

Estudo da remoção da cor de um efluente industrial a partir do fungo *Phanerochaete chrysosporium*

Cecilia Claudete Ricaczski, Eduardo Bittencourt Sydney, Guilherme Firmino, Juliana Martins Teixeira de Abreu Pietrobelli

Resumo: Os efluentes industriais quando lançados sem tratamento em corpos d'água, podem ocasionar danos ao meio ambiente. O presente estudo se propõe a avaliar a remoção da cor do efluente real e sintético utilizando o fungo *Phanerochaete chrysosporium* e caracterizar o efluente real. Tanto o efluente real quanto o sintético possuem em sua composição o corante Basazol Yellow 5G Liq. Com os resultados da caracterização foi possível observar que os valores de DQO, nitrogênio e sólidos totais estão acima dos valores permitidos pela legislação vigente. O efluente sintético obteve-se uma descoloração de 88,9%. Porém o mesmo não ocorreu com o efluente industrial, possivelmente devido a presença de compostos nocivos que impediram o crescimento do fungo *P. chrysosporium*. O que sugere a necessidade de diluição do efluente real para que seja possível o seu tratamento com o fungo *Phanerochaete chrysosporium*.

Palavras chave: *Phanerochaete chrysosporium*, Efluente Industrial, Corante.

Study of removal of an industrial effluent from the fungus *Phanerochaete chrysosporium*

Abstract: Industrial effluents when discharged untreated into water bodies can cause damage to the environment. This study aims to evaluate the color removal of real and synthetic effluent using the fungus *Phanerochaete chrysosporium* and to characterize the actual effluent. Both the real and synthetic effluents have in their composition the dye Basazol Yellow 5G Liq. With the results of the characterization it was possible to observe that the values of COD, nitrogen and total solids are above the values allowed by the current legislation. In the synthetic effluent a discoloration of 88.9% was obtained. However, the same did not occur with the industrial effluent, possibly due to the presence of harmful compounds that prevented the growth of *P. chrysosporium* fungus. This suggests the need for dilution of the actual effluent so that its treatment with the fungus *Phanerochaete chrysosporium* is possible.

Palavras chave: *Phanerochaete chrysosporium*, Industrial Effluent, Dye.

1. Introdução

O Brasil produz grande quantidade de efluente industrial com coloração. Os efluentes coloridos, se descartados sem o tratamento adequado, podem ocasionar sérios danos ao meio ambiente, pois diminui a penetração de luz no ambiente aquático, prejudicando a atividade fotossintética. Também pode possuir toxicidade, pois se apresentar em sua composição compostos aromáticos, metais pesados, entre outros (YAGUB et.al., 2014).

Os corantes são altamente estáveis a luz, a ataque microbiano e a lavagem. Portanto, há grande dificuldade de removê-los das águas residuais por sistemas convencionais utilizados na indústria, como o carvão ativado (CRIPPS et.al., 1990).

Alguns fungos basidiomicetos ou fungos da podridão branca, vem sendo estudados para o tratamento desses efluentes, como por exemplo, o fungo *Phanerochaete chrysosporium* que

produz as enzimas manganês peroxidase e lignina peroxidase, ambas são apontadas como responsáveis pela mineralização de corantes sintéticos. As enzimas são extracelulares, ou seja, são sintetizadas pelo fungo e, posteriormente, excretadas para o meio. As enzimas geradas apresentam baixa especificidade, o que aumenta a quantidade de compostos com que podem reagir (PEREIRA et.al., 2010).

A utilização deste fungo pode oferecer uma limpeza completa dos poluentes, pois o fungo consegue oxidar os componentes do corante em dióxido de carbono, amônia e água (RADHA et. al., 2005).

O presente trabalho propõe o estudo da remoção da cor em um efluente real e sintético utilizando para tal o fungo *Phanerochaete chrysosporium*, bem como a análise e comparação dos parâmetros DQO, pH, sólidos totais, nitrogênio do efluente real com a legislação vigente.

2. Materiais e metodos

Os experimentos deste trabalho foram realizados nos laboratórios de Fermentações (D 003), Processos de Separação e Tecnologia Ambiental - PSTA e Análise instrumental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa.

2.1 Caracterização do efluente

Com a finalidade de caracterizar o efluente industrial foram realizadas as análises de pH, DQO, nitrogênio e sólidos, conforme a metodologia a seguir.

