



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

THAMIRES ROMERA DA SILVA

**DESCOLORAÇÃO DE CORANTE REATIVO TÊXTIL
POR ISOLADOS FÚNGICOS DE ORIGEM
AMBIENTAL: MICÉLIO IMOBILIZADO E NÃO
IMOBILIZADO**

Orientador: Profa. Dra. Marcia Cristina Furlaneto

Londrina
2025

THAMIRES ROMERA DA SILVA

**DESCOLORAÇÃO DE CORANTE REATIVO TÊXTIL
POR ISOLADOS FÚNGICOS DE ORIGEM
AMBIENTAL: MICÉLIO IMOBILIZADO E NÃO
IMOBILIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Profa. Dra. Marcia Cristina Furlaneto

Londrina
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

da Silva, Thamires Romera .

DESCOLORAÇÃO DE CORANTE REATIVO TÊXTIL POR ISOLADOS FÚNGICOS DE ORIGEM AMBIENTAL: MICÉLIO IMOBILIZADO E NÃO IMOBILIZADO / Thamires Romera da Silva. - Londrina, 2025.
74 f.

Orientador: Marcia Cristina Furlaneto.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2025.

Inclui bibliografia.

1. Micorremediação - Tese. 2. Corante Têxtil - Tese. 3. Imobilização celular - Tese. 4. Esponja Vegetal - Tese. I. Furlaneto, Marcia Cristina. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. III. Título.

CDU 579

THAMIRES ROMERA DA SILVA

**DESCOLORAÇÃO DE CORANTE REATIVO TÊXTIL
POR ISOLADOS FÚNGICOS DE ORIGEM
AMBIENTAL: MICÉLIO IMOBILIZADO E NÃO
IMOBILIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Marcia Cristina Furlaneto
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr.^a Eloiza Aparecida Paulo
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr.^a Emanuele Júlio Galvão de França
Universidade Estadual do Norte do Paraná Campus
Cornélio Procópio - UENP

Londrina, 24 de Abril de 2025.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer aos meus pais, Marcos e Andreia, que sempre me apoiaram e acreditaram que era possível. Também, a minha irmã, agradeço por ser minha companheira em todos os momentos. Agradeço aos meus falecidos avós que sempre estiveram presentes na minha vida.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Marcia C. Furlaneto, por todos os anos de orientação, carinho e incentivo à pesquisa científica, muito obrigada.

Agradeço às colegas de laboratório, Lorena, Gabriele, Leticia, Nathalia e Kawane. Os dias foram especiais com vocês. Agradeço ao técnico do laboratório, Osvaldo, por cuidar, ajudar e alegrar o espaço de trabalho, muito obrigada.

À Cássia, Eloiza e Nathalia, agradeço por permanecerem presentes durante a minha trajetória acadêmica e por toda amizade e todo carinho.

A todos os meus amigos que me ajudaram ao longo do mestrado, Gabriel, Leonardo, Barbara, Julia, Tatiane e Mateus, a vida é mais leve com vocês.

Ao Laboratório de Espectroscopia da Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa (CMLP), que sempre me auxiliaram com a utilização do espectrofotômetro UV-Vis e FT-IR.

Ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade.

À agência de fomento CAPES pela concessão da bolsa e auxílio a pesquisa muito obrigada!

“Sei quem eu era quando me levantei hoje de manhã,
mas acho que já me transformei várias vezes desde
então”

Lewis Carroll

SILVA, Thamires Romera da. **DESCOLORAÇÃO DE CORANTE REATIVO TÊXTIL POR ISOLADOS FÚNGICOS DE ORIGEM AMBIENTAL: MICÉLIO IMOBILIZADO E NÃO IMOBILIZADO**. 2025. 74 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

RESUMO

Os efluentes gerados pela indústria têxtil contêm elevadas concentrações de corantes sintéticos e outros compostos químicos, representando um desafio ambiental devido à sua toxicidade e à dificuldade de remoção por métodos convencionais de tratamento físico-químico. Nesse contexto, os processos biológicos que utilizam microrganismos destacam-se como alternativas sustentáveis para o tratamento de efluentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de fungos filamentosos não imobilizado e imobilizado em esponja vegetal (*Luffa cylindrica*), para descolorir o corante reativo azul BF-5G (AZ-BF-5G). Foram utilizados dois fungos filamentosos: *Penicillium* sp. (ascomiceto) e o isolado B20 (basidiomiceto). Foram testadas diferentes concentrações de biomassa fúngica, tempos de incubação e concentrações do corante. A esponja vegetal foi escolhida como suporte de imobilização devido à sua biodegradabilidade, disponibilidade e alta porosidade. Também foi avaliada a capacidade de reutilização da biomassa imobilizada em ciclos subsequentes de descoloração e a eficiência na descoloração de efluente simulado por *Penicillium* sp. imobilizado. Inicialmente, o micélio não imobilizado de ambos os isolados foram testados. *Penicillium* sp. apresentou $80,92 \pm 5,08\%$ de descoloração em 24 horas, enquanto o isolado B20 descoloriu $54,1 \pm 7,2\%$ no mesmo período. O aumento da concentração do corante resultou em redução da capacidade de descoloração, evidenciando a importância da imobilização como estratégia de proteção contra estresses ambientais. O sistema de imobilização em esponja vegetal mostrou-se eficiente, com descolorações de $32,7 \pm 2,0\%$ e $87,04 \pm 2,7\%$ para B20 e *Penicillium* sp., respectivamente. O isolado B20 imobilizado demonstrou maior eficiência em descolorir concentrações elevadas de corante, enquanto *Penicillium* sp. destacou-se pela capacidade de descoloração em tempos menores de incubação, reutilização da biomassa imobilizada por três ciclos e descoloração de efluente simulado. Os resultados reforçam o potencial da esponja vegetal como suporte para imobilização de fungos filamentosos. Conclui-se que *Penicillium* sp. e B20 apresentam capacidade de descoloração do corante AZ-BF-5G, destacando-se como alternativas para o tratamento de efluentes têxteis, contribuindo, dessa forma, para práticas industriais mais sustentáveis.

Palavras-chave: Imobilização; *Luffa cylindrica*; Azo corante; Biodescoloração; Micorremediação; Esponja vegetal.

SILVA, Thamires Romera da. **DECOLORIZATION OF TEXTILE REACTIVE DYE BY FUNGAL ISOLATES OF ENVIRONMENTAL ORIGIN: IMMOBILIZED AND NON-IMMOBILIZED MYCELIUM**. 2025. 74 f. Dissertation (Master's degree in Microbiology) – State University of Londrina, Londrina, 2025.

ABSTRACT

The effluents generated by the textile industry contain high concentrations of synthetic dyes and other chemical compounds, representing an environmental challenge due to their toxicity and the difficulty of removal by conventional physico-chemical treatment methods. In this context, biological processes using microorganisms stand out as sustainable alternatives for effluent treatment. The aim of this study was to evaluate the ability of filamentous fungi, both in non-immobilized and immobilized structure on vegetable sponge (*Luffa cylindrica*), to decolorize the reactive blue BF-5G dye (AZ-BF-5G), as well as to investigate the possible mechanisms of decolorization, such as biodegradation and biosorption. Two filamentous fungi were used: *Penicillium* sp. (ascomycete) and the isolate B20 (basidiomycete). Different fungal biomass concentrations, incubation times, and dye concentrations were tested. The vegetable sponge was chosen as an immobilization support due to its biodegradability, availability, and high porosity. The reusability of the immobilized biomass in subsequent decolorization cycles and the efficiency in decolorizing simulated effluent by immobilized *Penicillium* sp. were also evaluated. Initially, the non-immobilized mycelium of both isolates was tested. *Penicillium* sp. showed $80.92 \pm 5.08\%$ decolorization within 24 hours, while isolate B20 decolorized $54.1 \pm 7.2\%$ in the same period. Increasing the dye concentration resulted in reduced decolorization capacity, highlighting the importance of immobilization as a strategy to protect against environmental stress. The immobilization system on vegetable sponge proved to be efficient, with decolorization rates of $32.7 \pm 2.0\%$ and $87.04 \pm 2.7\%$ for B20 and *Penicillium* sp., respectively. The immobilized B20 isolate demonstrated greater efficiency in decolorizing high dye concentrations, while *Penicillium* sp. stood out for its ability to decolorize in shorter incubation times, reuse of immobilized biomass for three cycles, and decolorization of simulated effluent. The results reinforce the potential of the vegetable sponge as a support for the immobilization of filamentous fungi. It is concluded that *Penicillium* sp. and B20 have the ability to decolorize the AZ-BF-5G dye, standing out as promising alternatives for the treatment of textile effluents, contributing to more sustainable industrial practices.

Key-words: Immobilization; *Luffa cylindrica*; Azo dye; Biodecolorization; Mycoremediation; Vegetable sponge.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G nas concentrações de 250 mg/L e 2500 mg/L por *Penicillium* sp. não immobilizado em (A) 15 minutos de incubação e (B) 24 horas de incubação.....41
- Figura 2** – Obtenção de biomassa fúngica immobilizada. (1) Esponja vegetal tratada não immobilizada; (2) Crescimento micelial e immobilização na esponja vegetal com 72 h de incubação; (3a) Micélio immobilizado em esponja vegetal; (3b) Micélio immobilizado tingido do corante Azul Reativo BF-5G..... 42
- Figura 3** – Descoloração do corante Azul reativo BF-5G empregando diferentes massas de micélio de *Penicillium* sp. immobilizado em esponja vegetal (MIEV) nos tempos de 24, 48 e 72 horas de incubação.....44
- Figura 4** – Avaliação da solução descolorida pós-descoloração (24 h) do corante Azul Reativo BF-5G (250 mg/L) por biomassa fúngica não immobilizada e immobilizada de *Penicillium* sp. (A) espectrofotômetro UV-Vis e (B) espectroscopia no infravermelho. O controle consiste no corante sem a presença de micélio..... 46
- Figura 5** – Curva de tempo de descoloração do corante Azul reativo BF-5G (250 mg/L) empregando 0,9 g de micélio immobilizado (MIEV) no período de 24 horas..... 47
- Figura 6** – Porcentual de descoloração empregando 0,9 g de micélio immobilizado (MIEV) em diferentes concentrações (250 mg/L; 500 mg/L; 1000 mg/L) do corante Azul reativo BF-5G.....49
- Figura 7** – Reutilização do micélio immobilizado (MIEV). (A) Porcentagem de descoloração do corante Azul reativo BF-5G (250 mg/L) por 4 ciclos de reutilização. (B) Esquema ilustrativo da capacidade descoloração do corante Azul reativo BF-5G (250 mg/L) por 4 ciclos de reutilização.....50
- Figura 8** – Produção e avaliação da descoloração do efluente simulado acrescido de corante reativo têxtil azul BF-5G. (A) Reagentes utilizados na composição do efluente simulado. (B) Porcentagem de descoloração do efluente simulado por micélio immobilizado (MIEV) de *Penicillium* sp. em diferentes tempos de 24, 72 e 120 horas de incubação..... 52
- Figura 9** – Avaliação da solução descolorida após 120 h de descoloração do efluente simulado acrescido com Azul Reativo BF-5G (250 mg/L) por biomassa de *Penicillium* sp. immobilizada (MIEV). (A) Espectrofotometria UV-Vis e (B) espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier. O controle consiste no efluente simulado sem a presença de micélio.....54

- Figura 10** – Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L) por micélio não imobilizado do basidiomiceto B20 nos tempos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas de incubação.....65
- Figura 11** – Porcentagem de descoloração em 24 horas de incubação utilizando diferentes concentrações do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L; 250 mg/L; 2500 mg/L) por micélio não imobilizado do basidiomiceto B20..... 66
- Figura 12** – Avaliação da solução descolorida antes (0 h) e após (24 h) a descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L) pelo basidiomiceto B20 não imobilizado. (A) Espectrofotometria UV-Vis e (B) espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier.....68
- Figura 13** – Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G empregando diferentes biomassas fúngicas imobilizada (MIEV) do basidiomiceto B20, sendo (A) 0,9 g de MIEV e (B) 1,8 g de MIEV, nos tempos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas de incubação..... 70
- Figura 14** – Avaliação dos solução descoloridas após descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L) empregando 0,9 g e 1,8 g de micélio imobilizado (MIEV) do basidiomiceto B20 por 72 horas de incubação. (A) Espectrofotometria UV-Vis e (B) espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. O controle consiste no corante sem a presença de micélio..... 72
- Figura 15** – Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (250 mg/L) empregando diferentes biomassas fúngicas imobilizadas (MIEV) do basidiomiceto B20, sendo (A) 0,9 g de MIEV e (B) 1,8 g de MIEV, nos tempos de 24, 48 e 72 horas de incubação..... 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de corantes por meio de sua estrutura química e representação das principais classes por classificação de aplicação na fibra têxtil.....	16
Tabela 2 - Microrganismos utilizados na descoloração de azo corantes em diferentes estudos.....	22
Tabela 3 – Fungos filamentosos utilizados na descoloração de corantes têxteis em diferentes estudos.....	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 Corantes Têxteis.....	15
3.2 Caracterização do efluente têxtil.....	18
3.3 Tratamentos para efluente têxtil.....	19
3.4 Fungos Filamentosos na biorremediação.....	23
3.5 Imobilização celular.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Isolados fúngicos e Corante têxtil.....	26
4.2 Avaliação de descoloração.....	27
4.3 Ensaio de Imobilização.....	28
4.4 Avaliação de UV-Vis e FT-IR.....	29
4.5 Descoloração de Efluente simulado.....	29
4.6 Análises estatísticas.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
5.1 Isolado fúngico e Corante têxtil.....	37
5.2 Avaliação de descoloração.....	37
5.3 Ensaio de Imobilização.....	38
5.4 Avaliação de UV-Vis e FT-IR.....	39
5.5 Avaliação da cinética de descoloração.....	39
5.6 Descoloração de Efluente simulado.....	39
5.7 Análises estatísticas.....	40

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
6.1 Avaliação de descoloração por biomassa de <i>Penicillium</i> sp. não imobilizado	40
6.2 Imobilização e avaliação da descoloração de <i>Penicillium</i> sp.....	41
6.3 Avaliação da solução descolorida por micélio não imobilizado e imobilizado	44
6.4 Cinética de descoloração por MIEV	47
6.6 Reutilização de biomassa fúngica imobilizada	49
6.7 Descoloração de efluente têxtil simulado.....	51
7 CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
8 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
8.1 Isolado fúngico e Corante têxtil	62
8.2 Avaliação de descoloração	62
8.3 Ensaio de Imobilização.....	63
8.5 Análises estatísticas	64
9 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
9.1 AVALIAÇÃO DE DESCOLORAÇÃO PELA BIOMASSA NÃO IMOBILIZADA DO BASIDIOMICETO B20.....	64
9.2 EFEITOS DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CORANTE NA CAPACIDADE DE DESCOLORAÇÃO DO BASIDIOMICETO B20	65
9.4 IMOBILIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DESCOLORAÇÃO DO BASIDIOMICETO B20.....	69
9.5 CAPACIDADE DE DESCOLORAÇÃO POR BIOMASSA DE B20 IMOBILIZADO EM RELAÇÃO AO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DO CORANTE AZ-BF-5G	73
10 CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se na produção de tecidos por possuir uma cadeia têxtil completa, que abrange desde a obtenção da fibra até a confecção de peças para o consumidor final. Segundo a Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT), em 2021, o país faturou R\$ 190 bilhões e empregou 1,34 milhão de pessoas, demonstrando a relevância econômica e social do setor. No entanto, para a produção de uma tonelada de tecido, são utilizados, aproximadamente, 200 m³ de água, o que resulta na geração de efluentes contaminados com insumos químicos, como corantes, metais e surfactantes, além de resíduos físicos, como fibras sintéticas ou orgânicas (Ramos *et al.*, 2021).

