

## BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS POR MEIO DA AÇÃO DE *Pleurotus spp*

**Adriane Yumi Babá<sup>1</sup>; Fábio Rogério Rosado<sup>2</sup>; Patrícia da Costa Zonetti<sup>3</sup>**

**RESUMO:** Nos dias atuais, existe uma alta geração de efluentes tóxicos, como os corantes que muitas vezes vem sendo despejadas em rios e solo sem nenhum tipo tratamento prejudicando os corpos d'água e os organismos que deles dependem para sua sobrevivência. Com isso, surge a necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos e pouco impactantes para o tratamento destas substâncias. Sendo uma delas a Biorremediação, que consiste no uso de microrganismos como fungos e bactérias para degradar compostos poluentes. Os fungos basidiomicetes têm sido indicados pela biotecnologia atual como eficientes na degradação de grande variedade de compostos e corantes, devido às suas enzimas capazes de degradar moléculas complexas como a lignina e a celulose. Neste trabalho foram utilizados os fungos *Pleurotus ostratus* do tipo Flórida e *Pleurotus ostratus sp.* A incubação foi feita em agitador mecânico rotatório com velocidade de 110rpm, com temperatura média de 27°C por um período de 7 dias. A coloração do meio foi analisada e a pesagem da biomassa foi feita após a filtração a vácuo e a secagem do material. Sendo estes dados comparados com o controle, observou-se que o fungo *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida teve um crescimento micelial maior e uma descoloração maior se comparado com o fungo *Pleurotus ostreatus sp.*

**PALAVRAS-CHAVE:** Azul de Metileno; Biorremediação; Corante; Fungo Basidiomicete; *Pleurotus sp*

### 1 INTRODUÇÃO

É válido dizer que, nos dois séculos passados verificou-se um grande crescimento industrial que se estendeu aos dias atuais apoiado pelo forte consumismo que acompanha o homem. Porém, esta busca de conforto trouxe como consequência a degradação do ambiente, uma vez que, para a transformação de matérias-primas em bens manufaturados, muitas substâncias indesejadas são produzidas e têm como destino final o solo, água ou ar (FASANELLA, 2005).

Além da preocupação com a poluição dos nossos recursos naturais, outra preocupação são os efeitos que estas substâncias liberadas no ambiente podem trazer à saúde humana. Muitas dessas substâncias possuem potencial mutagênico e cancerígeno (BUMPUS, 1995 apud DELLAMATRICE, 2005). A maioria dos corantes liberados persistem no ambiente por períodos muito longos e o tempo que seus efeitos a serem sentidos podem superar décadas (DELLAMATRICE, 2005).

Através da Biorremediação foram descobertos vários microrganismos, fungos, plantas verdes ou suas enzimas extremamente versáteis em degradar compostos poluentes para que o ambiente contaminado retorne a sua condição original. Os caminhos atuais da biotecnologia indicam fungos basidiomicetes degradadores de lignina, como

<sup>1</sup> Acadêmica de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR). Bolsista do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). [adrianeyumi@hotmail.com](mailto:adrianeyumi@hotmail.com)

<sup>2</sup> Doutor em Biologia Celular, [fabiorosado@cesumar.br](mailto:fabiorosado@cesumar.br)

<sup>3</sup> Docente do Centro Universitário de Maringá, CESUMAR, [patriciazonetti@cesumar.br](mailto:patriciazonetti@cesumar.br)

eficientes na degradação de grande variedade de compostos e de corantes, com alto potencial de ação na recuperação de ambientes contaminados, em especial os denominados “da podridão branca da madeira” (KAMIDA et al., 2005). As enzimas encontradas, nestes organismos são em grande parte lacases, MnP (Manganês peroxidases) e LiP (Lignina peroxidases) (MAYER; STAPLES, 2002 apud REGINA; BROETTO, 2005).

O cogumelo *Pleurotus ostreatus* é uma fonte de proteína, e um microrganismo com habilidade efetiva de bioconverter vários materiais lignocelulósicos (MAIO, 2004).

