

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

UTILIZAÇÃO DE *Trametes versicolor* NO PROCESSO DE DEGRADAÇÃO DE CORANTE ÍNDIGO CARMIM

* Alyne Vasconcelos Cavalcante ¹
Gustavo Evangelista dos Santos ²
Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa ¹
Glória Maria Marinho Silva ¹

USE OF *Trametes versicolor* IN THE PROCESS OF DEGRADATION OF INDIGO CARMINE DYE

Recibido el 5 de junio de 2020; Aceptado el 3 de diciembre de 2020

Abstract

Among the industrial sectors with polluting potential, the textile industry stands out for the large amount of effluents containing dyes, recalcitrant substances with high toxicity. In the search for innovative treatments, the biological treatment stands out for achieving promising results, so this work had the objective of evaluating the degradation of synthetic effluent containing indigo carmine with concentration 20 mg.L^{-1} from the application of fungus *Trametes versicolor* using glucose as carbon source. A study involved the application of glucose at the concentration of 1.0 g.L^{-1} at the beginning of the reaction time (0h) and reapplication of 0.7 g.L^{-1} after 24 hours (24h') in 13 cycles lasting 48 hours, each. Chemical oxygen demand (COD) and glucose were monitored at four times: cycle start (0h), half cycle before addition to glucose (24h) and after addition (24h) and at the end of the cycle (48h). The concentrations of dye and enzyme laccase were taken at 3h, 5h, 10h, 24h, 30h, 34h and 48h. The results of the medium intensity test were 40.6% in the initial 24 hours and 54.4% at the end of the cycle. A COD, on average, $85 \pm 4.2\%$ of removal. The low laccase activity may have been attributed to other enzymes, not evaluated in this work. Therefore, our results signals positively for a use of the *Trametes versicolor* in the degradation of indigo carmine.

Keywords: bioremediation, glucose, laccase, *Trametes versicolor*.

¹ Laboratório de Tecnologia Ambiental, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Fortaleza; Brasil.

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Campus Maracanaú, Brasil.

*Autor correspondente: Laboratório de Tecnologia Ambiental – LATAM, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. Av. Treze de Maio, 2081, Benfica, campus Fortaleza. Fortaleza, Ceará, Brasil. Email: alyneifce@gmail.com

Resumo

Entre os segmentos industriais com potencial poluidor, a indústria têxtil se destaca pelo elevado volume de efluentes rico em corantes - substâncias recalcitrantes com alta toxicidade. Na busca por tratamentos inovadores para efluentes industriais, o tratamento biológico vem alcançando resultados promissores. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a degradação de efluente sintético contendo índigo carmim a partir da aplicação de fungo *Trametes versicolor*, imobilizado em reator em semi-bateladas sequenciais, utilizando glicose como fonte de carbono. A pesquisa envolveu aplicação de glicose na concentração de 1.0 g.L⁻¹ no início do tempo reacional (0 h) e reaplicação de 0.7 g.L⁻¹ após 24 horas (24 h') em 13 ciclos que duravam 48 horas, cada. A demanda química de oxigênio (DQO) e a glicose foram monitoradas em quatro tempos: início do ciclo (0 h), metade do ciclo antes de adicionar glicose (24h) e após sua adição (24 h') e ao final do ciclo (48 h). As concentrações de corante e de enzima lacase foram determinadas em alíquotas retiradas nos tempos de 3 h, 5 h, 10 h, 24 h, 30 h, 34 h e 48 h. Os resultados de remoção média de corante foram de 40.6% nas 24 horas iniciais e 54.4% ao final do ciclo. A DQO atingiu média de 85 ± 4.2% de remoção. A baixa atividade de lacase pode ter sido atribuída à prevalência de outras enzimas, não avaliadas neste trabalho. Portanto, nossos resultados sinalizam positivamente para a utilização do *Trametes versicolor* na degradação do índigo carmim.

Palavras chave: biorremediação, glicose, lacase, *Trametes versicolor*.

Introdução

Nos últimos anos, a gestão da qualidade da água se tornou um interesse mundial, o que fez com que houvesse um engajamento de pesquisadores de várias áreas, visando contribuir com a regulação e redução de produtos altamente tóxicos e poluentes perigosos, como os corantes. Agências e organizações ambientais, incluindo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos reconheceram a urgência e, assim, estudos extensivos passaram a ser realizados para expor a curto e a longo prazo as repercussões de corante na saúde humana e na ecologia natural (Long *et al.*, 2017; Shabbir *et al.*, 2017).

Na tentativa de aliar desenvolvimento com responsabilidade ambiental, mecanismos de tratamento de efluentes passaram a ser desenvolvidos, dentre eles, a biorremediação, que se utiliza de micro-organismos, como os fungos, para degradar compostos de difícil decomposição. Estes micro-organismos são hábeis produtores de enzimas, como a lacase, sendo muito bem adequadas para degradação de corantes têxteis em águas residuais (Holkar *et al.*, 2016).