Efluentes têxteis contaminados com corantes, quando despejados sem tratamento adequado, representam uma ameaça ambiental significativa, especialmente para ecossistemas aquáticos. Além disso, muitos desses corantes possuem características carcinogênicas e mutagênicas (Cox; White, 2019), tornando sua presença em corpos hídricos perigosa tanto para a fauna e flora aquática quanto para os seres humanos. Diante disso, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) tem implementado regulamentações rigorosas que exigem o tratamento adequado de efluentes têxteis antes de seu descarte, objetivando mitigar os impactos ambientais negativos.

As técnicas convencionais de tratamento físico-químico são eficazes na remoção de contaminantes sólidos e químicos, mas podem gerar resíduos, como lodo ativado, que demandam etapas adicionais de tratamento, elevando os custos do processo (Adane; Adugna; Alemayehu, 2021). Nesse contexto, o tratamento por descoloração biológica surge como uma alternativa promissora. Esse método consiste no emprego de microrganismos, como bactérias e fungos, para a remoção de corantes, aproveitando sua capacidade intrínseca de decompor moléculas complexas. Essa abordagem é considerada mais ecológica e economicamente viável em comparação aos métodos convencionais.

Os fungos possuem a capacidade de excretar diversas enzimas lignolíticas, como peroxidases e lacases, que auxiliam na biodegradação de compostos complexos, como exemplo, temos as moléculas de corantes. Além disso, a parede celular fúngica é composta por uma matriz complexa de polissacarídeos que contribui para a bioadsorção de corantes, sem alterar ou clivar as moléculas (Sen *et al.*, 2016). A eficiência da descoloração depende de fatores como a espécie fúngica, a estrutura da molécula do corante e a forma de utilização do micélio (Rajhans *et al.*, 2021).

Embora células livres sejam eficazes, elas podem ficar expostas a estressores ambientais, o que limita sua aplicação. Uma alternativa é a imobilização celular, que pode proteger o microrganismo e/ou melhorar sua atividade enzimática. Diversos suportes podem ser utilizados para imobilização, no entanto, visando à sustentabilidade e ao baixo custo, destacam-se alternativas naturais, como carragenina e esponjas vegetais, que representam escolhas mais ecológicas (Przystaś; Zabłocka-Godlewska; Grabińska-Sota, 2018).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de fungos filamentosos imobilizados em esponja vegetal e de fungos não imobilizados na descoloração do corante têxtil Azul Reativo BF-5G. Além disso, buscou-se explorar o espectrofotômetro de UV-Vis e espectroscopia de FT-IR e reforçar a importância de práticas sustentáveis no setor industrial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade do ascomiceto *Penicillium* sp. e do basidiomiceto B20 em descolorir o corante azul reativo BF-5G, empregando biomassa não imobilizada e imobilizada em esponja vegetal (*Luffa cylindrica*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a descoloração fúngica, empregando diferentes concentrações de corante têxtil azul reativo BF-5G em tempos de incubação distintos.
- Avaliar a capacidade de imobilização de células fúngicas em esponja vegetal.
- Avaliar ensaios de descoloração empregando biomassa fúngica imobilizada.
- Avaliar a capacidade de descoloração de biomassa fúngica imobilizada, empregando efluente têxtil simulado.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CORANTES TÊXTEIS

A busca por pigmentos existe desde os primeiros grupos de seres humanos. Plantas, minerais e animais forneceram os primeiros corantes naturais utilizados. No período Paleolítico superior (30.000 A.C.), carvão e óxido de ferro eram utilizados para pinturas rupestres em cavernas. A cor púrpura foi descoberta a partir da excreção de moluscos marinhos. Na época do Império Romano, o seu uso estava restrito apenas para vestimenta de imperadores devido à dificuldade de obtenção e ao seu alto custo, sendo mais valiosa que o ouro. Contudo, o acesso a diversos tipos de pigmentos só ocorreu após 1856, quando William Henry Perkin, por acidente, descobriu a Mauveína, sendo o primeiro corante sintético patenteado, tendo revolucionado todo o mercado de corantes do mundo (Abel, 2012).

Atualmente, os corantes estão presentes em quase todos setores das indústrias, utilizados para coloração de couros, cosméticos, papéis, alimentos, produtos farmacêuticos e tecidos, este último sendo o maior consumidor de corantes sintéticos (Tkaczyk; Mitrowska; Posyniak, 2020). Segundo o Relatório do IEMI (Inteligência de mercado), com apoio da Associação Brasileira de Indústria Têxtil (ABIT), em 2022 a cadeia têxtil brasileira movimentou cerca de R\$ 193,2 bilhões em negócios, além de gerar 1,3 milhão de postos de trabalho. Em relação às exportações têxteis, ocorreu um faturamento de US\$ 4,84 bilhões, reforçando a relevância econômica da indústria tanto nacional quanto internacionalmente.

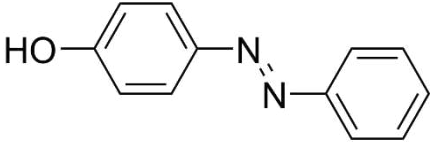
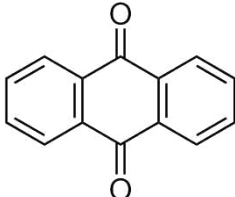
Sendo assim, a quantidade e a variedade de produtos têxteis a serem produzidos mundialmente chega a 700.000 toneladas por ano. Dentre as etapas de fabricação na indústria têxtil, a coloração é uma das mais importantes, conferindo aos produtos valor estético e econômico. Sendo assim, para atender à diversidade de produtos e às exigências de mercado, atualmente, existe uma grande variedade de corantes têxteis, sendo cerca de 10.000 tipos diferentes. Os corantes podem ser classificados de duas maneiras: por meio da sua estrutura química ou pela fixação nas fibras têxteis (Tkaczyk; Mitrowska; Posyniak, 2020).

A classificação dos corantes, por meio da estrutura química, ocorre pela caracterização do grupo cromóforo presente nas moléculas. Essa estrutura é responsável por conferir a cor ao corante, pois possui a capacidade de absorção na região do espectro visível e região ultravioleta. Algumas das classes representativas deste modo de classificação são: corantes azo, antraquinonas, metalizados, indigoide, ftalocianinas, nitro e nitrosos e sulfurosos, conforme demonstrado na Tabela 1 (Zanoni, 2016).

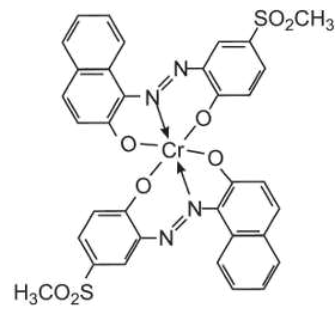
Os corantes azo destacam-se como os mais utilizados na indústria, representando 60–80% dos corantes comerciais. Sua aplicação em larga escala deve-se à estabilidade da ligação azo (-N=N-). No entanto, alguns derivados, como os baseados em benzidina, podem gerar metabólitos carcinogênicos após clivagem da ligação azo, resultando na classificação desses compostos como carcinogênicos. Em razão dos riscos toxicológicos, diversos países estabeleceram restrições ao uso desses corantes, principalmente em produtos de contato direto com a pele (Cox; White, 2019).

A classificação dos corantes, segundo o método de aplicação às fibras, é adotada no setor têxtil. Essa classificação é diretamente relacionada ao tipo de fibra utilizada, que pode ser natural ou sintética. Os principais tipos de corante deste modo de classificação são: reativos, ácidos, diretos, dispersos, básicos, catiônicos, pré-metalizados e à tina (Tabela 1). O mais relevante desta classificação são os corantes reativos que se destacam por formarem ligações covalentes com as fibras sob influência de calor e pH, proporcionando durabilidade e resistência à lavagem. Dentro desta classe, os corantes reativos azo são 80% da produção global de corantes reativos, possuindo alta estabilidade química e grande diversidade de cores, além de serem indicados para coloração de fibras naturais, como o algodão, mas também fibras sintéticas como a poliamida (Zanoni, 2016).

Tabela 1. Classificação de corantes por meio de sua estrutura química e representação das principais classes por classificação de aplicação na fibra têxtil.

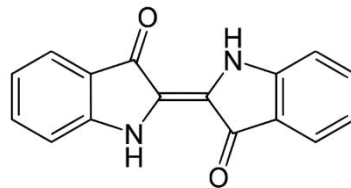
Nome do Cromóforo	Estrutura química do cromóforo	Principais classes em relação à aplicação na fibra têxtil
Azo		Reativos, ácidos, dispersos, diretos, básicos, catiônicos, pré-metalizados
Antraquinona		Reativos, dispersos, ácidos, básicos, pré-metalizados, à Tina

Metalizados



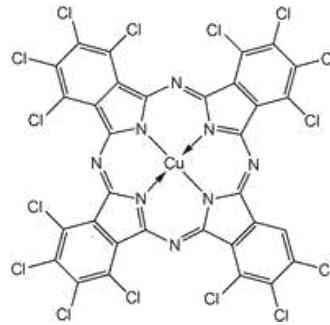
Ácidos, diretos e reativos

Indigoide



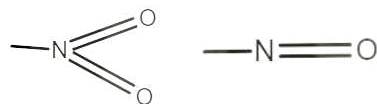
Ácidos, à Tina

Ftalocianinas



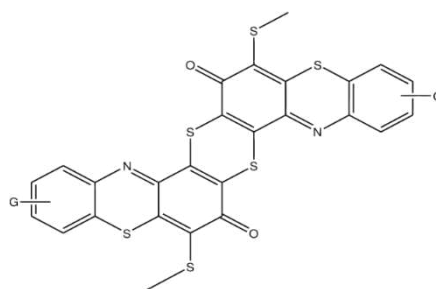
Reativos, diretos, ácidos, básicos

Nitro e nitrosos



Ácidos, básicos, dispersos

Sulfurosos



-

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE TÊXTIL

Na indústria têxtil, existem diversas etapas para a obtenção do produto final. Cada um dos estágios possui características próprias de consumo de água e de produtos químicos utilizados para o tratamento das fibras têxteis. Esses efluentes são caracterizados por uma alta carga orgânica, presença de corantes sintéticos, metais pesados, sólidos suspensos e outros aditivos químicos, como surfactantes, sais e agentes estabilizantes (Yaseen; Scholz, 2019). A composição desses efluentes varia dependendo do tipo de fibra processada (natural ou sintética), dos corantes utilizados e das etapas de produção, como branqueamento, tingimento e acabamento (Tkaczyk; Mitrowska; Posyniak, 2020).

O processo de tingimento é uma das etapas que mais utiliza água. Para tingir 1 kg de fibra de algodão com corante reativo, pode-se utilizar de 70 a 150 l de água, dependendo das recomendações do fabricante do corante. Contudo, cerca de 10 a 60% dos corantes reativos não se fixam às fibras têxteis e são descartados nos efluentes da indústria. Esses corantes, amplamente utilizados devido à sua alta estabilidade e capacidade de formar ligações covalentes com fibras como o algodão, conferem uma coloração intensa aos efluentes, que pode persistir no ambiente por longos períodos, causando impactos ambientais significativos (Rosa *et al.*, 2015).

A forte presença de cor pode impedir que a luz passe pelo corpo de água, afetando os organismos fotossintetizantes e, em consequência, todo o ecossistema do local. Além disso, são encontrados resíduos de produtos químicos como hidróxido de sódio, surfactantes e ácidos que, em abundância, são nocivos aos seres vivos. Os níveis de demanda química de oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) são altos, indicando uma alta carga orgânica, podendo gerar condições anóxicas. Pode ocorrer a presença de metais pesados (cromo, cobre e zinco) que estão presentes em alguns corantes, além de sólidos suspensos em abundância. Esses contaminantes são resistentes à degradação (Yaseen; Scholz, 2019).

A presença de corantes azo nos efluentes têxteis é preocupante devido ao seu potencial de liberar aminas aromáticas, compostos derivados da degradação dos corantes e conhecidos por suas propriedades mutagênicas e carcinogênicas (Zhang *et al.*, 2012). Estudos demonstram que a exposição a esses compostos pode causar danos ao DNA, alergias e, até mesmo, câncer em seres humanos (Swarnkumar Reddy; Osborne, 2020). Segundo a *Swedish Chemicals Agency* (2014), corantes azo, diretos e ácidos, utilizados no tingimento de algodão, representam um risco à saúde humana, por poderem causar alergias e neoplasias. Além disso,

corantes reativos demonstraram efeitos fitotóxicos, como a redução da clorofila em plantas, além de citotoxicidade em células (Swarnkumar Reddy; Osborne, 2020). Assim, os potenciais riscos dos efluentes têxteis para ecossistemas e para a saúde humana têm motivado regulamentações rigorosas nos países sobre o descarte de águas residuais provenientes de indústrias.

3.3 TRATAMENTOS PARA EFLUENTE TÊXTIL

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) é o órgão responsável pela regulamentação do lançamento de efluentes em corpos d'água, conforme estabelecido na Resolução n.º 430, de 13 de maio de 2011. Essa resolução define condições mínimas para o descarte, incluindo pH entre 5 e 9, temperatura abaixo de 40°C, ausência de materiais flutuantes e uma redução de 60% na DBO em 5 dias de tratamento, além de exigir que o efluente não apresente efeitos tóxicos. Para atender a esses requisitos, diversos tipos de tratamento são utilizados para mitigar a presença de corantes e outras substâncias advindas da indústria. Esses tratamentos são classificados em dois grupos principais: tratamentos físico-químicos e tratamentos microbiológicos.