2.1.1 Determinação do pH do efluente

Para a determinação do pH foi utilizado o pHmetro digital Pro-01-1014.

2.1.2 Determinação da DQO do efluente

O método de determinação da DQO consiste na oxidação da amostra de efluente com uma solução sulfúrica quente de dicromato de potássio em catalisador de sulfato de prata.

O procedimento indica a quantidade de oxigênio do dicromato de potássio que reage com substâncias oxidáveis contidas em 1 litro de efluente. Cada mol de dicromato de potássio corresponde a 1,5 mol de oxigênio, indicando, então, uma concentração em mg. L⁻¹ de DQO.

Para determinar a Demanda Química de Oxigênio - DQO foi utilizado o Kit Hach.

2.1.3 Determinação de Nitrogênio total do efluente

O método baseia-se na transformação do nitrogênio contido na amostra em sulfato de amônio por meio de digestão com ácido sulfúrico e posterior destilação para que ocorra a liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada (APHA, 1999).

O método utilizado foi o Micro-Kjeldhal. O método é dividido em três etapas: digestão, destilação e titulação.

Digestão: É inserido no tubo digestor de nitrogênio 5,0 mL da amostra; 3,0 mL de ácido sulfúrico concentrado P.A.; 0,6 g de sulfato de potássio P.A.; 0,2 g de sulfato de cobre P.A. e 3 perolas de vidro. O tubo digestor é inserido no bloco digestor com temperatura de 50°C. A temperatura é aumentada a 50°C a cada 15 minutos até alcançar 150°C. Após alcançar 150°C a temperatura deve ser aumentada 50°C a cada 30 minutos até alcançar 300°C e aumentar gradativamente até chegar a 342 °C.

Destilação: É inserido no tubo de Kjeldahl a amostra e completada com solução de NaOH (50%) até ocorrer a mudança de cor da amostra para marrom. Um Erlenmeyer de 125 mL é adicionado 20 mL de solução de ácido bórico (2%) e 5 gotas de indicador misto é acoplado no destilador. Proceder a titulação até atingir aproximadamente 100 mL de destilado.

Titulação: foi utilizado como titulante H_2SO_4 (0,1 N) até obter a mudança de cor para a amostra.

A concentração de nitrogênio total da amostra foi calculada pela equação (1):

$$N_{NTK} = \frac{(V_1 - V_2)}{V_{am}} \times N_{ác} \times 14.000 \quad (1)$$

Onde:

NTK representa a concentração do nitrogênio total Kjeldahl, em $mgN-NH_4^+ \cdot L^{-1}$;

V_1 : Volume da solução de ácido utilizado para titular a amostra (mL);

V_2 : Volume da solução de ácido utilizado para titular o branco (mL);

$N_{ác}$: Normalidade da solução de ácido utilizado na titulação;

V_{am} : Volume da amostra (mL).

2.1.4 Determinação de Sólidos Totais, Fixos e voláteis do efluente

Os Sólidos totais são as substâncias que permanecem na cápsula após secagem total da amostra. Sólidos fixos são as substâncias que permanecem na cápsula após o processo de evaporação e calcinação da amostra. Os sólidos voláteis são resultado da subtração entre os sólidos totais e fixos (APHA, 1999).

O método é dividido em três etapas: preparação da amostra, evaporação e calcinação.

- Preparação da amostra: A cápsula de porcelana é lavada com água destilada, seca e calcinada em forno mufla a $550^\circ C$ por 1 hora. Após a evaporação a cápsula é mantida em um dessecador até temperatura ambiente. Em seguida a cápsula é pesada, obtendo P_1 (g).
- Evaporação: 50 mL de amostra é transferido para a cápsula e seca em estufa $105^\circ C$ até obter peso constante. Após a evaporação a amostra é colocada no dessecador até temperatura ambiente. Em seguida a cápsula é pesada, obtendo P_2 (g).
- Calcinação: Após a segunda pesagem, a amostra é levada para forno mufla por 15 minutos a $550^\circ C$. Após calcinação a amostra é levada para dessecador até temperatura ambiente. Em seguida a cápsula é pesada, obtendo P_3 (g).