Em mecanismos de descoloração por degradação enzimática, o fungo *Trametes versicolor* se mostra capaz de alcançar capacidade de remoção entre 85% - 90%, como aplicações para remoção de corante *Black dicem* para couro (Bacar *et al.*, 2011), descoloração de 96% para corante *Red 40* (Jaramillo *et al.*, 2017) e descoloração entre 40% - 46% de *Indigo blue* por *Trametes orientalis* (Zheng *et al.*, 2017), por exemplo.

Como muitas dessas substâncias têm propriedades mutagênicas e carcinogênicas, alteram sistemas aquáticos, contêm considerável quantidade de metais pesados e alta concentração de

matéria orgânica e recalcitrância, a contaminação de ambientes aquáticos decorrente da emissão desses compostos poluentes de segmentos industriais, como o setor têxtil, torna-se um desafio econômico, social e ambiental investir em tratamentos que reduzam os impactos e prejuízos causados pelo lançamento desses efluentes.

Assim sendo, este trabalho objetivou estudar a degradação de efluente sintético contendo índigo carmim em reator em semi-batelada inoculado com *Trametes versicolor* com adição de glicose, como cossustrato.

Materiais e métodos

Inóculo

O fungo *Trametes versicolor* teve seu cultivo realizado a partir de sementeira em placas de Petri esterilizadas, contendo meio de cultura PDA (*Potatoe Dextrose Agar*) previamente esterilizado em autoclave a 121 °C, durante 15 minutos. As placas foram mantidas em estufa microbiológica, sob 28°C por sete dias a fim de se obter o crescimento dos esporos por toda superfície da placa, conforme mostrado na Figura 1, sendo posteriormente removidos através de *plugs* e inoculados em reator, na proximidade do Bico de Bunsen, na forma de discos de 0.9 cm de diâmetro, numa proporção de 20 *plugs*/L, segundo Ottoni (2012).



Figura 1. *Trametes versicolor* crescido em placa de Petri.

Meios de crescimento e basal para o reator biológico

O meio basal teve a seguinte composição (g.L⁻¹): glicose (5); NaNO₃ (0.25); MgSO₄.7H₂O (1); CaCl₂.H₂O (0.04); (NH₄)₂SO₄ (0.5); KH₂PO₄ (2); H₂MoO₄ (0.02); MnSO₄ (0.02); Fe₂(SO₄)₃ (0.02) e ZnSO₄.7H₂O (0.01), segundo Andrade (2013).

A água residuária sintética foi preparada com água de torneira acrescida de 0.02 g.L^{-1} de corante índigo carmim e nutrientes (g.L^{-1}): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.2); KH_2PO_4 (0.2); $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5); $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.1), além de 10 mL.L^{-1} de solução de micronutrientes com composição (g.L^{-1}): $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (3.0), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.5), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1), $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.1), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.08), H_3BO_3 (0.01), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.01).

O meio basal teve seu pH ajustado para 5.0 pela adição de solução de ácido sulfúrico 2.5 mol.L^{-1} por ser condição ótima para desenvolvimento fúngico, segundo Griffin (1994).

Imobilização de biomassa e operação do reator biológico

Foi empregado como material suporte espuma de poliuretano de densidade 0.938 g/m^3 , cortada em cubos de 1 cm de aresta, que foram lavados com água e sabão líquido e posteriormente esterilizados a $121 \text{ }^\circ\text{C}$, em autoclave por 20 minutos.

De acordo com o proposto por Silva *et al.* (2012), os cubos de espuma foram colocados então em redes vazadas de polietileno nas quais foram dispostas 15 gramas de espuma sendo posteriormente alocadas em um reator (frasco de Duram) de 5 L para o procedimento de imobilização da biomassa fúngica. Assim, o meio de crescimento preparado foi autoclavado e, após resfriamento, adicionado ao reator num volume reacional de 4 L. Após 24 horas, para uma melhor fixação do micro-organismo ao material suporte, a aeração foi provida pelo uso de mini-compressores de ar. Uma representação do reator está na Figura 2:



Figura 2. Reator inoculado com *Trametes versicolor* em crescimento.

A operação ocorreu em ciclos de 48 horas, sendo 2 ciclos por semana. No início de cada ciclo, o reator recebeu água residuária sintética contendo meio basal, corante índigo carmim (0.02 g.L^{-1}), conforme curva de calibração adotada pelo equipamento laboratorial, antibiótico Megacilin Super Plus (0.1 g.L^{-1}), para minimizar contaminação por bactérias, e glicose (1.0 g.L^{-1}).

Após 24 h de reação, foi retirada uma alíquota de 20 mL e adicionado ao meio glicose (0.7 g.L^{-1}), sendo o ciclo reacional finalizado depois de mais 24 horas, totalizando 48 h para finalizar o ciclo.

Monitoramento

O sistema foi monitorado através dos seguintes parâmetros apresentados na Tabela 1 e seus respectivos tempos reacionais.