Diversos outros estudos têm indicado a capacidade de fungos basidiomicetos de degradar compostos orgânicos poluentes recalcitrantes. Todavia, apesar dos vários estudos de biorremediação já realizados com basidiomicetos, ainda não se sabe ao certo quando o inóculo fúngico está em condições favoráveis para que a degradação do poluente seja mais efetiva. O critério mais utilizado é avaliação da colonização do substrato pelo micélio do fungo. (BALLAMINUT et al., 2007).

Este trabalho teve como objetivo verificar a capacidade de degradação do corante Azul de Metileno pelos fungos *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida e *Pleurotus ostreatus* sp.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

O isolado de *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida e *Pleurotus ostreatus* sp. foi cedido pelo Centro Universitário de Maringá, da coleção de cultura de basidiomicetos (Banco de germoplasma). Optou-se por estes isolados por serem conhecidos mundialmente e por terem grande potencial para estudos de biorremediação.

### 2.2 CULTIVO PARA A MANUTENÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO

Os isolados de *Pleurotus spp.* foram cultivados em meio sólido de BDA (Batata, Dextrose e Ágar) em placas de Petri por sete (7) dias a 27°C no escuro até o crescimento micelial completo da placa, em seguida colocados na refrigeração à 4°C. Estas culturas foram repicadas a cada 3 meses para a manutenção da cultura, assim como para manter a viabilidade do fungo.

### 2.3 INÓCULO LÍQUIDO

Após o crescimento nas placas, a massa micelial das espécies a serem estudadas foram retiradas na forma de discos de aproximadamente 1 cm e inoculados em tubos de ensaio contendo 3mL de meio líquido caseiro BD (Batata e Dextrose) e incubados no escuro de forma estática por sete (7) dias.

### 2.4 TRATAMENTO E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O meio de cultura líquido de BD (batata e dextrose) foi preparado utilizando 140 g de batata inglesa picada e 10 g de açúcar. A batata foi cozida por aproximadamente 30 minutos, em seguida o caldo foi coado em gaze, foi adicionado o açúcar no caldo e completado com água destilada até obter 1 litro de meio de cultura líquido.

Após a preparação do meio, o mesmo foi distribuído em erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL cada, depois foram misturados nos erlemeyers diferentes concentrações do corante azul de metileno

Estes erlenmeyers foram esterelizados em autoclave a 121°C, 1 atm, por 15 minutos. Depois de esterelizados, os erlenmeyers contendo o meio líquido BD e os erlenmeyers contendo o meio líquido BD + azul de metileno em diferentes concentrações, foram inoculados com 3 mL de cultura líquida dos tubos de ensaios previamente preparados. Os tratamentos feitos foram:

**Solução 1 Azul de metileno a 0,02g/L, solução controle de coloração**

Solução 1.1 *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida e solução de 0,02g/L de azul de metileno;

Solução 1.2 *Pleurotus ostreatus sp.* e solução de 0,02/L de azul de metileno;

**Solução 2 Azul de metileno a 0,04g/L, solução controle de coloração**

Solução 2.1 *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida e solução de 0,04g/L de azul de metileno;

Solução 2.2 *Pleurotus ostreatus sp.* e solução de 0,04g/L de azul de metileno;

**Solução 3 Controle**

Solução 3.1 *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida e meio de cultura BD (Batata e Dextrose), Controle do crescimento da Biomassa;

Solução 3.2 *Pleurotus ostreatus sp.* e meio de cultura BD (Batata e Dextrose), controle do crescimento da Biomassa.

Estes erlenmeyers foram tamponados com algodão para a aeração adequada para o crescimento dos fungos em cultivo submerso.

A incubação dos erlenmeyers foi realizada em agitador mecânico rotatório (shaker) com velocidade de 110rpm durante 7 (sete) dias com temperatura média de 27°C ( $\pm$  5°C), e fotoperíodo de 12 horas.