Os resultados foram obtidos a partir das equações (2), (3) e (4).

$$\text{Sólidos Totais} = \frac{P_2 - P_1}{V_{am}} \times 1000000 \quad (2)$$

$$\text{Sólidos Fixos} = \frac{P_3 - P_1}{V_{am}} \times 1000000 \quad (3)$$

$$\text{Sólidos Voláteis} = \text{Sólidos Totais} - \text{Sólidos Fixos} \quad (4)$$

Em que:

V_{am} = Volume da amostra (mL);

P_1 = Tara da cápsula (g);

P_2 = Cápsula com amostra após secagem (g);

P₃ = Cápsula com amostra após calcinação (g).

2.2 Manutenção do fungo e meio de cultura

2.2.1 Manutenção do microrganismo

A cepa do fungo *Phanerochaete chrysosporium* foi obtida por doação pela EMBRAPA Ceará.

A espécie fúngica foi cultivado em meio Batata Dextrose Ágar (BDA). Para a manutenção da cepa, o meio foi esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 minutos, após o resfriamento, foi inoculado em câmara de fluxo laminar e levado a estufa de 39°C por cinco dias e posteriormente guardado sob refrigeração a 4°C.

2.2.2 Esporulação

Para a esporulação o meio de cultivo utilizado, BDA foi esterilizado a 121°C por 15 min e após o resfriamento o fungo foi inoculado e incubado por 10 dias em estufa a 30°C.

Após o período de incubação foi adicionado água destilada estéril sobre as placas, afim de obter-se uma suspensão de esporos. A concentração de esporos foi avaliada em microscópio com uma câmara de Neubauer e ajustada para $2,0 \times 10^6$ esporos $\times \text{mL}^{-1}$ (HUANG et.al., 2010; CUNHA, A. L. et.al., 2012).

2.2.3 Curva de crescimento

Alíquotas de 1 mL da suspensão de esporos foram inoculadas em Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL do meio batata dextrose. Os frascos foram incubados a 37°C, durante 216 horas (9 dias), sob agitação de 100 rpm. Amostras foram retiradas a cada 24 horas. A biomassa foi obtida por filtração e seca em estufa a 80°C por 24 horas. A média do peso seco, em duplicata, foi utilizada para estabelecer o gráfico correspondente a curva de crescimento (HUANG et.al., 2010; FILHO, 2005).

2.2.4 Condição de cultura

Os efluentes sintético e real foram enriquecidos com o meio descrito por Radha et al. (2005), porém com ausência do cloridrato de tiamina. O meio consiste em: D-Glucose 5,0 g. L⁻¹; K₂PO₄ 2,0 g. L⁻¹; NH₄Cl 0,05 g. L⁻¹; MgSO₄.7H₂O 0,5 g. L⁻¹; CaCl₂.2H₂O 0,1 g. L⁻¹; 10 mL de solução de minerais. A solução de minerais consiste em: MnSO₄ 0,5 g. L⁻¹; FeSO₄.7H₂O 0,1 g. L⁻¹; ZnSO₄.7H₂O 0,1 g. L⁻¹.

Para o efluente sintético foi preparado o meio líquido e adicionado corante em uma concentração de 20 ppm, autoclavado e pH ajustado para 4,5. E para efluente real, foi ajustado o pH para (4,5), adicionado os mesmos componentes do meio líquido e autoclavado.

O inóculo de cada meio consistiu em 1 cilindro de 6,0 mm de diâmetro obtido do meio de cultura sólido (PEREIRA et.al., 2010).

2.3 Testes com os efluentes

O efluente foi fornecido por uma indústria de embalagens, localizada nos Campos Gerais, bem como o corante Basazol Yellow 5G Liq. que esta utiliza no início do processo para coloração dos produtos.

2.3.1 Teste de descoloração do efluente sintético e real.

Para realização do teste foram utilizados 6 Erlenmeyers de 125 mL, contendo 50 mL de amostra, conforme mostra a Tabela 1. Sendo as amostras 1 e 4, as amostras de controle. As amostras 1, 2 e 3 continham o efluente sintético e as 4, 5 e 6 o efluente real. Após o preparo, os Erlenmeyers foram inseridos no Shaker modelo TE – 420, mantidas em rotação de 100 rpm à temperatura de 37°C.

As medições da descoloração dos efluentes foram realizadas no espectrofotômetro FEMTO UV/VIS modelo 800 XL. Para o efluente sintético, o resultado foi obtido através da absorbância da amostra. Para o real, o resultado foi obtido pelo decréscimo do pico de absorbância a 300nm.