Tabela 1. Variáveis monitoradas durante os ciclos.

Parâmetros	Período de monitoramento
DQO e glicose	0 h, 24 h, 24 h', 48 h
Corante e enzima	3 h, 5 h, 10 h, 24 h, 30 h, 34 h e 48 h

Fonte: Autora (2019).

A determinação de corante se deu por espectrofotometria, com leitura em comprimento de onda (λ) de 610 nm, a partir de curva de calibração elaborada com amostras com concentrações de corante conhecidas.

A determinação da análise de glicose foi realizada de acordo com o procedimento da EMBRAPA (2013), com uso de ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS).

Valores de 1 mL de amostra foram transferidos para tubos de ensaio, previamente descontaminados, e receberam 1 mL de reagente DNS. Em seguida os tubos foram agitados em vórtex (QL- 901 Biomixer) e levados para banho-maria (Q334M-28 Quimis), com água em ebulição ($100 \text{ }^\circ\text{C}$), onde permaneceram por 15 minutos. Após 15 minutos, os tubos foram transferidos para banho de água fria. Em seguida a mistura foi diluída em 10 mL de água destilada e homogeneizada, realizando-se a leitura da intensidade da cor em espectrofotômetro a 540 nm.

A concentração de glicose foi medida pela elaboração de uma curva padrão obtida a partir de solução de glicose (1 g.L^{-1}), a partir da diluição de amostras de concentrações de glicose conhecidas. O cálculo da concentração ocorreu de acordo com a Equação 1:

$Abs \times f \times d$

Equação (1)

Sendo:

Abs: a média das absorbâncias lidas

f: fator de concentração obtido a partir da equação da reta

d: o inverso da diluição da amostra

Determinação da enzima lacase

Para determinação da enzima lacase, conforme protocolo de Aguiar Filho (2008), foram utilizados tubos de ensaio com amostras retiradas do reator e que foram fervidas e outras não fervidas. Foram adicionados em cada tudo 600 μL de amostra filtrada e 300 μL de tampão citrato-fosfato.

Em seguida, um tubo foi fervido por 10 minutos (controle), sendo, então, retirado e resfriado. O tempo inicial (zero) foi determinado como a medição da absorbância no momento em que se adicionou 100 μL de siringaldazine. Depois de 10 minutos foi realizada outra leitura para medição da absorbância. As amostras e os controles foram medidos a 525 nm.

Para o cálculo da atividade da enzima foi utilizada a Equação 2 abaixo:

$$UI/L = (Abs_{final} - Abs_{inicial}) / \epsilon \cdot R \cdot t$$

Equação (2)

Sendo:

ϵ = coeficiente de absorção molar (65000 L. M^{-1} . cm^{-1} a 525 nm)

R: quantidade de solução da amostra

t: tempo de reação em minutos

UI/L = Unidade Internacional, onde internacional significa $\mu\text{mol min}^{-1}$.

Resultados

Os valores médios dos parâmetros acompanhados quando do uso de reator em semi-bateladas sequenciais para remoção de corante índigo carmim utilizando biomassa imobilizada do fungo de podridão branca *Trametes versicolor* estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios de parâmetros em 13 ciclos.

Parâmetros	0 h (mg.L^{-1})	24 h (mg.L^{-1})	24 h' (mg.L^{-1})	48 h (mg.L^{-1})
Corante	20.17 \pm 0.23	11.98 \pm 1.50	11.98 \pm 1.50	9.19 \pm 1.23
DQO	1404.2 \pm 124	163.2 \pm 63	852.2 \pm 87	206 \pm 56
Glicose	0 h (g.L^{-1})	24 h (mg.L^{-1})	24 h' (g.L^{-1})	48 h (mg.L^{-1})
	1.08 \pm 0.07	0.05 \pm 0.06	0.74 \pm 0.10	0.03 \pm 0.04

Fonte: Autora (2019).

Em relação à demanda química de oxigênio (DQO), os valores obtidos foram elevados por conta da adição de glicose ao meio basal no início do ciclo e sua readição, após as primeiras 24 horas. O afluente apresentou uma média de $1404.2 \pm 124 \text{ mg.L}^{-1}$, acompanhado de uma redução para $163.2 \pm 63 \text{ mg.L}^{-1}$ na amostra obtida após 24 horas do início do tempo reacional, chegando ao final do ciclo com um valor de $206 \pm 56 \text{ mg.L}^{-1}$.

Quanto ao corante índigo carmim, o valor médio da concentração foi de $20.17 \pm 0.23 \text{ mg.L}^{-1}$ no afluente, com decaimento de concentração para $11.98 \pm 1.50 \text{ mg.L}^{-1}$ nas 24 horas posteriores e $9.19 \pm 1.23 \text{ mg.L}^{-1}$ nas 24 horas finais. Essa remoção de apenas metade do corante nas 24 horas finais pode estar relacionada a subprodutos de degradação do próprio corante, como isatin e ácido isatin sulfônico citados por Li *et al.*, (2015) que não foram facilmente removidos e foram contabilizados como matéria orgânica. A variação das concentrações de corante nos 13 ciclos e suas respectivas eficiências ao fim de 48 horas são mostradas na Figura 3.