## 2.5 AVALIAÇÃO DA BIOMASSA

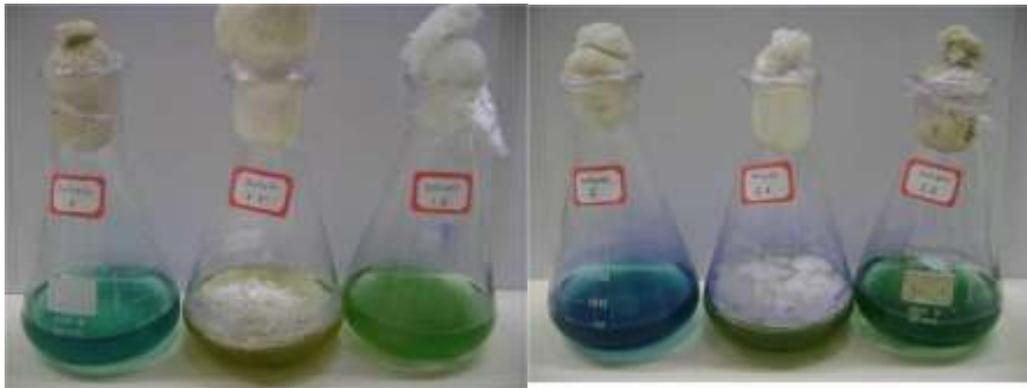
Após o período de incubação a biomassa fúngica foi separada por filtração com o auxílio de um funil de porcelana contendo papel de filtro Whatman nº1 usando uma bomba de vácuo. Antes da filtragem foi feita a pesagem do papel seco, em seguida feita a filtragem a vácuo. Depois da filtragem foi feita a secagem do material em estufa à 100°C por aproximadamente 8 horas. E então foi feita a pesagem da biomassa fúngica, expressa em gramas(g), obtida em balança analítica.

## 2.6 ANÁLISE DOS DADOS

As diferentes tonalidades dos meios de cultura foram observadas visualmente e fotografadas. A Biomassa depois de obtida foi expressa em porcentagem (%) e representada por gráfico (análise descritiva).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se diminuição da cor do meio de cultura após 7 dias de incubação no agitador mecânico rotatório, através de análise visual dos erlenmeyers contendo as espécies dos fungos que foram testados. Ao comparar com a solução 1 e solução 2 detectou-se que nas soluções 1.1 e 2.1 houve uma coloração mais amarelada e um pouco mais clara do que nas soluções 1.2 e 2.2, que no caso ficaram com uma coloração mais esverdeada (Figura 1).

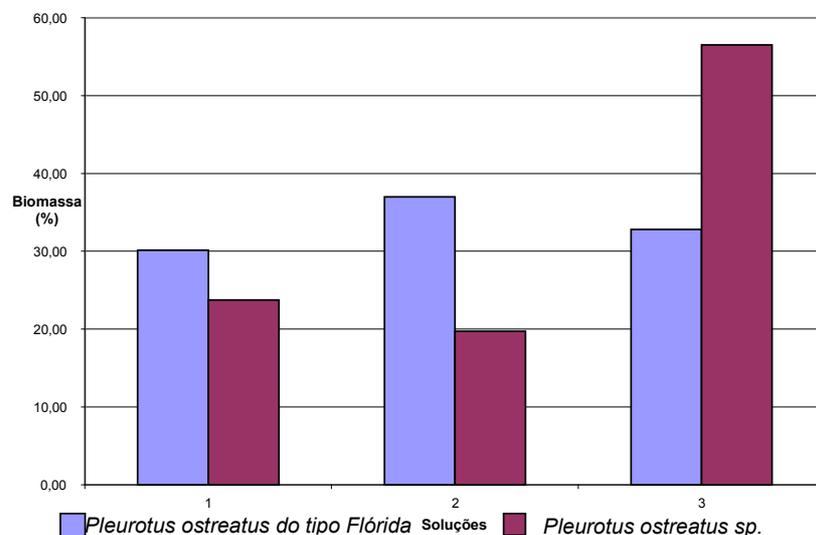


**Figura 1.** BD(batata e dextrose) caseiro + Corante; Inoculado com *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida(Solução 1.1 e 2.1); inoculado com *Pleurotus ostreatus* sp.(Solução 1.2 e 2.2), com 7 dias de incubação.

A Biomassa do fungo *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida do erlenmeyer de Solução 2.1 foi maior, em torno de 37,01% em comparação com o crescimento micelial da Solução controle 3.1 em torno de 32,82%. Já o fungo *Pleurotus ostreatus* sp. o peso da Biomassa foi maior na Solução controle 3.2 que foi de 56,53% (Figura 2 e Gráfico 1).