3.3.1 Tratamentos Físico-Químicos

Os tratamentos físico-químicos são utilizados na remoção de corantes dos efluentes têxteis. Esses métodos incluem processos como coagulação-floculação, adsorção, oxidação, destruição eletroquímica, osmose reversa, filtração e ozonização. A coagulação-floculação, um método relativamente barato, ocorre pela adição de substâncias coagulantes que formam flocos, facilitando a remoção por sedimentação ou filtração. No entanto, esse método tende a gerar excesso de lodo e não é eficiente para efluentes que contêm corantes ácidos, reativos e diretos. A adsorção, por sua vez, destaca-se como o método mais eficiente para a remoção de corantes de efluentes têxteis. Esse processo pode ser realizado com diversos materiais, cujo custo varia dependendo da matéria-prima utilizada. O uso de resíduos industriais ou microrganismos com capacidade de adsorção pode tornar-se uma alternativa economicamente viável (Katheresan; Kansedo; Lau, 2018).

A oxidação química, que utiliza reagentes como ozônio e peróxido de hidrogênio, promove a degradação ou mineralização das moléculas de corantes, sendo um método eficiente e de rápida aplicação. Contudo, a sua implementação exige o uso de

catalisadores e ajustes constantes de pH, elevando os custos operacionais. Já a destruição eletroquímica utiliza correntes elétricas com ânodos para formar coágulos, apresentando a vantagem de não necessitar de produtos químicos. No entanto, possui baixo índice de remoção de corantes e pode gerar subprodutos tóxicos (Ramos *et al.*, 2021).

Métodos de filtração e osmose reversa utilizam membranas que garantem alta retenção de solutos, incluindo corantes. Apesar de sua eficiência, esses métodos possuem custos elevados devido à rápida saturação das membranas, requerendo limpeza frequente ou descarte adequado, podendo ser incineração ou aterro industrial. A ozonização, que emprega gás ozônio dissolvido na água, é eficaz para a descoloração de efluentes, ao quebrar as ligações químicas dos compostos presentes. Contudo, suas desvantagens incluem a formação de subprodutos tóxicos, alto custo e o curto tempo de meia-vida do ozônio, sendo de, aproximadamente, dez minutos, exigindo o uso de muito gás (Adane; Adugna; Alemayehu, 2021).

Apesar da eficácia dos métodos físico-químicos, a sua aplicação requer controle rigoroso dos reagentes e apresenta custos relativamente altos. Além disso, muitas vezes, é necessário combiná-los com tratamentos complementares para atender plenamente às regulamentações ambientais.

3.3.2 Tratamentos microbiológicos

O tratamento de efluentes têxteis pode ocorrer com a utilização de microrganismos, como bactérias, fungos e algas, sendo reconhecido como uma abordagem sustentável. Esse método baseia-se na plasticidade do metabolismo natural dos microrganismos, resultando em degradação, quebra da molécula por enzimas ou biossorção do corante que ocorre por meio de troca iônica com a parede celular microbiana devido à presença de grupos hidroxila e carboxila (Ngo; Tischler, 2022). Em comparação aos métodos físico-químicos, como adsorção e coagulação-floculação, a descoloração por microrganismos oferece vantagens significativas, como menores custos operacionais, menor geração de subprodutos e maior compatibilidade ambiental. No entanto, a sua aplicação é limitada pelo tempo do processo e pela sensibilidade dos microrganismos a condições ambientais adversas (Katheresan; Kansedo; Lau, 2018).

As algas são microrganismos autotróficos fotossintéticos distribuídos no planeta, reconhecidos por desempenharem papéis ecológicos, como a realização da fotossíntese, e biotecnológicos, na produção de cosméticos, produtos farmacêuticos, alimentos, biocombustíveis e pigmentos (Sehar *et al.*, 2022). Além disso, a biomassa de algas gerada

nesses processos pode ser reaproveitada em aplicações como fertilizantes ou fonte de bioenergia, agregando valor econômico e promovendo a economia circular (Adane; Adugna; Alemayehu, 2021).

Estudos destacam o uso de algas para descoloração e redução de toxicidade em corantes utilizados na indústria têxtil. *Anabaena flosaquae* UTCC64 apresentou uma descoloração de 71,92% para o corante Indigo (200 mg/L), enquanto *Phormidium autumnale* UTEX1580 alcançou 91,22%. Contudo, os microrganismos apresentaram descoloração de efluentes industriais (Dellamatrice *et al.*, 2017). González; Abalde e Torres (2024) observaram a descoloração do corante *Brilliant Green* (200 mg/L) pela diatomácea *Phaeodactylum tricorutum*, com 96,3% de descoloração. Essas espécies utilizam processos como biossorção e reações enzimáticas para remover corantes conforme apresentado na Tabela 2.

A descoloração de corantes por bactérias possui destaque devido às vantagens biotecnológicas desses microrganismos. As bactérias apresentam rápido crescimento, são de fácil manejo e possuem uma ampla gama de enzimas, como azoredutases, capazes de clivar a ligação azo (-N=N-) nos corantes, resultando em compostos mais simples. Contudo, apresentam limitações na mineralização completa de corantes azo, ao gerarem aminas aromáticas como subprodutos, podendo ser mais tóxico do que o corante original. (Ngo; Tischler, 2022; Sehar *et al.*, 2022).

Na Tabela 2, estão representados alguns estudos recentes que destacam a eficácia de diferentes cepas bacterianas na descoloração de corantes azo. Carolin, Kumar e Joshiba (2021) relataram a utilização da bactéria *Micrococcus yunnanensis* para a descoloração do corante Laranja de metila, alcançando 86% de descoloração sob condições otimizadas de pH 7, temperatura de 30°C por 120h. El-Badan *et al.* (2020) investigaram a descoloração do corante *Remazol Brilliant Blue*, utilizando *Escherichia coli* NG188, que apresentou 59% de remoção em 3 dias, com condições otimizadas de pH 8 e temperatura de 40°C. A descoloração foi atribuída à adaptação da bactéria a condições estáticas. Por fim, Ewida; El-Sesy e Abou Zeid (2019) demonstraram a degradação completa do corante *Acid Red 337* (500 mg/L) por *Bacillus megaterium* KY848339.1, atingindo 91% de remoção em 24 horas. Esses resultados demonstram o potencial das bactérias no tratamento de efluentes.

A descoloração de corantes por fungos pode ser dividida em dois grupos principais: fungos filamentosos e leveduras. Diferentemente das bactérias, os fungos tendem a realizar uma descoloração mais completa, com a degradação de compostos complexos, refletindo seu papel ecológico de reciclagem de nutrientes. Essa capacidade está relacionada ao extenso aparato enzimático dos fungos, composto principalmente por enzimas voltadas à

degradação de polímeros como lignina e celulose. As leveduras, embora menos estudadas em comparação aos fungos filamentosos, apresentam um mecanismo de descoloração frequentemente associado à biossorção do corante em sua parede celular, porém, elas também realizam biodegradação. Seu destaque reside no crescimento e na produção significativa de biomassa (Ajaz; Shakeel; Rehman, 2020; Ngo; Tischler, 2022).

A levedura halotolerante *Cyberlindnera samutprakarnensis* foi capaz de descolorir mais de 97% do corante azo Acid Red B (ARB) em apenas 18 horas, empregando enzimas como azoredutase e lignina peroxidase para clivar as ligações azo e degradar subprodutos tóxicos em condições de alta salinidade (Song *et al.*, 2018). Similarmente, Al-Tohamy e colaboradores (2020) investigaram a espécie *Sterigmatomyces halophilus* SSA-1575 que demonstrou 98% de descoloração do corante Reactive Black 5 (RB5) em 24 horas, como é possível observar na Tabela 2. Além disso, essas leveduras também realizam detoxificação de subprodutos gerados durante a descoloração, reduzindo significativamente a toxicidade dos efluentes tratados. Essas características tornam as leveduras opções viáveis e sustentáveis para aplicação em tratamentos biológicos.

Tabela 2. Microrganismos utilizados na descoloração de azo corantes em diferentes estudos

Microrganismo	Corante - Concentração	Descoloração	Tempo	Referência
Algas				
<i>Anabaena flos-aquae</i> UTCC64	Índigo 200 mg/L	72%	14 dias	Dellamatrice <i>et al.</i> (2017)
<i>Phormidium autumnale</i> UTEX1580	Índigo 200 mg/L	91%	14 dias	Dellamatrice <i>et al.</i> (2017)
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	Brilliant Green 200 mg/L	96%	7 h	González <i>et al.</i> (2024)
Bactérias				
<i>Micrococcus yunnanensis</i>	Laranja de metila 100 mg/L	86%	120 h	Carolin <i>et al.</i> (2021)
<i>Escherichia coli</i> NG188	Remazol Brilliant Blue 50 mg/L	59%	72 h	El-Badan <i>et al.</i> (2020)
<i>Bacillus megaterium</i> KY848339	Acid red 337 500 mg/L	91%	24 h	Ewida <i>et al.</i> (2019)

<i>Bacillus firmus</i>	Novacron red 100 mg/L	89%	48 h	Guembri <i>et al.</i> (2021)
<i>Streptomyces</i> sp. DJP15	Azo Blue Dye 50 mg/L	76%	48 h	Pillai. (2017)
Leveduras				
<i>Cyberlindnera samutprakarnensis</i>	Acid Red B 50 mg/L	97%	18 h	Song <i>et al.</i> (2018)
<i>Sterigmatomyces halophilus SSA-1575</i>	Reactive Black 5 200 mg/L	98%	24 h	Al-Tohamy <i>et al.</i> (2020)
<i>Diutina rugosa</i>	Índigo 10 mg/L	99%	5 dias	Bankole <i>et al.</i> (2017)

3.4 FUNGOS FILAMENTOSOS NA BIORREMEDIAÇÃO

Os fungos filamentosos são organismos onipresentes no planeta, encontrados em diversos habitats, como solos, aterros sanitários e águas doces, além de ambientes extremos com pH ácido, alta salinidade e poluição. Essa versatilidade é atribuída à capacidade dos microrganismos se adaptarem rapidamente a diferentes fontes de carbono e nitrogênio, essenciais para sua sobrevivência e crescimento. A presença de fungos filamentosos também é um indicador da saúde ambiental de um local (Sen *et al.*, 2016). O reino *Fungi* possui diversos filos, sendo os *Ascomycota* e *Basidiomycota*, que formam o sub-reino *Dikarya*, os mais estudados para biorremediação de compostos, conforme demonstrado na Tabela 3 (Spatafora *et al.*, 2017).

A aplicação de fungos filamentosos no tratamento de efluentes, especialmente na descoloração de corantes têxteis, é uma alternativa atrativa devido ao baixo custo e à possibilidade de mineralização total dos poluentes. Esses microrganismos produzem uma variedade de enzimas intracelulares e extracelulares, facilitadas por sua nutrição saprofítica e extracelular, o que permite a degradação de xenobióticos, incluindo corantes azo (Ngo & Tischler, 2022). Gugel *et al.* (2024) evidenciaram a biodegradação dos corantes Orange II e Red 8BLP (20 mg/L) em 24 horas por *Bjerkandera adusta* (DSM 23426). A biodegradação foi confirmada por ensaios que demonstraram a presença e a atividade de enzimas lignolíticas. De forma semelhante, Bernal e colaboradores (2021) relataram a capacidade de descoloração do isolado *Aspergillus sydowii* ITF 27, proveniente de efluente têxtil, que removeu 75% do corante Remazol Brilliant Blue R (500 mg/L) em 120 horas. O estudo também constatou a presença das

enzimas lacase, celulase, amilase e lipase, sugerindo que a descoloração pode estar relacionada à biodegradação do corante.

Além da biodegradação, o mecanismo de bioissorção também é observado em fungos, sendo realizado por interações químicas e físicas entre as paredes celulares dos microrganismos e os corantes (Sen *et al.*, 2016). De Araújo *et al.* (2020) constataram a bioissorção do corante Reactive Blue 268 por *Trametes* sp., com uma descoloração de 94% em 48 horas de incubação. De forma similar, *Penicillium janthinellum* LM5 foi capaz de descolorir 99% do Vermelho Congo (150 mg/L) em 48 horas e 98% do Eriochrome Black T na mesma concentração e período, utilizando a bioissorção como principal mecanismo de remoção (Yan *et al.*, 2023).

Parshetti *et al.* (2007) também descreveram a descoloração de corante azul reativo por *Aspergillus ochraceus* em apenas 7 horas, por meio de bioissorção. A utilização de fungos filamentosos em bioprocessos para o tratamento de efluentes apresenta vantagens significativas em relação aos métodos físico-químicos tradicionais. Além de serem menos onerosos e ambientalmente amigáveis, os fungos produzem menor volume de lodo e evitam a geração de subprodutos tóxicos (Ngo & Tischler, 2022).

Tabela 3. Fungos filamentosos utilizados na descoloração de corantes têxteis em diferentes estudos.