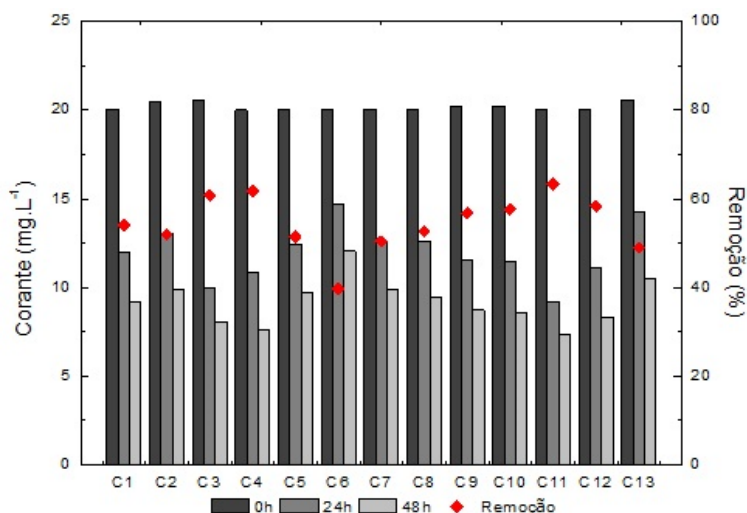


Figura 3. Remoção de corante em reator com biomassa imobilizada de *Trametes versicolor*.

Em termos de eficiência média para o corante nas 24 horas iniciais foi registrado um percentual de remoção de $40.6 \pm 7.4\%$, com ligeiro aumento ao final das 48 horas para $54.4 \pm 6\%$, o que correspondeu a uma concentração média de 9.19 mg.L^{-1} no final do ciclo operacional.

As maiores eficiências de remoção ocorreram nos ciclos 3, 4 e 11, tanto nas primeiras 24 horas, quanto ao final das 48 horas, com valores de 51.7%, 46% e 54%, respectivamente para a metade do ciclo operacional e de 60.8%, 61.7% e 63.2% no final do ciclo.

O percentual de remoção associado ao fungo *Trametes versicolor* é reportado por autores como Blanquez *et al.* (2008) que alcançaram descoloração de água residuária contendo Grey Lanaset G (mistura comercial de corantes e complexos metálicos, entre eles cromo e cobalto). Os autores em questão prepararam solução que continha 150 mg.L^{-1} de corante, adicionaram 8 g.L^{-1} de glicose e pH do meio ajustado para 4.5, obtendo redução dos níveis de cor entre 40% e 60% ao final de 15 dias. Em relação à remoção de corante, neste trabalho, a concentração de corante foi 7.5 vezes menor e a concentração de glicose oito vezes menor que a utilizada por aqueles autores. Ainda assim, a faixa de remoção também esteve entre 40% e 60%, indicando que a readição após 24 horas da glicose pode não ter contribuído efetivamente para mais remoção de cor.

Leidig *et al.* (1999), constataram que *Trametes versicolor* em um biorreator de tanque agitado aerado de 1.0 L em condições não estéreis foi capaz de descolorir polivinilamina sulfonato de antrapiridona (Poly R-478) que possui hidrocarbonetos aromáticos em sua estrutura, em concentração de 200 mg.L^{-1} com a eliminação média de corante de 80% e foi conseguido após 19 dias de cultivo. Contudo o micro-organismo foi encapsulado em esferas de hidrogel e os autores sugeriram que a eficiência alcançada foi devido a tal procedimento de encapsular, o que tornaria o processo mais oneroso.

Em um estudo realizado por Miranda *et al.* (2013) os autores conseguiram remoções de efluente têxtil contendo corante índigo usando reatores aeróbios com um volume reacional de 5 L e pH ajustado para 7.5. Foram utilizados o ascomiceto *Curvularia lunata* e o basidiomiceto *Phanerochaete chrysosporium*, que alcançaram remoções em 20% e 48%, respectivamente ao final de 48 horas, resultados menores que o alcançado nesta pesquisa. Em todos os ciclos foi observado decaimento da concentração de corante ao final de 48 horas, perceptível pela remoção de cor nas alíquotas com 24 horas e 48 horas, de acordo com Figura 4.



Figura 4. Verificação da redução de cor em amostras de entrada (0h), metade do tempo reacional (24h) e saída (48h).

Em relação à glicose adicionada primeiramente na concentração 1 g.L^{-1} e sua reposição na concentração de 0.7 g.L^{-1} após as 24 horas iniciais, os resultados obtidos estão apresentados na Figura 5.