Amostra	Efluente real	Corante	Meio líquido	Inóculo	pH
1	-	Sim	Sim	-	4,5
2	-	Sim	Sim	-	4,5
3	-	Sim	Sim	Sim	4,5
4	Sim	-	Sim	Sim	4,5
5	Sim	-	-	Sim	4,5
6	Sim	-	Sim	-	4,5

Fonte: Autoria própria

Tabela 1 – Preparo das amostras

2.3.2 Curva do efluente sintético.

A curva de calibração foi preparada a partir de uma solução de 200 ppm de corante em meio líquido e diluída para as seguintes concentrações: 25, 20, 15, 10 e 5 ppm. A absorbância das respectivas concentrações da solução fora lida em espectrofotômetro FEMTO UV/VIS modelo 800 XL.

3 Resultados e discussões

Nesta seção serão apresentados os resultados atingidos nos testes mencionados no item 2.

3.1 Caracterização do efluente

Parâmetro	Valor
pH	6,00
DQO	8120 mg. L ⁻¹
Nitrogênio total	56 mg. L ⁻¹
Sólidos Totais	9450 mg. L ⁻¹
Sólidos Fixos	4173 mg. L ⁻¹
Sólidos voláteis	5277 mg. L ⁻¹

Fonte: Autoria própria

Tabela 2 – Parâmetros da caracterização do efluente

Segundo o IAP (Instituto Ambiental do Paraná) o valor máximo de DQO permitido para lançamento de efluente líquido é de 150 mg. L⁻¹ (IAP, 2019), valor muito inferior ao obtido na

amostra de efluente. O alto valor de DQO apresentado pela amostra está relacionado com a quantidade de produtos químicos utilizados durante o processo de tingimento do produto, geralmente, são utilizados espessantes, detergentes, dispersantes, emulsionadores, surfactantes, ácidos, bases, sais redutores, solventes orgânicos etc. (ANDRADE, 2003).

O pH obtido está em conformidade com as diretrizes de lançamento de efluentes líquidos. Segundo as Resoluções 357 e 430 do Conama, o pH deve estar entre 6 a 9. Porém, é necessário a diminuição do pH para 4,5 para se obter um melhor rendimento na degradação do efluente pelo fungo.

A concentração de nitrogênio está fora do padrão permitido para lançamento de efluentes pelo Conama, em que a concentração máxima é de 20 mg. L^{-1} (BRASIL, 2005). O nitrogênio é um parâmetro importante, pois a alta concentração de nitrogênio nos corpos de água pode causar a eutrofização que acarreta a proliferação de algas prejudicando o abastecimento público e o ambiente aquático (CETESB, 2017). A alta concentração de nitrogênio está diretamente relacionada com o crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* e com a atuação da enzima lignina peroxidase (GLENN & GOLD, 1983).

A quantidade de sólidos totais também está acima das diretrizes de lançamento de efluentes líquidos da Conama, em que a concentração máxima permitida é de 500 mg. L^{-1} (BRASIL, 2011). A caracterização de sólidos totais é importante, pois quantidades elevadas de sólidos na água podem causar danos ao ambiente aquático relacionados com sedimentações de leitos dos rios o que pode dificultar a desova de peixes. Os sólidos voláteis estão associados a matéria orgânica presente na amostra, e a alta proporção de sólidos voláteis em relação aos sólidos totais condiz com o valor obtido da DQO (BRASIL, 2005).

3.2 Curva de crescimento

O estudo do crescimento consistiu em acompanhar o aumento da concentração da biomassa fúngica (g de massa seca/L de meio de cultura) em função do tempo. Na Figura 1, encontra-se o gráfico correspondente a curva de crescimento do fungo *P. chrysosporium*.