Microrganismo	Corante - Concentração	Percentual de Descoloração	Tempo de descoloração	Referência
Ascomycota				
<i>Aspergillus sydowii</i> ITF 27	Remazol Brilliant Blue R 500 mg/L	75%	120 h	Bernal <i>et al.</i> (2021)
<i>Penicillium ochrochloron</i> AMDB-12	Reactive Blue 13 50 mg/L	55%	120 min	Aytar <i>et al.</i> (2016)
<i>Penicillium ochrochloron</i> AMDB-12	Reactive Blue 72 50 mg/L	61%	120 min	Aytar <i>et al.</i> (2016)
<i>Penicillium crustosum</i>	Azul de Metileno 100 mg/L	93%	10 dias	Mian <i>et al.</i> (2024)
<i>Aspergillus iranicus</i>	Verde Malaquita 100 mg/L	80%	10 dias	Mian <i>et al.</i> (2024)
<i>Aspergillus terreus</i>	Verde Malaquita 100 mg/L	90%	10 dias	Mian <i>et al.</i> (2024)

<i>Aspergillus niger</i> (inativado)	Direct Blue 199 400 mg/L	2,25% (29,96 mg/g)	4 h	Xiong <i>et al.</i> (2010)
<i>Penicillium janthinellum</i> LM5	Vermelho Congo 150 mg/L	99%	48 h	Yan <i>et al.</i> (2023)
<i>Penicillium janthinellum</i> LM5	Eriochrome Black T 150 mg/L	98%	48 h	Yan <i>et al.</i> (2023)
Basidiomycota				
<i>Trametes</i> sp. M3	Reactive Blue 268 / 100 mg/L	94%	48 horas	De Araújo <i>et al.</i> (2020)
<i>Bjerkandera adusta</i> DSM 23426	Orange II / 20 mg/L	81%	24 horas	Gugel <i>et al.</i> (2024)
<i>Bjerkandera adusta</i> DSM 23426	Red 8BLP / 20 mg/L	87%	24 horas	Gugel <i>et al.</i> (2024)
<i>Bjerkandera adusta</i> DSM 23426	Direct Black 80 / 20 mg/L	95%	48 horas	Gugel <i>et al.</i> (2024)
<i>Phanerochaete</i> <i>chrysosporium</i> DSM 1547	Direct Black 80 / 20 mg/L	100%	120 horas	Gugel <i>et al.</i> (2024)
<i>Trametes versicolor</i> DSM 3026	Orange II / 20 mg/L	95%	7 dias	Gugel <i>et al.</i> (2024)
<i>Perreniporia tephropora</i> MUCL 47500	Reactive Blue 4 / 300 mg/L	86%	15 dias	Steeve <i>et al.</i> (2014)
<i>Perreniporia tephropora</i> MUCL 47500	Methyl Orange / 300 mg/L	71%	15 dias	Steeve <i>et al.</i> (2014)

3.5 IMOBILIZAÇÃO CELULAR

A imobilização celular é uma técnica utilizada, geralmente, para confinar fisicamente microrganismos ou suas enzimas em uma matriz, ou suporte, preservando sua atividade biológica em condições controladas. Essa abordagem oferece vantagens em relação à aplicação de células livres, por proporcionar estabilidade operacional, reutilização dos microrganismos e resistência a estresses ambientais. Os microrganismos imobilizados são aplicados em áreas como a produção de biocombustíveis, fármacos, tratamento de efluentes e descoloração de corantes industriais (Covizzi *et al.*, 2007).

Os métodos de imobilização podem ser classificados entre naturais, que usam de biofilmes e adesão microbiana no suporte de forma natural, e artificial que inclui encapsulação em matrizes como alginato de cálcio ou adesão com uso de agentes ligantes. A adsorção consiste na adesão das células à superfície de um suporte por interações físico-químicas, enquanto o encapsulamento envolve as células em uma matriz semipermeável (Saeed; Iqbal, 2013). Cada método apresenta vantagens e limitações, sendo escolhido conforme o tipo de aplicação desejada e as características do sistema.

A escolha dos suportes utilizados na imobilização é uma etapa importante para garantir a funcionalidade do sistema. Para aplicações no tratamento de águas residuais, é essencial que os suportes apresentem propriedades como insolubilidade, atoxicidade, estabilidade, além de alta retenção de biomassa microbiana e custo reduzido (Leenen *et al.*, 1996). Os suportes mais utilizados incluem matrizes naturais, como alginato, carragenina e agarose, e sintéticas, como espuma de poliuretano e poliacrilamida, que apresentam viabilidade comprovada em diversos sistemas (Saratele *et al.*, 2011; Carvajal *et al.*, 2012).

Entre os materiais naturais, a esponja vegetal (*L. cylindrica*) tem se destacado como uma opção sustentável. A sua estrutura porosa permite alta retenção de biomassa. Estudos mostram que sistemas baseados em esponjas vegetais são utilizados com sucesso na remoção de poluentes recalcitrantes, incluindo corantes têxteis, além de serem ambientalmente amigáveis e economicamente viáveis (Saeed; Iqbal, 2013).

Em experimentos realizados por Wielewski e colaboradores (2020), fungos filamentosos imobilizados em esponja vegetal demonstraram descoloração do corante Reactive Black 5 (50 mg/L), com descoloração de 90% em menos de 48 horas. Outro estudo de Przystaś; Zabłocka-Godlewska e Grabińska-Sota (2018) indicou que a *L. cylindrica* proporcionou crescimento de microrganismos e capacidade de remoção de corantes azo em comparação a outros suportes testados, como espuma de poliuretano e serragem. Esses resultados reforçam a versatilidade e capacidade da esponja vegetal como um suporte promissor em aplicações de descoloração.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ISOLADOS FÚNGICOS E CORANTE TÊXTIL

No presente estudo, foram empregados dois fungos filamentosos, sendo um ascomiceto pertencente ao gênero *Penicillium* sp. linhagem F11 (Silva, 2023) e um

basidiomiceto denominado B20, ambos obtidos de biomassa celulósica advinda de fragmentos de mata atlântica da região de Londrina-Paraná (Silva, 2022). Esses estão armazenados no Laboratório de Fisiologia e Biologia Molecular de Fungos, da Universidade Estadual de Londrina.

Além disso, foi utilizado o corante têxtil Azul Reativo BF-5G (AZ-BF-5G) fornecido pela Texpal®, Valinhos – SP. O comprimento de onda característico do corante ocorre em 599 nm. As soluções de estoque do corante foram preparadas com água ultrapura na concentração de 1000 g/L e esterilizados por filtração (0,22 µm, Millipore®). A concentração empregada nos ensaios de descoloração foi de 50 mg/L; 250 mg/L; 500 mg/L; 1000 mg/L e 2500 mg/L.

4.2 AVALIAÇÃO DE DESCOLORAÇÃO

Para avaliação da capacidade de descoloração do isolado *Penicillium* sp., inicialmente, foi realizado seu cultivo em meio YPD (Extrato de levedura 1%; Peptona 2%; Dextrose 2%; Ágar 2%) solidificado a 28°C por 5 dias. Após o crescimento, foi feita uma suspensão de esporos do *Penicillium* sp. para contagem das células em câmara Neubauer, com ajuste de $1,0 \times 10^7$ de esporos em 100 ml do meio *Sabouraud* (Peptona 1%; Dextrose 4%; Extrato de levedura 2,5%). Já para o isolado B20, foram adicionados 5 discos de micélio, advindos de crescimento em meio YPD solidificado por 7 dias, em 100 ml de meio *Sabouraud* para obtenção de biomassa fúngica não imobilizada. Os frascos foram incubados por até 120 horas a 180 RPM, 28 °C.

Após o cultivo, a biomassa fúngica foi removida e submetida ao processo de centrifugação a 10.000 RPM por 10 minutos, sendo, posteriormente, lavada com água destilada estéril para eliminação de quaisquer resíduos provenientes do meio de cultivo. Em sequência, foi pesado 1 g do micélio úmido e adicionado a 3 ml de solução água/corante (50 mg/L; 250 mg/L; 500 mg/L; 1000 mg/L e 2500 mg/L) e incubado em diferentes tempos (15 min – 120 h).

As amostras retiradas foram centrifugadas (10.000 RPM por 10 minutos) para obtenção da solução descolorida livre de células e determinação da porcentagem de descoloração, realizada por leitura espectrofotométrica no comprimento de onda 600 nm em espectrofotômetro BioTek modelo EL808. A porcentagem de descoloração foi dada por meio da seguinte fórmula:

$$\%DES = \frac{(ABS\ inicial - ABS\ final) \times 100}{ABS\ Inicial}$$

Onde: %DES representa a porcentagem de descoloração, ABS Inicial representa o valor da absorbância da solução controle água/corante e ABS Final representa o valor da absorbância após cultivo com a massa micelial úmida (Bernal *et al.*, 2021). Os resultados foram apresentados como a porcentagem média de descoloração e desvio padrão (\pm) de três repetições independentes.

4.3 ENSAIO DE IMOBILIZAÇÃO

A esponja vegetal (*L. cylindrica*) foi utilizada como suporte de imobilização para os isolados fúngicos *Penicillium* sp. e B20. Inicialmente, três fragmentos de esponja vegetal (2 cm²), umedecidos e sem inóculo, foram pesados, apresentando uma massa média de 0,6 g. Esse valor foi descontado nas pesagens subsequentes das esponjas com biomassa fúngica imobilizada, com o objetivo de determinar a quantidade total de biomassa fúngica aderida ao suporte. Ensaio prévios indicaram que a esponja vegetal, na ausência de microrganismos, não apresenta capacidade de adsorção do corante utilizado.

A metodologia para preparação da esponja vegetal foi adaptada de Iqbal e colaboradores (2005). Os fragmentos de esponja foram fervidos em água de torneira por 30 minutos, lavados três vezes com água destilada e secos em estufa a 60 °C por 24 horas. Após a secagem, três fragmentos foram transferidos para frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 200 mL de meio *Sabouraud* em caldo. Em seguida, os frascos foram autoclavados a 121°C por 15 minutos para esterilização. Para o isolado *Penicillium* sp., suspensões de $1,0 \times 10^5$ esporos/mL foram inoculados nos frascos e incubadas por 72 horas a 28 °C sob agitação de 90 RPM, permitindo a imobilização da biomassa fúngica na esponja vegetal.

Para o basidiomiceto B20, cinco discos de micélio foram retirados de uma cultura previamente crescida em meio YPD solidificado por 7 dias. Esses discos foram inoculados em frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 200 mL de meio *Sabouraud* em caldo e três fragmentos de esponja vegetal estéreis. Os frascos foram incubados por 7 dias a 28 °C sob agitação de 90 RPM. Durante esse período, o crescimento fúngico aderiu à superfície da esponja vegetal, promovendo a imobilização do micélio.

Após a imobilização, as esponjas contendo biomassa fúngica foram submetidas a ensaios de descoloração. Para isso, foram utilizados 15 mL de solução corante em concentrações variadas, conforme descrito nos capítulos I e II.

4.4 AVALIAÇÃO DE UV-VIS E FT-IR

Para a avaliação dos sobrenadantes livres de células após o processo de descoloração, as amostras foram analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-2600), com varredura espectral nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm, conforme metodologia descrita por Eichlerová *et al.* (2007). Em seguida, foi realizada a análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, Shimadzu, modelo IR Prestige-21). Para essa análise, as amostras foram preparadas na forma de pastilhas de Brometo de Potássio (KBr), e os espectros foram obtidos na região do infravermelho médio ($400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$).

4.5 DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTE SIMULADO

O efluente simulado foi preparado em laboratório com uma composição adaptada de Yadav, Mukherji e Garg (2013). Para o preparo de 500 mL de efluente simulado, foram utilizados os seguintes componentes: 0,25 g de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), 0,32 g de sacarose, 0,6 g de Hidróxido de Sódio (NaOH), 0,2 g de Polietilenoglicol (PEG), 79 μL de Ácido Acético (CH_3COOH), 0,35 g de Carbonato de Sódio (Na_2CO_3), 2,5 g de Cloreto de Sódio (NaCl), 0,15 g de Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA), 500 mL de água de torneira e o corante AZ-BF-5G na concentração de 250 mg/L. Após o preparo, o efluente simulado foi armazenado em geladeira a 4 °C para preservar as suas propriedades físico-químicas.

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados de descoloração dos corantes com micélio não imobilizado foram analisados estatisticamente por meio de Teste T não pareado ($p < 0,05$). Para os resultados de descoloração com micélio imobilizado, as análises estatísticas foram por *one-way* ANOVA ($p < 0,05$) e aplicou-se pós-teste de Tukey's. A análise estatística foi realizada no *software GraphPad Prism 8*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, A. The history of dyes and pigments: from natural dyes to high performance pigments. *In: COLOUR DESIGN*: Elsevier, p. 433–470, 2012.
- ADANE, T.; ADUGNA, A. T.; ALEMAYEHU, E. Textile Industry Effluent Treatment Techniques. **Journal of Chemistry**, v. 2021, n. 1, 2021.
- AJAZ, M.; SHAKEEL, S.; REHMAN, A. Microbial use for azo dye degradation—a strategy for dye bioremediation. **International Microbiology**, v. 23, n. 2, p. 149–159, 2020.
- AL-TOHAMY, R. *et al.* Performance of a Newly Isolated Salt-Tolerant Yeast Strain *Sterigmatomyces halophilus* SSA-1575 for Azo Dye Decolorization and Detoxification. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1163, 2020.
- ARDILA-LEAL, L. D. *et al.* A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3813, 2021.
- ARIKAN, E. B. *et al.* Investigation of immobilized filamentous fungi for treatment of real textile industry wastewater using up flow packed bed bioreactor. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, 2019.
- BERNAL, S. P. F. *et al.* Biotechnological potential of microorganisms from textile effluent: isolation, enzymatic activity and dye discoloration. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 4, 2021.
- CAROLIN, C. F.; KUMAR, P. S.; JOSHIBA, G. J. Sustainable approach to decolourize methyl orange dye from aqueous solution using novel bacterial strain and its metabolites characterization. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 23, n. 1, p. 173–181, 2021.
- CARVAJAL, L. C., *et al.* Evaluation of three immobilization supports and two nutritional conditions for reactive black 5 removal with *Trametes versicolor* in air bubble reactor. **African Journal of Biotechnology**, p. 3310-3320, 2012
- COVIZZI, L. G. *et al.* Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 28, n. 2, p. 143, 2007.
- COX, J. A.; WHITE, P. A. The mutagenic activity of select azo compounds in MutaMouse target tissues in vivo and primary hepatocytes in vitro. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 844, p. 25–34, 2019.
- DE ARAÚJO, C. A. V. *et al.* Biodiscoloration, Detoxification and Biosorption of Reactive Blue 268 by *Trametes* sp. M3: a Strategy for the Treatment of Textile Effluents. **Water, Air, & Soil Pollution**, [s. l.], v. 231, n. 7, p. 349, 2020.
- DELLAMATRICE, P. M. *et al.* Degradation of textile dyes by cyanobacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 25–31, 2017.
- DEMIERGE, S. *et al.* Removal of textile dyes from aqueous solutions by biosorption on mushroom stump wastes. **Chemistry and Ecology**, v. 31, n. 4, p. 365–378, 2015.

EL-BADAN, D. *et al.* Decolorization of Remazol Brilliant Blue Dye by *Escherichia Coli* NG188 under Optimized Conditions. **Egyptian Journal of Botany**, 2020.

EICHLEROVÁ, I. *et al.* Decolorization of Orange G and Remazol Brilliant Blue R by the white rot fungus *Dichomitus squalens*: Toxicological evaluation and morphological study. **Chemosphere**, v. 69, n. 5, p. 795-802, 2007.

EWIDA, A. Y. I.; EL-SESY, M. E.; ABOU ZEID, A. Complete degradation of azo dye acid red 337 by *Bacillus megaterium* KY848339.1 isolated from textile wastewater. **Water Science**, v. 33, n. 1, p. 154–161, 2019.