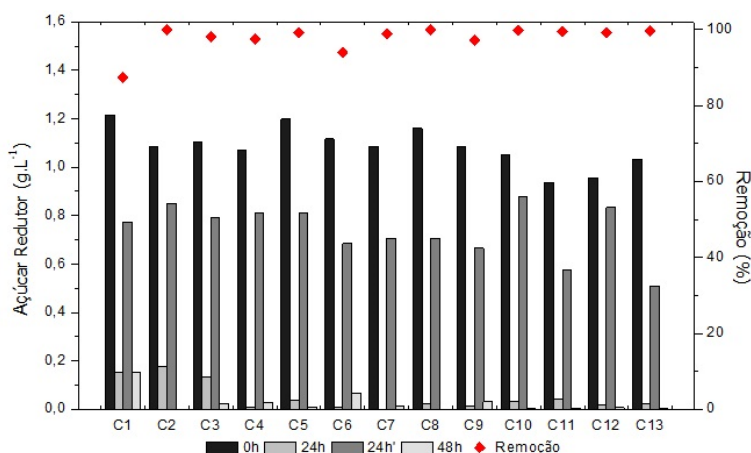


Figura 5. Concentração de glicose em reator com biomassa imobilizada de *Trametes versicolor*.

É possível constatar o consumo quase imediato de glicose nas 24 horas iniciais, reforçando a assertiva de que esta fonte de carbono é prontamente assimilada pelo fungo (Ottoni, 2012), e que, sendo material orgânico de fácil utilização pelo fungo, está contabilizado nas parcelas de DQO. Com a reaplicação de glicose em 24 h', o seu consumo se deu quase que completamente, especialmente a partir do ciclo 3.

Os ciclos 1 e 6 apresentaram maior concentração da glicose ao fim de 48 horas, com eficiências 87% e 94%, respectivamente, coincidindo de terem sido ciclos cujas remoções de corante foram baixas 54% (ciclo 1) e 39% (ciclo 6) tendo o efluente contabilizado concentração de 9.21 mg.L^{-1} e 12.05 mg.L^{-1} de corante, respectivamente, reforçando que o micro-organismo preferiu o cossubstrato adicionado ao composto que se deseja degradar, mesmo assim, em 11 ciclos houve redução de mais da metade de concentração inicial de corante.

A taxa de descoloração é influenciada pela adição de fontes de carbono, confirmado também por resultados de Pakshirajan e Kheria (2012) que utilizaram água residual bruta diluída com um volume igual de água destilada em meio contendo glicose em concentrações de 1 a 10 g.L^{-1} para estudar seu efeito no processo de descoloração. Os resultados revelaram que a água residual pode ser descolorida em mais de 64%, quando diluída com meio contendo glicose; e uma eficiência máxima de descoloração de 83% foi obtida com concentração de glicose de 10 g.L^{-1} , mas como neste trabalho a glicose foi praticamente consumida e adicionada numa concentração bem menor, a remoção de cor acabou sendo comprometida.

Chenau *et al.* (2014) observaram que apesar de altos níveis de enzimas extracelulares, a descoloração diminui à medida que a glicose se esgota podendo ser restaurada pelo seu reabastecimento. Dosoretz *et al.* (1990) também afirmam que em culturas limitadas pela glicose o fungo produz proteases que reduzem a concentração de enzimas, o que poderia afetar a descoloração. O impacto de fontes de carbono como a glicose promoveu aos processos metabólicos do fungo um crescimento de suas células e aumento da degradação do substrato, o que foi observado quando a concentração de 0.7 g.L^{-1} foi adicionada ao reator, pois houve um incremento de descoloração da metade do ciclo até o final, porém com o consumo de praticamente 100% do cossustrato e formação de subprodutos, a descoloração ficou comprometida.

No que diz respeito à remoção de DQO, os resultados mostrados na Figura 6 permitem considerar que a eficiência de remoção foi satisfatória, numa média de $88.3\% \pm 4.6$ nas primeiras 24 horas e $85.2\% \pm 4.2$ nas 24 horas finais.

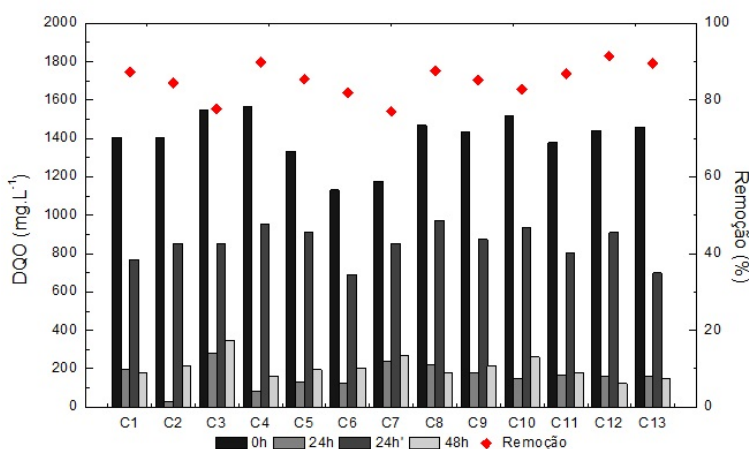


Figura 6. Decaimento de DQO em reator com biomassa imobilizada de *Trametes versicolor*.