**Figura 2.** Meio de cultura líquido BD caseiro inoculado com *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida(Solução 3.1) e *Pleurotus ostreatus* sp. (Solução 3.2), com 7 dias de incubação



**Figura 3.** porcentagem da Biomassa fúngica após 7 dias de incubação.

Kunz et al. (2002) relatam que a utilização de fungos para a degradação de corantes vem sendo estudada, pois estes caracterizam-se por serem bons produtores de lacase. Soares (2000) revela que somente os corantes solúveis em água servem como substrato para esta enzima, diretamente ou na presença de mediadores. No entanto, Dellamatrice (2005) afirma que a produção da enzima lacase e manganês peroxidase por *Pleurotus ostreatus* não resultou em descoloração de resíduo sólido, indicando a presença de outros fatores controladores da descoloração.

#### 4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, a produção de Biomassa comportou-se diferentemente para cada espécie fúngica estudada. No caso do fungo *Pleurotus ostreatus* do tipo Flórida a produção de Biomassa foi favorecida na solução mais concentrada. Já no caso do fungo *Pleurotus ostreatus sp.* a produção da Biomassa foi favorecida na solução de controle de Biomassa. A diminuição da coloração das Soluções menos concentrada e mais concentrada foi proporcional ao crescimento micelial, ou seja, onde obteve-se uma maior produção de Biomassa, também obteve-se maior diminuição da coloração do meio de cultura.

As duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* estudadas apresentam potencial para serem empregados em processos biotecnológicos de Biorremediação para diminuição da cor do corante azul de metileno.

#### REFERÊNCIAS

BALLAMINUT, Nara; MATHEUS, Dácio.R. **Caracterização Fisiológica de Inóculo Fúngico para Processos de Biorremediação de Solos**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 2007.

DELLAMATRICE, Priscila Maria. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP**. Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ecologia de Agroecossistemas. Piracicaba, 2005. Obtido via internet <  
<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/91/91131/tde-21022006-160612/>> acessado em 29/05/2007

FASANELLA, Cristiane Cipola. **Produção de Biosurfactantes em quatro linhagens fúngicas com potencial para futuro processo de biorremediação em derramamentos de petróleo provenientes de refinarias**. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) Centro Universitário da Fundação de Ensino de Octávio Bastos. São João da Boa Vista, SP, 2005.

KAMIDA, Hélio Mitoshi; DURRANT, Lúcia Regina; MONTEIRO, Regina Tereza Rosim; ARMAS, Eduardo Dutra de. Biodegradação de Efluente Têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 629-632, 2005.

KUNZ, Airton; PERALTA-ZAMORA, Patrício; MORAES, Sandra Gomes de e DURÁN, Nelson. Novas Tendências no Tratamento de efluentes têxteis. **Química nova**, São Paulo, V. 25, n.1, p. 78- 82 2002.

MAIO, Christiane Silveira da Silva, PADILHA, Elaine, CORRÊA, Fernanda Villar & COSTA, Jorge Alberto Vieira. **Influência da Composição do Substrato na Velocidade**

**de Crescimento do Cogumelo Comestível *Pleurotus ostreatus*.** Rio Grande-RS, 2004. Obtido via internet < [www.enq.ufsc.br/eventos/sinaferm/trabalhos\\_completos/t218.doc](http://www.enq.ufsc.br/eventos/sinaferm/trabalhos_completos/t218.doc) > acessado em 25/05/2007

REGINA, Magali; BROETTO, Fernando. Atividade de enzimas oxidativas do *Lentinula edodes* em meio de cultura líquida de subprodutos energéticos. **Energia na agricultura**, São Paulo, v.20, n.1, p. 47-61, 2005.

SOARES, Graça Maria Barbosa. **Aplicação de Sistemas Enzimáticos à Degradação de Corantes Têxteis.** Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Têxtil pela Universidade de Minho, 2000 Obtido via internet < [http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/3448/1/Gra%C3%A7a\\_Soares.pdf](http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/3448/1/Gra%C3%A7a_Soares.pdf) > acessado em 20/09/2007.