GONZÁLEZ, V.; ABALDE, J.; TORRES, E. Discoloration and biosorption of Brilliant green dye in seawater using living biomass of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. **Journal of Applied Phycology**, v. 36, n. 4, p. 1823–1835, 2024.

GUEMBRI, M. *et al.* Decolorization of textile azo dye Novacron Red using bacterial monoculture and consortium: Response surface methodology optimization. **Water Environment Research**, v. 93, n. 8, p. 1346–1360, 2021.

GUGEL, I. *et al.* Mycoremediation of Synthetic Azo Dyes by White-Rot Fungi Grown on Dairy Waste: A Step toward Sustainable and Circular Bioeconomy. **Fermentation**, v. 10, n. 2, p. 80, 2024.

IQBAL, M. *et al.* Production of Fungal Biomass Immobilized Loofa Sponge (FBILS)-discs for the Removal of Heavy Metal Ions and Chlorinated Compounds from Aqueous Solution. **Biotechnology Letters**, v. 27, n. 17, p. 1319–1323, 2005.

IQBAL, M.; SAEED, A. Biosorption of reactive dye by loofa sponge-immobilized fungal biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 7, p. 1160–1164, 2007.

KATHERESAN, V.; KANSEDO, J.; LAU, S. Y. Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 4676–4697, 2018.

MIAN, A. H. *et al.* Exploring indigenous fungal isolates for efficient dye degradation: A comprehensive study on sustainable bioremediation in the total environment. **Environmental Technology & Innovation**, v. 34, p. 103615, 2024.

NGO, A. C. R.; TISCHLER, D. Microbial Degradation of Azo Dyes: Approaches and Prospects for a Hazard-Free Conversion by Microorganisms. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 8, p. 4740, 2022.

PARSHETTI, G. K. *et al.* Biodegradation of Reactive blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 18, p. 3638-3642, 2007.

PILLAI, J. Optimization of Process Conditions for Effective Degradation of Azo Blue Dye by *Streptomyces* DJP15. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 11, n. 4, p. 1757–1765, 2017.

PRZYSTAŚ, W.; ZABŁOCKA-GODLEWSKA, E.; GRABIŃSKA-SOTA, E. Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 285–295, 2018.

RAJHANS, G. *et al.* Degradation of dyes by fungi: an insight into mycoremediation. **BioTechnologia**, v. 102, n. 4, p. 445–455, 2021.

RAMOS, M. D. N. *et al.* A critical analysis of the alternative treatments applied to effluents from Brazilian textile industries. **Journal of Water Process Engineering**, v. 43, p. 102273, 2021.

ROSA, J. M. *et al.* Dyeing of cotton with reactive dyestuffs: the continuous reuse of textile wastewater effluent treated by Ultraviolet / Hydrogen peroxide homogeneous photocatalysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 90, p. 60–65, 2015.

SAEED, A.; IQBAL, M. Loofa (*Luffa cylindrica*) sponge: Review of development of the biomatrix as a tool for biotechnological applications. **Biotechnology Progress**, v. 29, n. 3, p. 573–600, 2013.

SARATALE, G. D., *et al.* Fixed-bed decolorization of Reactive Blue 172 by *Proteus vulgaris* NCIM-2027 immobilized of *Luffa cylindrica* sponge. **International Biodeterioration & Biodegradation**, p. 494-503, 2011.

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.

SEHAR, S. *et al.* Recent advances in biodecolorization and biodegradation of environmental threatening textile finishing dyes. **3 Biotech**, v. 12, n. 9, p. 186, 2022.

SEN, S. K. *et al.* Fungal decolouration and degradation of azo dyes: A review. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 3, p. 112–133, 2016.

SONG, Z. *et al.* Degradation and detoxification of azo dyes by a salt-tolerant yeast *Cyberlindnera samutprakarnensis* S4 under high-salt conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 9, p. 131, 2018.

SPATAFORA, J. W. *et al.* The Fungal Tree of Life: from Molecular Systematics to Genome-Scale Phylogenies. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 5, p. 5.5.03, 2017.

STEEVE, M. *et al.* Discoloration and biodegradation of two dyes by white-rot fungi *Perreniporia tephropora* MUCL 47500 isolated in Gabon, **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 2014.

SWARNKUMAR REDDY; OSBORNE, W. J. Heavy metal determination and aquatic toxicity evaluation of textile dyes and effluents using *Artemia salina*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, p. 101574, 2020.

TKACZYK, A.; MITROWSKA, K.; POSYNIAK, A. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. **Science of The Total Environment**, v. 717, p. 137222, 2020.

- WIELEWSKI, L. P. *et al.* Degradation of the Textile Dye Reactive Black 5 by Basidiomycetes. **Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 15, n. 1, p. 1, 2020.
- XIONG, X.-J.; MENG, X.-J.; ZHENG, T.-L. Biosorption of C.I. Direct Blue 199 from aqueous solution by nonviable *Aspergillus niger*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1–3, p. 241–246, 2010.
- YADAV, A.; MUKHERJI, S.; GARG, A. Removal of Chemical Oxygen Demand and Color from Simulated Textile Wastewater Using a Combination of Chemical/Physicochemical Processes. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 30, p. 10063–10071, 2013
- YAN, J. *et al.* Bio-decolorization of synthetic dyes by a novel endophytic fungus *Penicillium janthinellum* LM5 from blueberry pulp. **Biochemical Engineering Journal**, v. 195, p. 108909, 2023.
- YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 2, p. 1193–1226, 2019.
- ZANONI, M. V. B. Corantes Têxteis. In: ZANONI, M. V. B. **Corantes caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. Ed 1. Cultura Acadêmica, 2016.
- ZHANG, W. *et al.* Characterisation of acute toxicity, genotoxicity and oxidative stress posed by textile effluent on zebrafish. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, n. 11, p. 2019–2027, 2012.

CAPÍTULO I

Descoloração de azul reativo BF-5G por *Penicillium* sp.

RESUMO

A indústria têxtil gera efluentes contendo corantes, que são poluentes de difícil degradação que podem causar impactos ambientais significativos. O uso de fungos filamentosos tem se mostrado uma alternativa sustentável para o tratamento desses efluentes. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade do fungo *Penicillium* sp., um ascomiceto, na descoloração do corante AZ-BF-5G, empregando micélio não imobilizado e imobilizado em esponja vegetal (*L. cylindrica*). Para o micélio não imobilizado, foram testadas concentrações de corante de 250 mg/L e 2500 mg/L, com tempos de incubação de 15 minutos e 24 horas. Para o micélio imobilizado (MIEV), foram avaliadas diferentes quantidades de biomassa fúngica (0,9 g, 1,8 g e 2,7 g) e tempos de incubação de 24 a 72 horas. Além disso, o MIEV foi avaliado na descoloração de efluente têxtil simulado, contendo surfactantes e estabilizantes químicos e, também, foi avaliada a capacidade de reutilização do MIEV em ciclos de descoloração consecutivos. O micélio não imobilizado de *Penicillium* sp. descoloriu $76,99 \pm 2,28\%$ do corante na concentração de 250 mg/L em 15 minutos de incubação, enquanto em concentrações elevadas (2500 mg/L) e mesmo período de incubação, a descoloração foi de $34,70 \pm 9,87\%$. Após 24 horas, a descoloração aumentou para $80,92 \pm 5,08\%$ e $69,37 \pm 6,22\%$, respectivamente, demonstrando que o tempo de incubação influencia positivamente a eficiência do processo de descoloração. Para o micélio imobilizado, a maior porcentagem de descoloração ($87,04 \pm 2,7\%$) foi obtida com 0,9 g de biomassa após 24 horas de incubação. Na aplicação ao efluente têxtil simulado, o MIEV descoloriu $19,9 \pm 0,3\%$ em 24 horas e $27,9 \pm 2,3\%$ em 120 horas, evidenciando a influência da complexidade química do efluente no processo. A reutilização da biomassa imobilizada demonstrou capacidade de descoloração por três ciclos de reutilização consecutivos. Os resultados demonstraram que *Penicillium* sp., tanto na forma imobilizada quanto não imobilizada, apresenta potencial para a descoloração do corante AZ-BF-5G. A imobilização em esponja vegetal mostrou-se eficiente, destacando-se como uma alternativa viável para o tratamento de efluentes têxteis. A capacidade de reutilização da biomassa imobilizada reforça a sustentabilidade do sistema de descoloração. Sendo assim, este estudo contribui para o desenvolvimento de tecnologias *eco-friendly* no tratamento de efluentes industriais.

Palavras-chave: *Penicillium* sp.; Imobilização; efluente simulado; Bissorção;

ABSTRACT

The textile industry generates effluents containing dyes, which are pollutants that are difficult to degrade and can cause significant environmental impacts. The use of filamentous fungi has emerged as a sustainable alternative for the treatment of these effluents. In this context, the aim of the present study was to evaluate the ability of the fungus *Penicillium* sp., an ascomycete, to decolorize the AZ-BF-5G dye, using both non-immobilized mycelium and mycelium immobilized on vegetable sponge (*Luffa cylindrica*). For the non-immobilized mycelium, dye concentrations of 250 mg/L and 2500 mg/L were tested, with incubation times of 15 minutes and 24 hours. For the immobilized mycelium (MIEV), different amounts of fungal biomass (0.9 g, 1.8 g, and 2.7 g) and incubation times ranging from 24 to 72 hours were evaluated. The decolorization mechanism was investigated using Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) and UV-Vis spectrophotometry. Additionally, the MIEV was assessed for its ability to decolorize simulated textile effluent containing surfactants and chemical stabilizers, as well as its reusability in consecutive decolorization cycles. The non-immobilized mycelium of *Penicillium* sp. decolorized $76.99 \pm 2.28\%$ of the dye at a concentration of 250 mg/L after 15 minutes of incubation, while at higher concentrations (2500 mg/L) and the same incubation period, the decolorization was $34.70 \pm 9.87\%$. After 24 hours, the decolorization increased to $80.92 \pm 5.08\%$ and $69.37 \pm 6.22\%$, respectively, demonstrating that incubation time positively influences the efficiency of the decolorization process. For the immobilized mycelium, the highest decolorization percentage ($87.04 \pm 2.7\%$) was achieved with 0.9 g of biomass after 24 hours of incubation. Spectrophotometric and FT-IR analyses indicated that the predominant decolorization mechanism was dye biosorption. In the application to simulated textile effluent, the MIEV decolorized $19.9 \pm 0.3\%$ in 24 hours and $27.9 \pm 2.3\%$ in 120 hours, highlighting the influence of the effluent's chemical complexity on the process. The reusability of the immobilized biomass demonstrated decolorization capability over three consecutive cycles. The results showed that *Penicillium* sp., both in immobilized and non-immobilized forms, has potential for the decolorization of the AZ-BF-5G dye. Immobilization on vegetable sponge proved to be efficient, standing out as a viable alternative for the treatment of textile effluents. The reusability of the immobilized biomass reinforces the sustainability of the decolorization system. Thus, this study contributes to the development of eco-friendly technologies for the treatment of industrial effluents.

Keywords: *Penicillium* sp.; Immobilization; Simulated effluent; Biosorption.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ISOLADO FÚNGICO E CORANTE TÊXTIL

No presente estudo, foi empregado o fungo ascomiceto pertencente ao gênero *Penicillium* sp. linhagem F11, identificado por características macroscópicas e microscópicas (Silva, 2023) obtido de biomassa celulósica advinda de fragmentos de mata atlântica da região de Londrina-Paraná (Silva, 2022). Eles estão armazenados no Laboratório de Fisiologia e Biologia Molecular de Fungos, da Universidade Estadual de Londrina.

Além disso, foi utilizado o corante têxtil Azul Reativo BF-5G (AZ-BF-5G) fornecido pela Texpal®, Valinhos – SP. O comprimento de onda característico do corante ocorre em 599 nm. As soluções de estoque do corante foram preparadas com água ultrapura na concentração de 1000 g/L e esterilizados por filtração (0,22 µm, Millipore®). A concentração empregada nos ensaios de descoloração foi de 50 mg/L; 250 mg/L; 500 mg/L; 1000 mg/L e 2500 mg/L.

5.2 AVALIAÇÃO DE DESCOLORAÇÃO

Para avaliação da descoloração, o isolado *Penicillium* sp. foi cultivado em meio YPD (Extrato de levedura 1%; Peptona 2%; Dextrose 2%; Ágar 2%) solidificado a 28 °C por 7 dias. Após o crescimento, foi preparada uma suspensão de esporos de *Penicillium* sp. para contagem das células em câmara Neubauer, com ajuste de $1,0 \times 10^7$ de esporos em 100 ml do meio *Sabouraud* (Peptona 1%; Dextrose 4%; Extrato de levedura 2,5%).

Após o cultivo, a biomassa fúngica foi removida e submetida ao processo de centrifugação a 10.000 RPM por 10 minutos, sendo, posteriormente, lavada com água destilada estéril para eliminação de quaisquer resíduos provenientes do meio de cultivo. Em sequência, foi pesado 1 g do micélio úmido e adicionado a 3 ml de solução água/corante (250 mg/L e 2500 mg/L) e incubado nos tempos de 15 minutos e 24 horas.

As amostras retiradas foram centrifugadas (10.000 RPM por 10 minutos) para obtenção de sobrenadante livre de células e determinação da porcentagem de descoloração, realizada por leitura espectrofotométrica no comprimento de onda 600 nm em espectrofotômetro BioTek modelo EL808. A porcentagem de descoloração foi dada por meio da seguinte fórmula:

$$\%DES = \frac{(ABS\ inicial - ABS\ final)}{ABS\ Inicial} \times 100$$

Onde: %DES representa a porcentagem de descoloração, ABS Inicial representa o valor da absorbância da solução controle água/corante e ABS Final representa o valor da absorbância após cultivo com a massa micelial úmida (Bernal *et al.*, 2021). Os resultados foram apresentados como a porcentagem média de descoloração \pm o desvio padrão de três repetições independentes.

5.3 ENSAIO DE IMOBILIZAÇÃO

A esponja vegetal (*L. cylindrica*) foi utilizada como suporte de imobilização para o isolado fúngico *Penicillium* sp. Inicialmente, três fragmentos de esponja vegetal (2 cm²), umedecidos e sem inóculo, foram pesados, apresentando uma massa média de 0,6 g. Esse valor foi descontado nas pesagens subsequentes das esponjas com biomassa fúngica imobilizada, a fim de determinar a quantidade total de biomassa fúngica aderida ao suporte. Ensaio prévios indicaram que a esponja vegetal, na ausência de microrganismos, não apresenta capacidade de adsorção do corante utilizado.