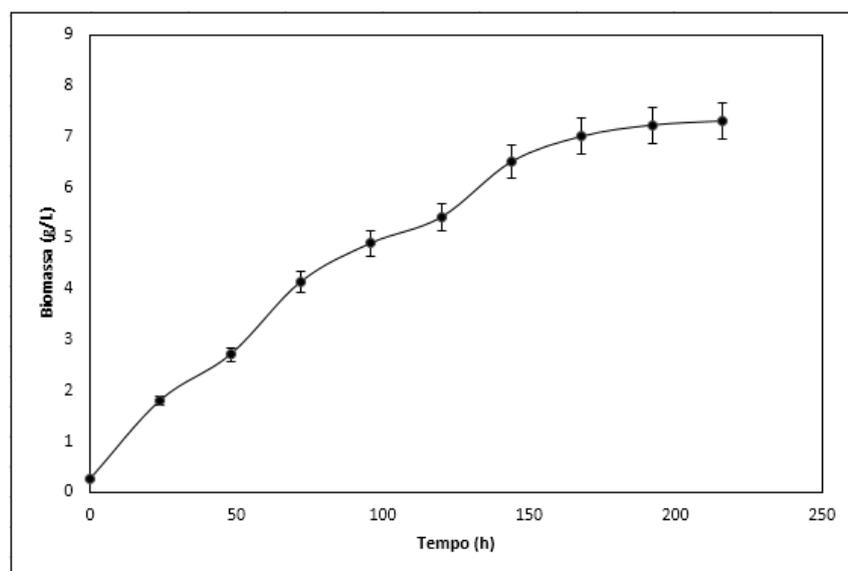


Figura 1 – Curva de crescimento do fungo *P. chrysosporium*

Na curva de crescimento não fica evidenciada a fase de adaptação celular (fase lag), observando-se imediatamente a fase exponencial, onde a velocidade de crescimento

aumenta até atingir o seu máximo em 168 horas com uma concentração de biomassa de 7 g. L⁻¹, em seguida tem-se a fase de desaceleração.

3.3 Descoloração do corante sintético

O teste realizado no corante sintético apresentou alto grau de descoloração do efluente em relação ao padrão, sendo 88,9%.

Conforme Figura 2, devido a cor amarelada da biomassa após os testes, pode-se verificar que a remoção da cor ocorreu através da biossorção, porém pode também ter ocorrido a degradação do corante perante enzimas lignina peroxidase e manganês peroxidase (CRIPPS et.al., 1990).

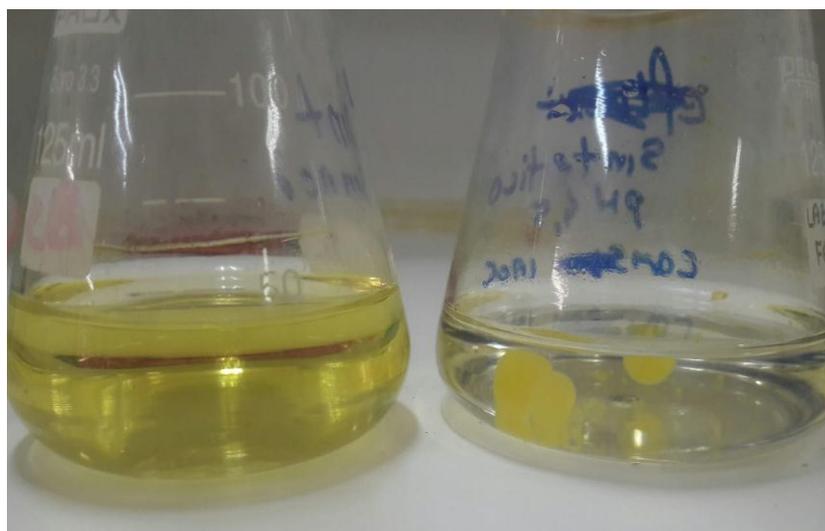


Figura 2 – Descoloração do corante sintético

3.4 Curva de calibração

A curva de calibração foi obtida a partir de leituras em UV-Vis das soluções padrões de corante (5 a 25 mg. L⁻¹) e as absorvâncias correspondentes, a 415nm. O resultado é apresentado na Figura 3, na qual verifica-se a relação linear em que R² = 0,9957.