Tem-se que a melhor remoção DQO se deu nos ciclos 2 e 4, nas primeiras 24 horas, com redução de 1404 mg.L^{-1} para 30.6 mg.L^{-1} (97.8%) e redução de 1563.9 mg.L^{-1} para 80 mg.L^{-1} (94.9%), respectivamente; enquanto para as 24 horas finais, a maior eficiência se deu nos ciclos 4 e 12 com concentração de saída de 159.5 mg.L^{-1} (89.8%) e 124.2 mg.L^{-1} (91.4%), respectivamente. Esta acentuada diminuição da DQO se deu pelo imediato consumo da glicose nas 24 horas iniciais, porém o declínio das eficiências ao final dos ciclos pode ter ocorrido pelos subprodutos e metabólitos excretados pela célula fúngica.

Vale ressaltar que o ciclo 4 também se destacou quanto à remoção da concentração de corante, sendo o terceiro melhor nas 24 h com eficiência de 45.9% e o segundo melhor nas 24 horas finais, com eficiência de 61.7%. Embora tenham sido destaques, esses valores de remoção foram menores que os do ciclo 11, com 53% (24 h) e 63% (48 h) de remoção de corante, sendo interessante acompanhamento de pelo menos dez ciclos para compreensão de um padrão adotado pelo fungo.

Alguns trabalhos da literatura apontam valores bastante variáveis para DQO de águas residuárias têxteis como Trombini e Obara-Doi (2012) que em quatro amostras de efluente têxtil tratado pelo fungo *Ganoderma spp* conseguiram remoção superior a 50%, porém com expressivos valores de DQO após o tratamento. Os autores fizeram considerações acerca dos nutrientes adicionados ao meio de cultivo, confirmando outras pesquisas que afirmam que essa adição é uma das responsáveis pelos altos valores que podem variar de 887 a 14200 mg.L⁻¹. Neste trabalho o maior valor de DQO registrado no início do ciclo foi de 1767 mg.L⁻¹ (ciclo 12) e de 1908 mg.L⁻¹ após reinserção da glicose no ciclo 5, mas por se tratar de efluente sintético esses valores são menores do que poderiam surgir num efluente *in natura* com outros constituintes. Durante os 13 ciclos a quantificação de enzima lacase foi baixa. Seu comportamento está ilustrado na Figura 7.

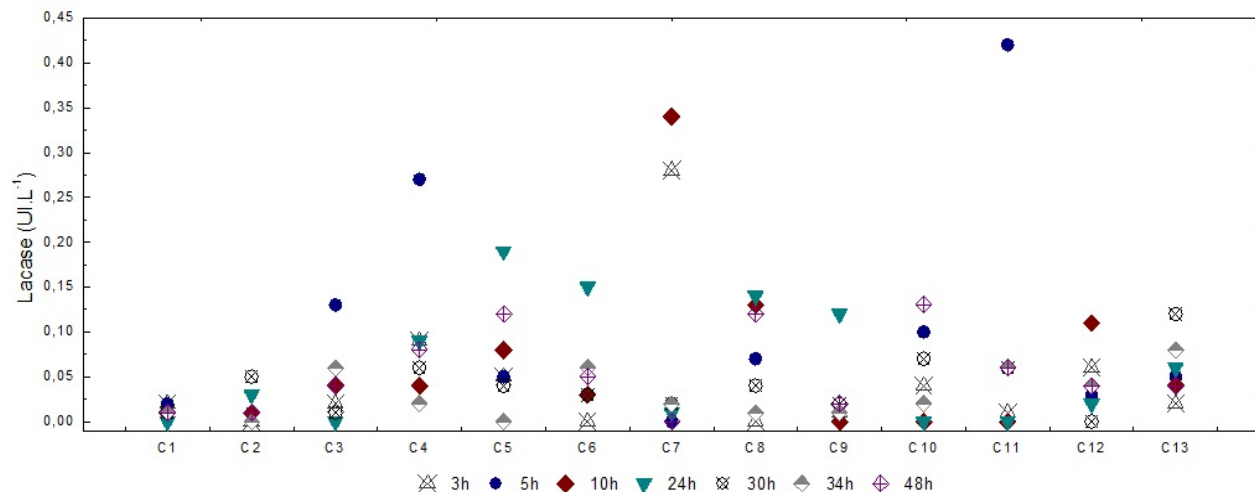


Figura 7. Atividade de lacase em reator com biomassa imobilizada de *Trametes versicolor*.