A metodologia para preparação da esponja vegetal foi adaptada de Iqbal e colaboradores (2005). Os fragmentos de esponja foram fervidos em água de torneira por 30 minutos, lavados três vezes com água destilada e secos em estufa a 60 °C por 24 horas. Após a secagem, três fragmentos foram transferidos para frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 200 mL de meio *Sabouraud* em caldo. Em seguida, os frascos foram autoclavados a 121°C por 15 minutos para esterilização.

Posteriormente, foi preparada uma suspensão de esporos do isolado *Penicillium* sp. na concentração de $1,0 \times 10^5$ esporos/mL, a qual foi inoculada nos frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 200 mL de meio *Sabouraud* em caldo e três fragmentos de esponja estéril. Os frascos foram incubados por 72 horas a 28 °C sob agitação de 90 RPM, permitindo a imobilização da biomassa fúngica na esponja vegetal.

Após esse período, as esponjas com células imobilizadas foram submetidas a ensaios de descoloração e caracterização do processo. Para os ensaios, foi utilizado o volume fixo de 15 mL de solução corante nas concentrações de 250 mg/L, 500 mg/L e 1000 mg/L,

variando as quantidades de biomassa fúngica imobilizada (MIEV) em 0,9 g, 1,8 g e 2,7 g e avaliando os tempos de incubação de 24 h; 48 h e 72 h.

5.4 AVALIAÇÃO DE UV-VIS E FT-IR

Para a avaliação dos sobrenadantes livres de células após o processo de descoloração, as amostras foram analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-2600), com varredura espectral nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm, conforme metodologia descrita por Eichlerová *et al.* (2007). Em seguida, foi realizada a análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, Shimadzu, modelo IR Prestige-21). Para essa análise, as amostras foram preparadas na forma de pastilhas de Brometo de Potássio (KBr), e os espectros foram obtidos na região do infravermelho médio (400–4000 cm^{-1}).

5.5 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DESCOLORAÇÃO

Para a avaliação da cinética de descoloração utilizou-se o micélio imobilizado em esponja vegetal (MIEV) do fungo *Penicillium* sp. A concentração do corante AZ-BF-5G foi de 250 mg/L, utilizando um volume total de 15 mL da solução água/corante. A biomassa fúngica imobilizada foi cultivada previamente, sendo inoculada 0,9 g de MIEV úmido nas soluções em tubo falcon de 50 mL. As amostras foram incubadas em agitador orbital a 180 rpm, sob temperatura de 28 °C. As coletas de sobrenadantes foram realizadas nos tempos de 6, 12, 18 e 24 horas, com retirada de 600 μl para análise da porcentagem de descoloração como descrito anteriormente no item 5.2.

5.6 DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTE SIMULADO

O efluente simulado foi preparado em laboratório com uma composição adaptada de Yadav, Mukherji e Garg (2013). Para o preparo de 500 mL de efluente simulado, foram utilizados os seguintes componentes: 0,25 g de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), 0,32 g de sacarose, 0,6 g de Hidróxido de Sódio (NaOH), 0,2 g de Polietilenoglicol (PEG), 79 μL de Ácido Acético (CH_3COOH), 0,35 g de Carbonato de Sódio (Na_2CO_3), 2,5 g de Cloreto de Sódio (NaCl), 0,15 g de Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA), 500 mL de água de torneira e

o corante AZ-BF-5G na concentração de 250 mg/L. Após o preparo, o efluente simulado foi armazenado em geladeira a 4 °C para preservar suas propriedades físico-químicas.

5.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados de descoloração dos corantes com micélio não imobilizado foram analisados estatisticamente por meio de Teste T não pareado ($p < 0,05$). Para os resultados de descoloração com micélio imobilizado, as análises estatísticas foram por *one-way* ANOVA ($p < 0,05$) e aplicou-se pós-teste de Tukey's. A análise estatística foi realizada no *software GraphPad Prism 8*.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 AVALIAÇÃO DE DESCOLORAÇÃO POR BIOMASSA DE *PENICILLIUM* SP. NÃO IMOBILIZADO

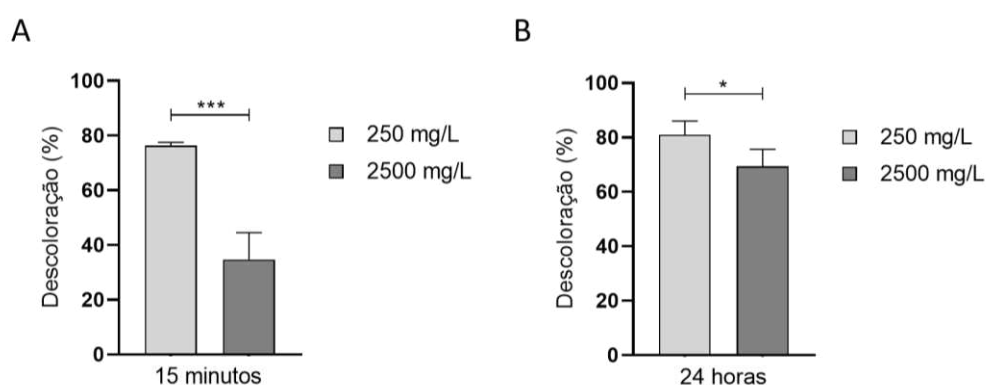
A biomassa do isolado *Penicillium* sp. linhagem F11 promoveu a descoloração do corante AZ-BF-5G em todas as condições testadas. Em 15 minutos de contato com a biomassa micelial não imobilizada, observou-se $76,99 \pm 2,28\%$ e $34,70 \pm 9,87\%$ de descoloração ($p < 0,0002$), nas soluções com um volume total de 3 mL contendo 250 mg/L e 2500 mg/L do corante AZ-BF-5G respectivamente, conforme observado na Figura 1A. Este curto tempo de resposta se destaca em relação à literatura, a maioria dos estudos relata períodos mais longos para a descoloração por espécies do gênero *Penicillium*. Ayatar e colaboradores (2016) relataram descoloração em 120 minutos utilizando *Penicillium ochrochloron*. De forma semelhante, outra pesquisa também apresentou o tempo de 120 minutos, utilizando *Penicillium simplicissimum* (Chen et al., 2019). Resultados estes que corroboram com a utilização de fungos do gênero *Penicillium* sp. na aplicação de descoloração em tempos curtos.

Após 24 horas de incubação com a biomassa fúngica não imobilizada, foi observado que o percentual de descoloração aumentou para $80,92 \pm 5,08\%$ na presença de 250 mg/L de corante e $69,37 \pm 6,22\%$ na presença de 2500 mg/L conforme observado na Figura 1B ($p < 0,0332$). Respostas semelhantes foram observadas em *Penicillium janthinellum* LM5 que descoloriu 90% do corante Congo Red na faixa de concentração de 50 a 500 mg/L em 48 horas, enquanto em concentrações mais elevadas, como 1000 mg/L, a porcentagem de descoloração foi reduzida para 50% (Yan et al., 2023). A descoloração observada em 250 mg/L é compatível com valores já descritos para espécies do gênero *Penicillium* em concentrações similares. No

entanto, a descoloração obtida em 2500 mg/L demonstra um melhor desempenho, uma vez que se trata de uma concentração superior àquelas comumente utilizadas em estudos anteriores.

Os resultados obtidos evidenciam que a biomassa fúngica não imobilizada de *Penicillium* sp. foi capaz de promover descoloração em soluções contendo 250 mg/L de corante em 15 minutos e 24 horas de incubação. Ao aumentar a concentração do corante para 2500 mg/L, a biomassa fúngica demonstrou descoloração após 24 horas de incubação. Portanto, embora a descoloração inicial seja favorecida por concentrações menores, o aumento do tempo de incubação permite que concentrações maiores de corante também alcancem uma descoloração eficaz.

Figura 1. Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G nas concentrações de 250 mg/L e 2500 mg/L por *Penicillium* sp. não imobilizado em (A) 15 minutos de incubação e (B) 24 horas de incubação. * ($p < 0,0332$); *** ($p < 0,0002$).



6.2 IMOBILIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DE *PENICILLIUM* SP.

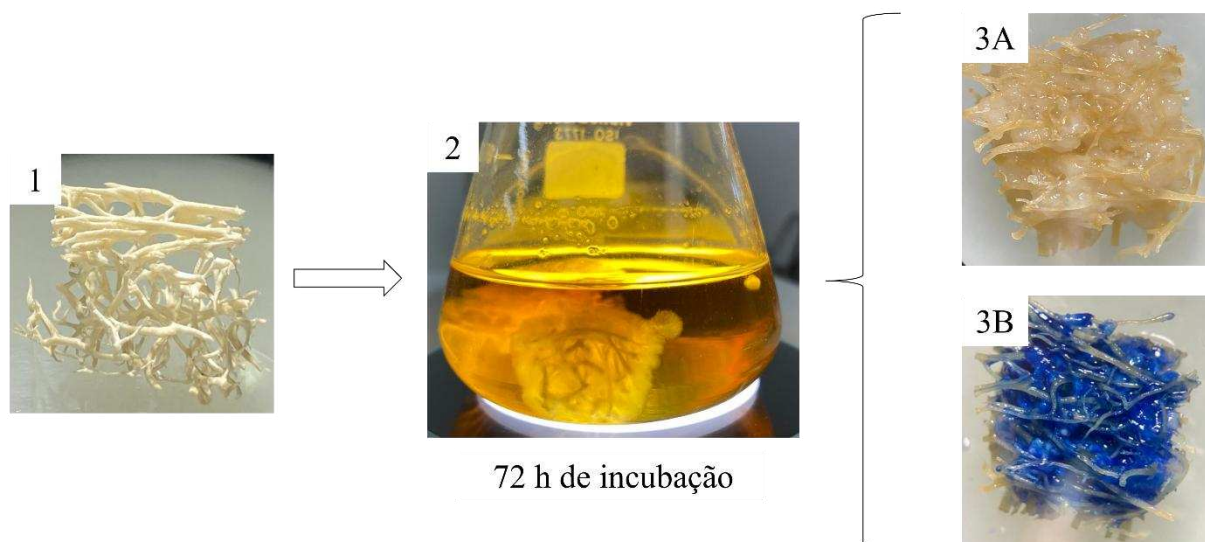
A imobilização de fungos em suportes sólidos é uma alternativa para a proteção contra estresses ambientais que podem limitar as aplicações biotecnológicas (Przystaś; Zabłocka-Godlewska; Grabińska-Sota, 2018). A utilização da esponja vegetal (*L. cylindrica*) como suporte de imobilização fúngica tem como objetivo facilitar a manipulação, aumentar a estabilidade e a área de superfície/contato, além de ser uma alternativa sustentável, biodegradável, reutilizável, econômica e de fácil acesso (Iqbal; Saeed, 2007).

Visando avaliar a esponja vegetal como suporte para a imobilização da biomassa de *Penicillium* sp., foi testada a capacidade de descoloração da esponja sobre o corante AZ-BF-5G na ausência de fungo imobilizado, por um período de 72 horas. A esponja não apresentou efeito de descoloração sobre o corante (Figura 2.1). Para a imobilização do

micélio, fragmentos da esponja inoculados com *Penicillium* sp. foram monitorados diariamente (Figura 2.2). Após 72 horas de incubação, observou-se a imobilização completa do micélio na esponja vegetal (Figura 2.3A).

A Figura 2.3B exibe a biomassa fúngica imobilizada (MIEV) após o período de descoloração do corante AZ-BF-5G, evidenciando uma mudança de coloração apenas do micélio, o que indica a interação apenas entre o fungo e o corante. Essa mudança visual confirma a eficácia do sistema de imobilização. Apesar da escassez de informações na literatura sobre a utilização de esponja vegetal como suporte para a imobilização de fungos na descoloração de corantes, os resultados deste estudo demonstram que a esponja vegetal é um suporte eficaz, sustentável e de baixo custo, abrindo novas perspectivas para aplicações biotecnológicas.

Figura 2. Obtenção de biomassa fúngica imobilizada. (1) Esponja vegetal tratada não imobilizada; (2) Crescimento micelial e imobilização na esponja vegetal com 72 h de incubação; (3A) Micélio imobilizado em esponja vegetal; (3B) Micélio imobilizado tingido do corante Azul Reativo BF-5G.



No ensaio de descoloração empregando MIEV de *Penicillium* sp., foram avaliadas três diferentes quantidades de biomassa imobilizada (0,9 g; 1,8 g e 2,7 g) em diferentes períodos de incubação (24 h, 48 h e 72 h). Com 24 horas de incubação, observou-se que a menor quantidade de biomassa (0,9 g) apresentou a maior porcentagem de descoloração ($87,04 \pm 2,7\%$), seguida por 2,7 g e 1,8 g, com $86,86 \pm 1,6\%$ e $85,78 \pm 1,3\%$, respectivamente. Após 48 horas de incubação, os valores de descoloração foram equivalentes aos alcançados no tempo de 24 horas (Figura 3).

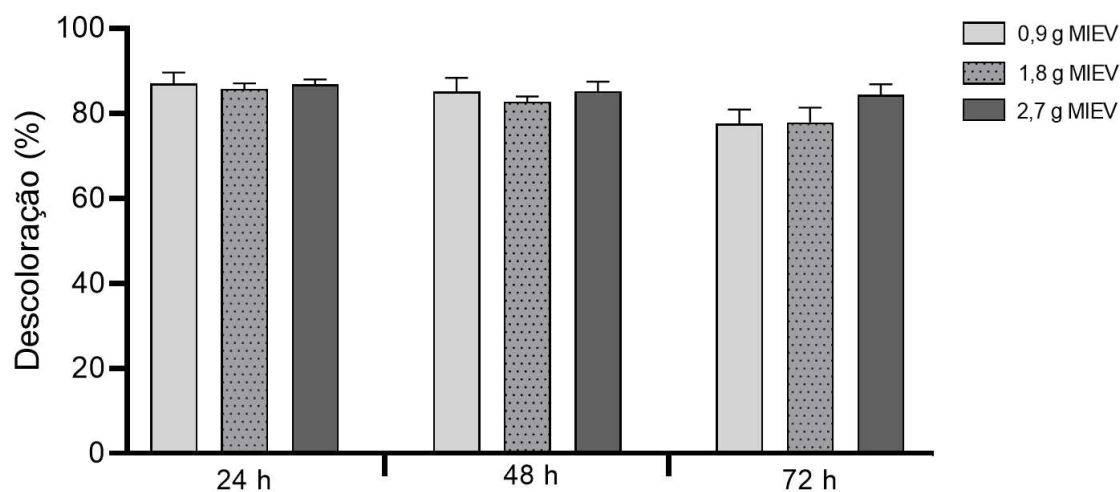
Em 72 horas de incubação, a descoloração de 0,9 g e 1,8 g de MIEV de *Penicillium* sp. foi de $77,61 \pm 2,35\%$ e $77,91 \pm 2,01\%$ respectivamente. Conforme observado na Figura 3, não houve diferença significativa entre as condições testadas. O sistema de imobilização proposto requer menos biomassa (0,9 g) e menos tempo de incubação (24 h) para alcançar resultados semelhantes da literatura. Arikan *et al.* (2019) imobilizaram *Penicillium glabrum* PG1 em suporte polimérico macroporoso (MPPS) para descolorir efluentes têxteis reais utilizando 9 peças de MPPS, foi possível alcançar 98,2% de descoloração em 72 horas de incubação.