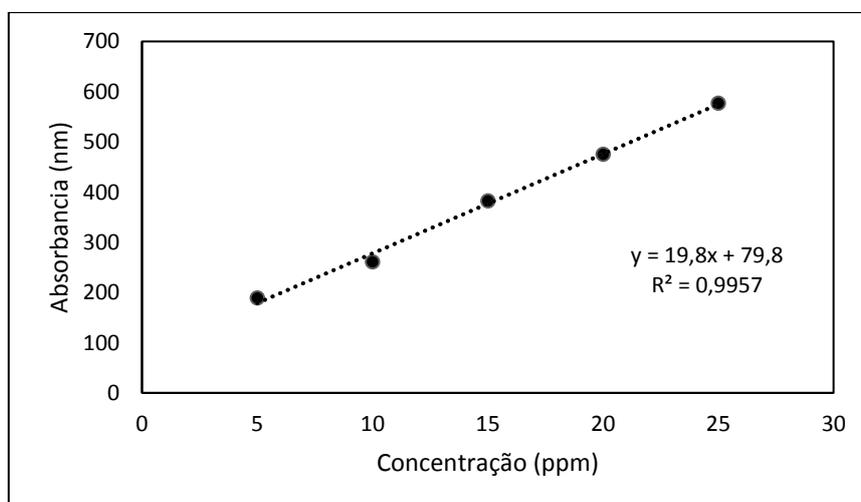


Figura 3 – Curva de calibração do corante

3.5 Descoloração do efluente real

Os testes realizados no efluente real com meio e inóculo e no efluente real apenas com inóculo não apresentaram formação de biomassa, diminuição da cor visualmente e nem diminuição do pico de absorbância. Portanto o fungo não foi capaz de crescer e degradar o efluente real, com o método utilizado. Sua incapacidade de crescimento pode estar relacionada a presença de compostos químicos que são utilizados no processo e que apresentam efeitos inibidores no crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium*.

4 Conclusão

O efluente utilizado apresentou valores de DQO, sólidos totais e concentração de nitrogênio superior ao permitido pela legislação, podendo causar impactos ambientais severos se não tratado de forma correta.

O fungo *Phanerochaete chrysosporium* se mostrou eficiente na descoloração da solução de corante sintético, entretanto, não foi capaz de descolorir a amostra de efluente real. Evidenciando que há interferência da grande quantidade de componentes químicos, presentes no efluente, no processo de descoloração ocasionado pelo fungo. Portanto, para possíveis teste futuros, diluições poderiam ser feitas para diminuir os possíveis efeitos tóxicos dos componentes químicos presentes no efluente bruto.

Referências

ANDRADE, Flavio. **Remoção de cor de efluentes têxteis com tratamento de lodos ativados e um polieletrólito orgânico**. 2003. Tese de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina.

APHA. **American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater**, 19th edition, 1999.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução 357/2005, Enquadramento dos Corpos Hídricos Superficiais no Brasil. Governo Federal, Brasília. Publicada no DOU nº53, de 18 de março de 2005, Seção 1, p.58-63.

BRASIL, Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução 430/2011, Padrões de Lançamentos de Efluentes. Governo Federal, Brasília. Publicada no DOU nº92, de 13 de maio de 2011, Seção1, p.89.

CETESB, **Companhia ambiental do Estado de São Paulo**. São Paulo, 2015. Disponível em <<https://Cetesb.sp.gov.br/blog/2010/07/23/relatórios-da-cetesb-apontam-tendencias-dos-indices-de-qualidade-ambiental-registradas-em-2009/>> Acesso em: 15 de jul. 2017.

CRIPPS, Collen; BUMPUS, John A.; AUST, Steven D. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.56, n.4, p.1114-1118, 1990.

CUNHA, A. L. et.al. Degradação de corante azo por *Phanerochaete chrysosporium* em sistema de reatores em bateladas sequenciais operados em série. In: **VII CONNEPI**, Palmas – TO, 2012.

DELLAMATRICE, Priscila Maria. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP**. 2005. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FILHO, Marcos A. de M. **Avaliação do potencial biotecnológico de *Phanerochaete chrysosporium* UCP 963 e *Cunninghamella elegans* UCP 596 na remoção de cobre e zinco**.

2005. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2005.

GLENN, Jeffrey K.; GOLD, Michael H. decolorization of several polymeric dyes by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **Appl. Environ Microbiol.**, v. 45, n.6, p. 1741-1747, 1983.

HUANG, Dan-Lian. et. al. Mycelial growth and solid-state fermentation of lignocellulosic waste by white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* under lead stress. **Chemosphere** v. 81, p. 1091-1097, 2010.

IAP, Instituto Ambiental do Paraná. **Parâmetros de Lançamento de Efluentes Líquidos**. Curitiba-PR. Disponível em: <<http://www.iap.pr.gov.br/pagina-49.html>>. Acesso em: 19 jul. 2019.

PEREIRA, Aline Ramalha Brandão et al. Biodegradação de corantes e efluentes têxteis por fungos. **Holos environment**, v.10, n.2, p. 165-179, 2010.

RADHA, K. V. et.al. Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics. **Process Biochemistry**, v.40, n.10, p.3337-3345, 2005.

YAGUB, Mustafa T. et al, Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review. **Advances in colloid and interface science**, v. 209, p.172-184, 2014.