoloração de 1,8-dihidroxi-antraquinona com *Aspergillus oryzae*, realizados por Zhang e colaboradores (2015), demonstrou resultados semelhantes, onde a biomassa viva alcançou a taxa de 94,21% de descoloração em apenas 180 minutos,

enquanto a morta (autoclavada) alcançou apenas 23.81%, uma grande diferença entre os valores obtidos, o que pode ser associado desnaturalização das macromoléculas de membrana ou parede celular envolvidas na adsorção, através da alta temperatura (Ettelaie e Akinshina, 2014).

Porém em descoloração realizada com *Aspergillus niger* por Seyis e Subasioglu (2008) entre biomassa viva e morta (autoclavada a 121°C por 15 min), foi encontrada respectivamente uma taxa de 48% e 37% de remoção do corante Methil Orange (100 mg/L), durante o processo de agitação de cinco dias em 30°C. Nesse caso, o desempenho do fungo se mostrou bastante aproximado entre as biomassas, isso indica que variações no tempo de autoclavagem podem influenciar na taxa de descoloração da biomassa morta, ou que as moléculas da membrana que estão associadas a adsorção de determinados corantes podem não ser desnaturadas em alguns fungos, o que não ocorreu com o *Aspergillus sp* UCP1279 autoclavado a 121°C por 20 min na descoloração do DB22 (125 mg/L). Segundo Almeida e Corso (2019), a eficiência aumentada da biomassa morta pode ter relação com a não resistência da mesma ao processo de adsorção dos corantes.

Dogan e colaboradores (2016) observaram que há um aumento na capacidade de captura do corante Índigo carmim na concentração inicial de 50 mg/L e temperatura de 30°C, à medida que é utilizada maior quantidade de biomassa morta do fungo filamentosso *Pleurotus ostreatus* que foi secado a 30°C por 48 horas e pulverizado (100 µm), onde houve um crescimento na taxa de descoloração de 12% em 0.2 g para 66% em 0,5 g a marca de 60 minutos. O que pode ser atribuído ao aumento da superfície de contato, pois moléculas grandes de corante, não poderiam entrar nos poros de partículas menores, destacando que é possível não só utilizar a biomassa do fungo morto posteriormente, como preparos diferentes podem vir a potencializar o desempenho do *Aspergillus sp* UCP1279.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A biomassa do fungo filamentosso *Aspergillus sp* UCP1279 nos testes de descoloração, apresentou uma grande eficiência na remoção do corante em comparação a biomassa morta, isso denota o potencial desse fungo no processo de descoloração de corantes em efluentes têxteis ou até mesmo de outras fonte, porém não pode ser descartada a possibilidade de que a biomassa morta do fungo também seja uma opção viável, tanto em potencial utilizando uma

opção de preparo menos danosa a sua membrana que a autoclavagem, quanto economicamente despendendo menos recursos para sua manutenção.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, C. R. Decolorization and removal of toxicity of textile azo dyes using fungal biomass pelletized. **International journal of environmental science and technology**, v. 16, n. 3, p. 1319-1328, 2019.
- BAKSHI, D. K. *et al.* Use of *Phanerochaete chrysosporium* biomass for the removal of textile dyes from a synthetic effluent. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 8, p. 835-839, 2006.
- DOGAN, D. *et al.* Dye removal by dead biomass of newly isolated *Pleurotus ostreatus* strain. **Indian Journal of Biotechnology** v. 17, p. 290-301, 2018.
- ETTELAIE, R.; AKINSHINA, A. Colloidal interactions induced by overlap of mixed protein+ polysaccharide interfacial layers. **Food hydrocolloids**, v. 42, p. 106-117, 2014.
- GUPTA, V.K., SUHAS. Application of low-cost adsorbents for dye removal e a review. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 8, p. 2313-2342, 2009.
- IMRAN, M. *et al.* Microbial biotechnology for decolorization of textile wastewaters. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, n. 1, p. 73-92, 2015.
- KADAM, A. A. *et al.* Decolorization of adsorbed textile dyes by developed consortium of *Pseudomonas* sp. SUK1 and *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146 under solid state fermentation. **Journal of hazardous materials**, v. 189, n. 1-2, p. 486-494, 2011.
- KHAN, R.; BHAWANA, P.; FULEKAR, M. H. Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 12, n. 1, p. 75-97, 2013..
- LANG, W. *et al.* Characterization of a new oxygen-insensitive azoreductase from *Brevibacillus laterosporus* TISTR1911: Toward dye decolorization using a packed-bed metal affinity reactor. **Bioresource technology**, v. 150, p. 298-306, 2013.
- SAROJ, S. *et al.* Evaluation of the efficacy of a fungal consortium for degradation of azo dyes and simulated textile dye effluents. **Sustainable Water Resources Management**, v. 1, n. 3, p. 233-243, 2015
- SEYIS, I.sil; SUBASIOGLU, Tugba. Comparison of live and dead biomass of fungi on decolorization of methyl orange. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, 2008.
- SINGH, R. L.; SINGH, Pradeep Kumar; SINGH, Rajat Pratap. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes—A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 104, p. 21-31, 2015.

SOLÍS, M. *et al.* Microbial decolourization of azo dyes: a review. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 1723-1748, 2012.

TAN, L. *et al.* Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1. **Bioresource technology**. 2014:158:321-328.

VOLESKY, B. Biosorption by fungal biomass. **Biosorption of heavy metals**, v. 15, p. 139-72, 1990.

ZHANG, Z. *et al.* Biosorption characteristics of 1, 8-dihydroxy anthraquinone onto *Aspergillus oryzae* CGMCC5992 biomass. **International journal of environmental science and technology**, v. 12, n. 10, p. 3351-3362, 2015.