A atividade enzimática máxima registrada foi no tempo de 5 horas, no ciclo 11 com 0.42 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$. Valores praticamente nulos também foram encontrados por He *et al.* (2018) utilizando fungo *Trichoderma tomentosum* para descoloração de três misturas dos corantes *Direct Fast Scarlet 4BS*, *Direct Turquoise Blue 5B* e *Acid Red 3R* (100 mg.L⁻¹) em que soluções foram incubadas com 100 mg de *pellets* de micélio, a partir de colônias e mantidas a 150 rpm por 72

horas. Os resultados apontaram para 95% de remoção do corante e foram encontradas altas quantidades para manganês peroxidase ($1438.9 \pm 33.5 \text{ UI.L}^{-1}$), baixa para lignina peroxidase ($44.6 \pm 2.9 \text{ UI.L}^{-1}$) e nenhuma atividade de lacase foi detectada no sobrenadante durante todo o processo de degradação, e neste trabalho os valores ficaram entre 0.0 e $0.42 \mu\text{mol.min}^{-1}$

Semelhantes resultados foram encontrados com *Penicillium oxalicum* sendo obtidos $67.4 \pm 4.9 \text{ UI.L}^{-1}$ e $0.7 \pm 0.1 \text{ UI.L}^{-1}$ para manganês peroxidase e lignina peroxidase, respectivamente, durante a degradação de corantes azo e nenhuma atividade de lacase foi detectada (Saroj *et al.*, 2014).

Pesquisa com *Trametes villosa* SCS-10 conduzida por Ortiz-Monsalve *et al.* (2017) apresentou atividade enzimática de lacase acima de 1000 UI.L^{-1} , porém esses resultados se deram numa faixa de pH igual a 6, ou seja, bem maior que a desta pesquisa, cujo valor inicial de 5 passou rapidamente para 2 nas primeiras 24 horas. Nesta pesquisa o valor médio para o afluyente foi de 5.00 ± 0.06 , conforme acidificação induzida para melhor adaptação e crescimento do fungo e com valor médio de saída de 2.52 ± 0.10 , devido à formação de subprodutos, especialmente ácidos orgânicos.

Quando os autores supracitados reduziram o pH para 2.0 obtiveram uma quantidade bem inferior de atividade enzimática, entre 95 e 110 UI.L^{-1} , porém estes resultados foram alcançados em concentrações de corante variadas de 100 a 1000 mg.L^{-1} , valores bem maiores que a concentração usada nesta pesquisa que foi de 20 mg.L^{-1} . Os corantes utilizados foram *Acid Red* 357 (AR357), *Acid Blue* 161 (AB161) e *Acid Black* 210 (AB210) e o tempo reacional foi de, no mínimo, 48 horas chegando a 96 horas.

De acordo com Lopes *et al.* (2014), a baixa atividade de lacase pode ter sido atribuída ao predomínio de outras enzimas não determinadas como manganês-peroxidase e lignina peroxidase, e juntamente com uma remoção discreta de corante, a ação de provável lacase sintetizada também não foi efetiva. Em adição o pH desempenha papel importante nas reações enzimáticas, uma vez que muitas enzimas desenvolvem atividade ótima em um pH específico, de modo que a ação de qualquer enzima dependerá do comportamento ácido-base da atividade enzimática e do substrato.

Conclusões

O reator com biomassa imobilizada com *Trametes versicolor* foi parcialmente favorável à proposta de tratamento biológico, podendo outra condição sem reinserção de cossustrato ou determinação de outras enzimas ser avaliada para verificação de uma remoção superior à média de $54 \pm 6,0\%$ de corante.

A adição de cossustrato após 24 horas favoreceu a remoção de corante e a remoção de demanda química de oxigênio atingiu média de $85 \pm 4.2\%$ no final dos ciclos, mas apenas 7 ciclos dos 13 estudados apresentaram condições para lançamento por estarem inferiores aos 200 mg.L^{-1} permitido por legislação.

A análise enzimática mostrou que a quantificação praticamente nula de lacase pode estar relacionada à inibição por outras enzimas, que devem ter participado na degradação obtida. O valor máximo obtido para o volume de água residuária sintética de 4 L foi de $0.42 \mu\text{mol.min}^{-1}$.

O uso da espécie *Trametes versicolor* apresentou-se como uma alternativa viável para o tratamento de águas contaminadas com corante índigo carmim, sendo interessante avaliação de outras enzimas responsáveis pela degradação.