Em relação a utilização de esponja vegetal como suporte de imobilização, Lanfranconi e colaboradores (2022) relataram a eficiência do sistema de imobilização de *Penicillium chrysogenum* em esponja vegetal, utilizando-a como suporte. Nesse sistema, foi observada elevada descoloração do corante Direct Black 22 (200 mg/L) em 96 h de incubação. No presente estudo, a utilização de um tempo de incubação menor e uma concentração de corante superior demonstrou melhor desempenho do sistema de imobilização empregando *Penicillium* sp.

Fernández *et al.*, 2009 testaram a imobilização de três fungos em esponja vegetal (*L. cylindrica*) para a descoloração de RB5 na concentração de 75 mg/L e relataram aumento na descoloração empregando células imobilizadas em relação a células não imobilizadas, obtendo descolorações de 98% com *T. versicolor*, 95% com *Pleurotus ostreatus* e 6% com *P. chrysosporium*, dialogando com os resultados do suporte escolhido no presente estudo.

Portanto, a imobilização demonstrou ser uma estratégia eficaz para a descoloração do corante. Os resultados indicaram que a descoloração entre as diferentes concentrações de biomassa foi equivalente. Diante disso, a condição de 0,9 g em 24 horas foi selecionada para as etapas subsequentes, minimizando o desperdício de biomassa e tempo de aplicação.

Figura 3. Descoloração do corante Azul reativo BF-5G empregando diferentes massas de micélio de *Penicillium* sp. imobilizado em esponja vegetal (MIEV) nos tempos de 24, 48 e 72 horas de incubação.



6.3 AVALIAÇÃO DA SOLUÇÃO DESCOLORIDA POR MICÉLIO NÃO IMOBILIZADO E IMOBILIZADO

A análise da solução descolorida, por meio de técnicas espectroscópicas, permite a identificação de mudanças químicas ocorridas durante o processo de descoloração. Na Figura 4A, o espectro de UV-Vis mostra o pico de máxima absorção em, aproximadamente, 599 nm, característico do cromóforo do corante AZ-BF-5G, tanto para o micélio não imobilizado quanto para o MIEV. Após a descoloração, observa-se uma redução na intensidade do pico em 599 nm, sem a formação de novos picos, o que sugere que o mecanismo predominante de descoloração foi a biossorção (Prigione *et al.*, 2008).

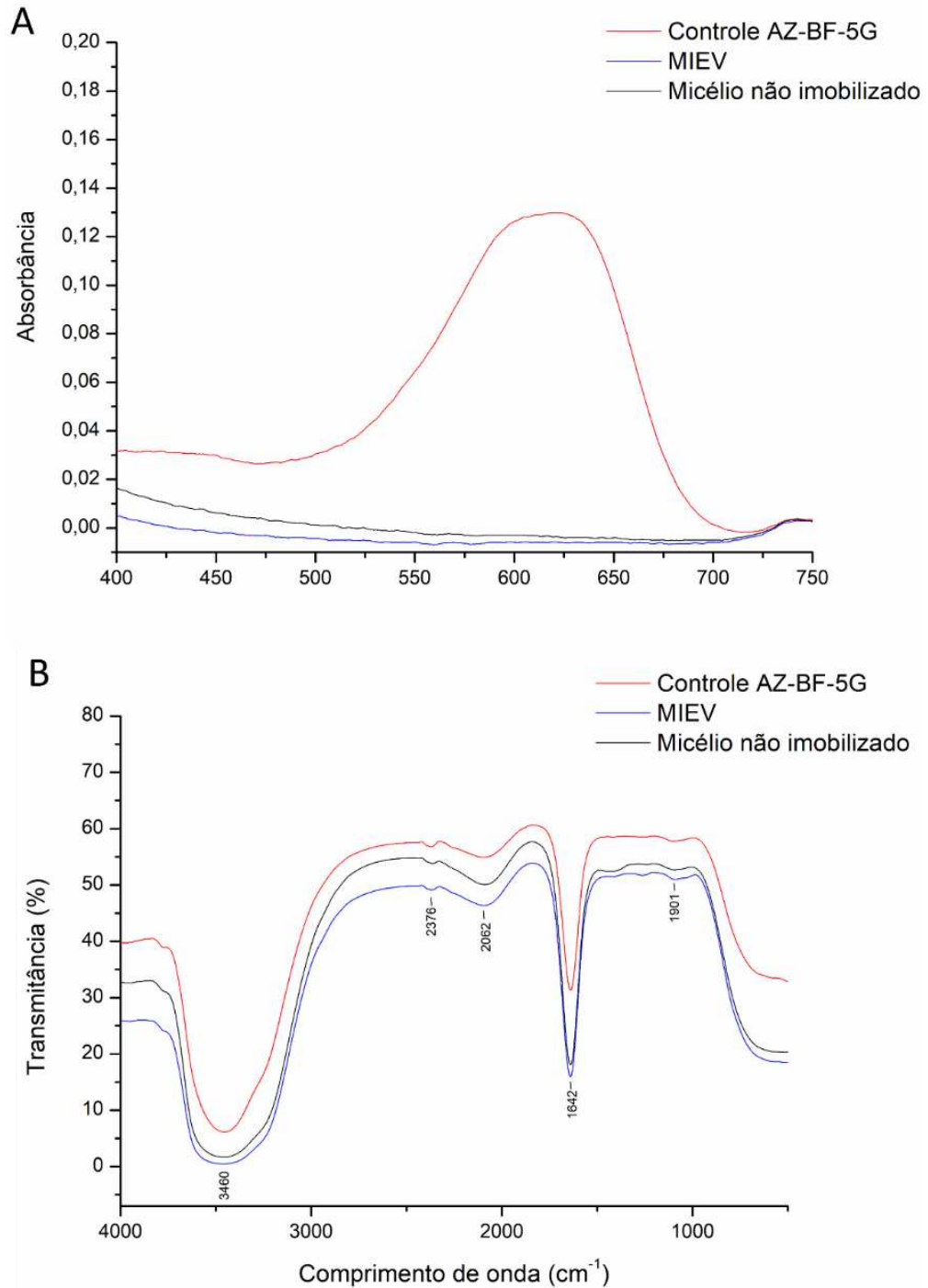
A biossorção é um processo físico-químico no qual moléculas de corante são adsorvidas na superfície celular ou na matriz extracelular do fungo, geralmente mediada por interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio ou forças de van der Waals. Esse mecanismo é frequentemente observado em fungos filamentosos, que possuem uma parede celular rica em polissacarídeos, proteínas e lipídios, capazes de interagir com moléculas de corante (Ghariani *et al.*, 2019).

Na Figura 4B, o espectro de FT-IR permite a observação das alterações nos grupos funcionais presentes no controle e nas amostras submetidas ao processo de descoloração por micélio não imobilizado e MIEV. Em todas as condições analisadas, foram identificadas bandas em 3460 cm^{-1} , associadas à vibração de estiramento do grupo hidroxila ($-\text{OH}$), e em 1642 cm^{-1} , relacionadas à vibração de carbonilas ($\text{C}=\text{O}$). Essas bandas são características de soluções aquosas, correspondendo ao diluente do corante (Fomina *et al.*, 2023). Além disso,

foram observadas bandas em 2376 cm^{-1} e 2062 cm^{-1} , sugerindo a presença de triplas ligações, típicas da região espectral entre 2500 e 2000 cm^{-1} (Pecková *et al.*, 2021).

Outro pico foi identificado na região de 1901 cm^{-1} , localizado entre 2000 e 1500 cm^{-1} , que é característico de vibrações de ligações duplas (C=C, C=O, C=N e N=O), conforme descrito por Pecková e colaboradores (2021). Após o processo de descoloração, não foram observadas alterações significativas nos picos do espectro de FT-IR, o que dialoga com os resultados obtidos no espectro de UV-Vis e reforça a hipótese de que o mecanismo de descoloração utilizado pelo *Penicillium* sp., tanto na forma imobilizada quanto não imobilizada, ocorre predominantemente por biossorção (Ghariani *et al.*, 2019).

Figura 4. Avaliação da solução descolorida pós-descoloração (24 h) do corante Azul Reativo BF-5G (250 mg/L) por biomassa fúngica não imobilizada e imobilizada de *Penicillium* sp. (A) espectrofotometria em UV-Vis e (B) espectroscopia no infravermelho. O controle consiste no corante sem a presença de micélio.

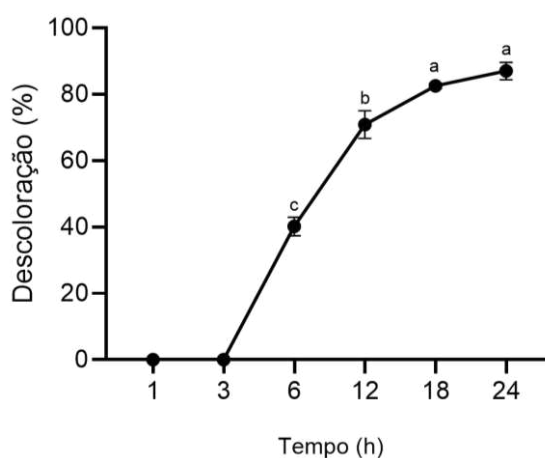


6.4 CINÉTICA DE DESCOLORAÇÃO POR MIEV

Considerando a biomassa de 0,9 g de MIEV e a concentração do corante em 250 mg/L, avaliou-se a cinética de descoloração do MIEV de *Penicillium sp.* ao longo de 24 horas. A descoloração teve início após 6 horas de incubação, atingindo $40,18 \pm 3,87\%$. Em 12 horas, o fungo atingiu $70,85 \pm 5,89\%$ de descoloração, enquanto em 18 e 24 horas foram registrados valores de $82,56 \pm 1,10\%$ e $87,04 \pm 2,7\%$, respectivamente (Figura 5), alcançando a descoloração máxima. Esses resultados indicam que o processo de descoloração ocorreu de forma contínua ao longo do tempo, com um aumento entre 12 e 24 horas.

Em comparação com estudos que empregam concentrações de corante inferiores, observações sobre a cinética de descoloração de outros fungos imobilizados exibem tempos de contato reduzidos. *Lentinus concinnus* imobilizado em hidrogéis de PVA/PEO apresentou 15% de descoloração do corante Amarelo Reativo 86 após 30 minutos de tratamento. Similarmente, *Penicillium simplicissimum* alcançou 60% de descoloração em 30 minutos com solução de corante a 50 mg/L. A descoloração de corante em uma concentração cinco vezes superior (250 mg/L) pelo MIEV de *Penicillium sp.* em 24 horas demonstra um desempenho em condições de maior carga poluente, exigindo um maior tempo de exposição para o começo da descoloração.

Figura 5. Curva de tempo de descoloração do corante Azul reativo BF-5G (250 mg/L) empregando 0,9 g de micélio imobilizado (MIEV) no período de 24 horas. Letras distintas (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de incubação ($p < 0,05$), conforme teste de Tukey.

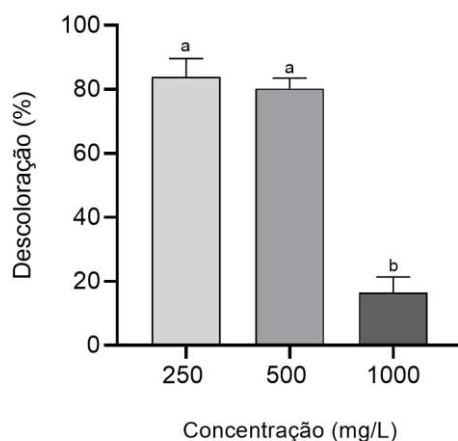


6.5 DESCOLORAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO CORANTE AZ-BF-5G POR MIEV

Os efluentes gerados pela indústria têxtil sofrem constantes variações ao longo do processo de fabricação, alterando ao longo do tempo os compostos presentes e suas concentrações. Diante disso, foi avaliada a descoloração do corante AZ-BF-5G em diferentes concentrações (250 mg/L, 500 mg/L e 1000 mg/L) após 24 horas de incubação, empregando 0,9 g de MIEV de *Penicillium* sp. (Figura 6). Na concentração de 250 mg/L, a descoloração foi de $87,04 \pm 2,7\%$, conforme descrito no tópico anterior. Ao aumentar a concentração do corante para 500 mg/L, o MIEV de *Penicillium* sp. promoveu a descoloração de $80,3 \pm 2,27\%$. Por fim, na maior concentração testada (1000 mg/L), o MIEV de *Penicillium* sp. promoveu $16,6 \pm 4,76\%$ de descoloração. Em estudos semelhantes, o fungo *Sporotrichum* sp. foi utilizado para descolorir o corante Azul Reativo 13 durante 168 horas, empregando duas concentrações diferentes: 100 mg/L e 500 mg/L, com as quais alcançaram 96% e 92% de descoloração, respectivamente (Karaca *et al.*, 2022).

No presente estudo, em menor tempo de incubação se obteve resultados comparáveis na concentração de 500 mg/L. Ao aumentar a concentração para 1000 mg/L, ocorreu uma redução na descoloração, possivelmente relacionada à saturação dos sítios de adsorção do micélio. O aumento da concentração do corante resulta em uma maior disponibilidade de moléculas, o que pode levar à rápida saturação dos sítios de ligação na parede celular do fungo. Esse fenômeno é consistente com estudos anteriores, como os de Aksu, Ertuğrul e Dönmez (2010) e Demierege *et al.* (2015), que demonstraram que a capacidade de descoloração diminui significativamente em concentrações muito elevadas de corante, a menos que o tempo de incubação ou a quantidade de biomassa sejam aumentados.