Referências bibliográficas

- Aguiar Filho, J. M. M. (2008) *Análise enzimática de fungos lignocelulolíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana de açúcar*. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - São Paulo, 80 pp.
- Andrade, M. V. F. (2013) *Biodegradação de corante têxtil por uso de reator biológico em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de Phanerochaete chrysosporium*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Fortaleza. 95 pp.
- Baccar, R., Blánquez, P., Bouzid, J., Feki, M., Attiya, H., Sarrá, M. (2011) Decolorization of a tannery dye: from fungal screening to bioreactor application. *Biochemistry Engineer. J.*, **56**, 184-189.
- Blánquez, P., Sarra, M., Vicent, T. (2008) Development of a continuous process to adapt the textile wastewater treatment by fungi to industrial conditions. *Process Biochemistry*, **43**, 1-7.
- Chaneaux, P. R., Lalji, N., Lefebvre, D. D. (2014) *Trametes meyenii* possesses elevated dye degradation abilities under normal nutritional conditions compared to other white rot fungi. *AMB Express*, Acesso em 17 de abril de 2018, disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13568-014-0074-3>
- Dosoretz, C. G., Dass, S. B.; Reddy, C. A., Grethlein, H. E. (1990) Protease-mediated degradation of lignin peroxidase in liquid cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**(11), 3429-3434.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2013) *Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos*. Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical.
- Griffin, D. H. (1994) *Fungal physiology*, 2ª ed. Wiley-Liss, New York, 458 pp.
- He, X-L., Song, C., Li, Y-Y., Wang, N., Xu, L., Han, X., Wei, D-S. (2018) Efficient degradation of Azo dyes by a newly isolated fungus *Trichoderma tomentosum* under non-sterile conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **150**, 232-239.
- Holkar, C. R., Jadhav, A. J., Pinjari, D. V., Mahamuni, N. M., Pandit, A. B. (2016) A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. *Journal of Environmental Management*, **182**, 351-366.
- Jaramillo, A. C., Cobas, M., Hormaza, A., Sanromán, M. A. (2017) Degradation of Adsorbed Azo Dye by Solid-State Fermentation: Improvement of Culture Conditions, a Kinetic Study, and Rotating Drum Bioreactor Performance. *Water Air Soil Pollut*, **228:205**, 1-14.
- Leidig, E., Prusse, U., Vorlop, K. D., Winter, J. (1999) Biotransformation of poly R-478 by continuous cultures of PVAL-encapsulated *Trametes versicolor* under non-sterile conditions. *Bioprocess Engineering*, **21**, 5-32.

- Li, H., Xu, B., Tang, L., Zhang, J., Mao, Z. (2015) Reductive decolorization of indigo carmine dye with *Bacillus* sp. MZS10. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **103**, 30-37.
- Long, X., Pan, Q., Wang, C., Wang, H., Li, H., Li, X. (2017) Microbial fuel cell-photoelectrocatalytic cell combined system for the removal of azo dye wastewater. *Bioresource Technology*, **244**(1), 182-191.
- Miranda, R. C. M., Gomes, E. B.; Pereira Junior, N., Marin-Morales, M. A., Machado, K. M. G., Gusmão, N. B. (2013) Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by *Curvularia lunata* URM 6179 and *Phanerochaete chrysosporium* URM 6181. *Bioresource Technology*, **142**, 361-367.
- Ortiz-Monsalve, S., Dornelles, J., Poll, E., Ramirez-Castrillón, M. Valente, P., Gutterres, M. (2017) Biodecolourisation and biodegradation of leatherdyes by a native isolate of *Trametes villosa*. *Process Safety and Environmental Protection*, **109**, 437-451.
- Otoni, C. A. (2012) *Descoloração de corantes têxteis por fungos ligninolíticos em condições de pH e salinidade elevada*. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica), Universidade do Minho. 153 pp.
- Pakshirajan, K., Kheria, S. (2012) Continuous treatment of coloured industry wastewater using immobilized *Phanerochaete chrysosporium* in a rotating biological contactor reactor. *Journal of Environmental Management*, **101**, 118-123.
- Saroj, S., Kumar, K., Pareek, N., Prasad, R., Singh, R. P. (2014) Biodegradation of azo dyes acid red 183, Direct blue 15 and Direct red 75 by the isolate *Penicillium oxalicum* SAR- 3. *Chemosphere*, **107**, 240-248.
- Shabbir, S., Faheem, M., Ali, N., Kerr, P. G., Wu, Y. (2017) Evaluating role of immobilized periphyton in bioremediation of azo dye amaranth. *Bioresource Technology*, **225**, 395-401.
- Silva, K. M. L., Andrade, M. V., Lima, P. C., Wanderley, C. R. P., Marinho, G., Rodrigues, K. (2012) Papel do cossustrato na remoção de corante têxtil por *Aspergillus niger* AN400 inoculado em reator em bateladas sequenciais. In: Rodrigues, K.; Marinho, G. (Eds), *Fungos e águas residuárias industriais: nova tecnologia*, Imprima, Recife, 137-153.
- Trombini, R. B., Obara-Doi, S. M. (2012) Remoção de cor e análises físico-química de efluentes de indústrias têxteis tratados com *Ganoderma* spp. *Revista Fapciência*, **9**, 101-122.
- Zheng, F., An, Q., Meng, G. E., Wu, X., Dai, Y., Si, J., Cui, B. (2017) A novel laccase from white rot fungus *Trametes orientalis*: Purification, characterization, and application *International Journal of Biological Macromolecules*, **102**, 758-770.