Figura 6. Porcentual de descoloração empregando 0,9 g de micélio imobilizado (MIEV) em diferentes concentrações (250 mg/L; 500 mg/L; 1000 mg/L) do corante Azul reativo BF-5G. Letras distintas (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de incubação ($p < 0,05$), conforme teste de Tukey.



6.6 REUTILIZAÇÃO DE BIOMASSA FÚNGICA IMOBILIZADA

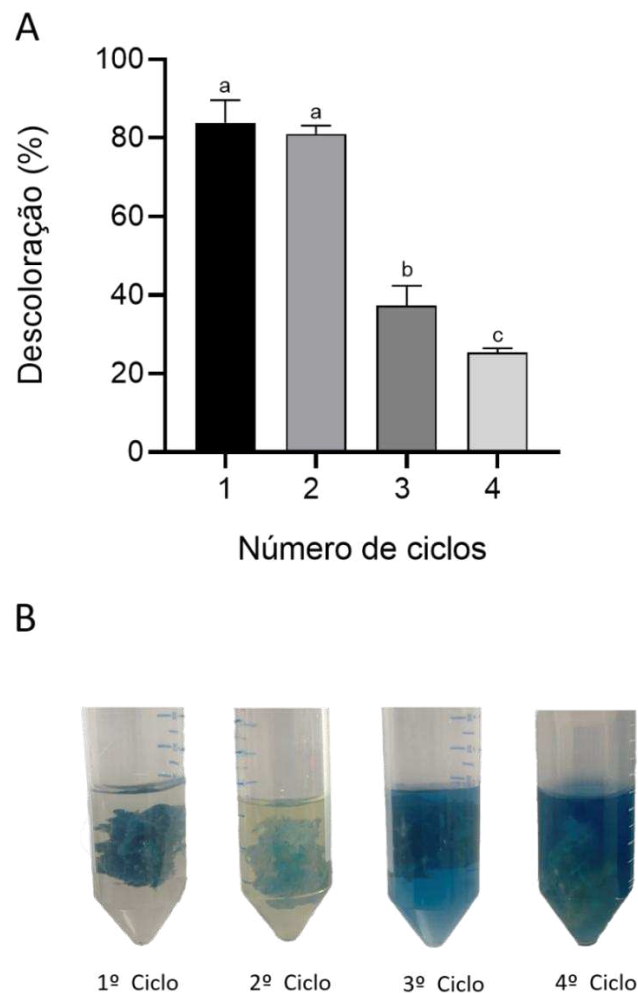
A reutilização da biomassa fúngica imobilizada em processos de descoloração é uma etapa relevante para tornar o processo mais econômico e ambientalmente sustentável, reduzindo a necessidade de descarte frequente do micélio e minimizando o uso de insumos adicionais. Neste estudo, o MIEV de *Penicillium* sp. foi reutilizado até que a descoloração atingisse valores até 25%, em ciclos de descoloração consecutivos de 24 horas.

No primeiro ciclo de descoloração, observou-se uma descoloração de $87,04 \pm 2,7\%$ (Figura 7A). No segundo ciclo, a descoloração manteve-se elevada, com $80,96 \pm 2,09\%$, demonstrando que o MIEV de *Penicillium* sp. manteve sua capacidade de descoloração mesmo após a primeira reutilização. No entanto, nos ciclos subsequentes, houve uma redução gradual, com descoloração de $27,36 \pm 4,98\%$ no terceiro ciclo e $25,48 \pm 0,2\%$ no quarto ciclo. A diminuição progressiva na capacidade de descoloração pode estar relacionada à saturação dos sítios de adsorção do micélio, conforme discutido anteriormente (Figura 7B).

Comparando com estudos anteriores, *P. chrysogenum* imobilizado em esponja vegetal foi empregado para descolorir o corante Direct Black 22 por 4 ciclos longos, (totalizando 64 dias), com descoloração em torno de 90% em todos os ciclos, no entanto, por todo o período do experimento, o meio de descoloração foi suplementado com glicose para promover o crescimento contínuo do micélio, podendo ter contribuído para a manutenção da descoloração (Lanfranconi *et al.*, 2022). Em comparação, no presente estudo, o MIEV

de *Penicillium* sp. foi capaz de manter uma descoloração superior a 80% por dois ciclos consecutivos sem a necessidade de suplementação adicional, o que promove economia de recursos. A capacidade de operar em múltiplos ciclos sem a adição constante de substratos nutricionais confere ao sistema proposto um perfil de aplicabilidade industrial mais atraente e reforça o seu potencial como alternativa sustentável para o tratamento de efluentes têxteis

Figura 7. Reutilização do micélio imobilizado (MIEV). (A) Porcentagem de descoloração do corante Azul reativo BF-5G (250 mg/L) por ciclo de reutilização. (B) Esquema ilustrativo da capacidade descoloração do corante Azul reativo BF-5G (250 mg/L) por ciclos de reutilização. Letras distintas (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de incubação ($p < 0,05$), conforme teste de Tukey.



6.7 DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTE TÊXTIL SIMULADO

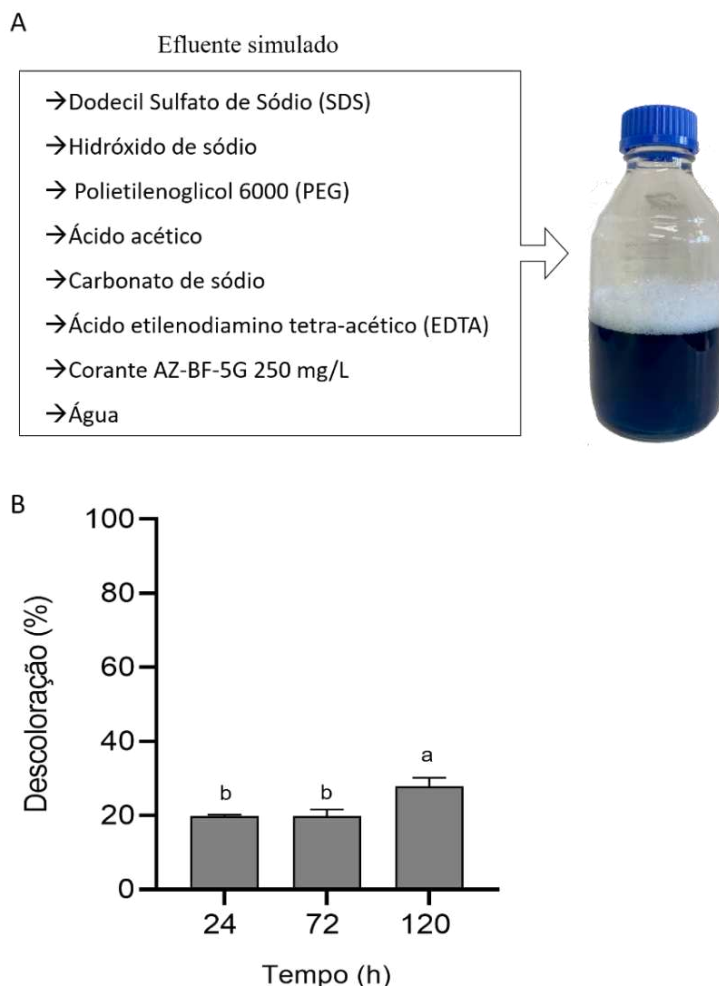
O efluente simulado utilizado neste estudo (Figura 8A) foi constituído por uma mistura de substâncias frequentemente encontradas em efluentes da indústria têxtil. Contudo, não existe um padrão único a ser seguido devido às variações que ocorrem durante o processo de fabricação, como o tipo de tecido, corante, equipamentos utilizados, época do ano, entre outros fatores. A formulação escolhida inclui, além do corante na concentração de 250 mg/L, substâncias tensoativas (Dodecil Sulfato de Sódio), compostos que auxiliam na ligação covalente do corante com o tecido, como hidróxido de sódio e carbonato de sódio, agentes estabilizadores (PEG 6000 e EDTA) e ácidos para regulação do pH, além de melhoria da solubilidade do corante durante o processo de tingimento (Yaseen; Scholz, 2019).

A inclusão desses componentes no efluente simulado reflete a complexidade química dos efluentes têxteis reais, sendo essencial para a simulação de condições realistas e a avaliação da descoloração em um ambiente controlado. A Figura 8B apresenta os resultados da descoloração do efluente simulado empregando o MIEV de *Penicillium* sp. Em 24 horas, a biomassa fúngica imobilizada descoloriu cerca de $19,9 \pm 0,3\%$ do corante AZ-BF-5G. Após 72 horas, não houve variação significativa, mantendo-se em $19,9 \pm 1,7\%$. Entretanto, no período de 120 horas, a descoloração aumentou para $27,9 \pm 2,3\%$, demonstrando que o fungo apresenta maior atividade de descoloração em períodos mais longos quando em contato com uma solução quimicamente mais complexa.

Trabalhos anteriores destacam a importância do uso de efluentes simulados na avaliação de sistemas de descoloração. Um consórcio fúngico composto por *Penicillium oxalicum*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*, foi utilizado em efluente simulado, com menos compostos químicos do que o empregado no presente estudo, contendo uma mistura de corantes azo. O consórcio alcançou descoloração em 48 horas (Saroj *et al.*, 2015). Apesar de a formulação do efluente simulado utilizado por Saroj *et al.* (2015) ser diferente, os resultados indicam como a utilização de efluentes simulados ajudam a ter uma perspectiva do comportamento dos microrganismos em efluentes reais.

Trametes sp. inativado foi utilizado como bioissorvente para tratar um efluente simulado também com menor complexidade em relação ao utilizado no presente estudo e contendo corante azo, alcançando 89,47% de descoloração (Puchana-Rosero *et al.*, 2017). Os resultados obtidos sugerem que a maior complexidade química do efluente simulado empregado no atual estudo pode ter influenciado negativamente a eficiência da descoloração. No entanto, estratégias como a utilização de consórcios microbianos (Saroj *et al.*, 2015).

Figura 8. Produção e avaliação da descoloração do efluente simulado acrescido de corante reativo têxtil azul BF-5G. (A) Reagentes utilizados na composição do efluente simulado. (B) Porcentagem de descoloração do efluente simulado por micélio imobilizado (MIEV) de *Penicillium* sp. em diferentes tempos de 24, 72 e 120 horas de incubação. Letras distintas (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de incubação ($p < 0,05$), conforme teste de Tukey.



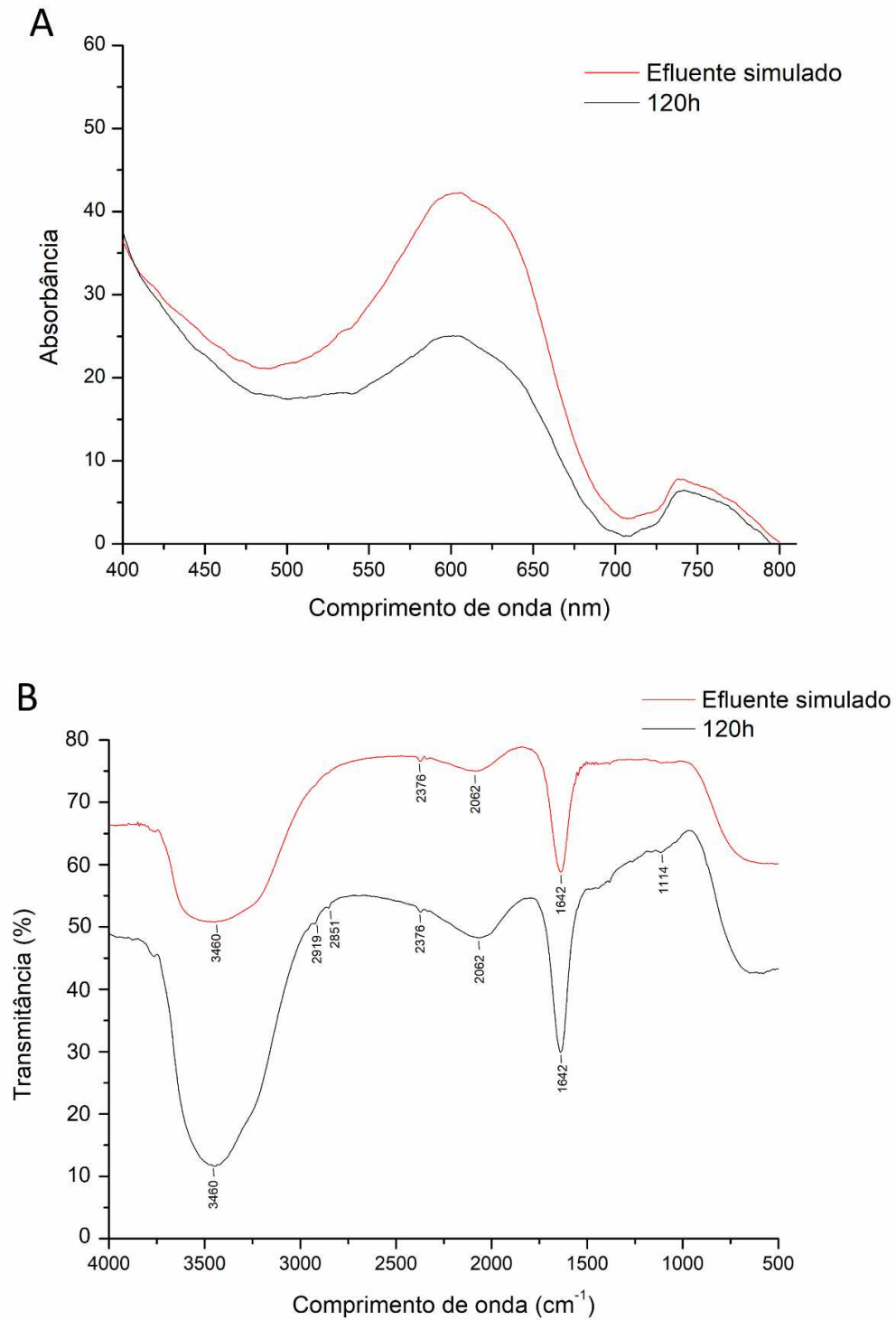
O efluente simulado e o sobrenadante após a descoloração (120 h) foram avaliados por espectrofotometria de UV-Vis e espectroscopia de FT-IR, conforme ilustrado nos gráficos da Figura 9A. O espectro de UV-Vis apresenta a formação de dois picos: o primeiro na região de 599 nm, característico do corante, e o segundo em 740 nm. Esses picos correspondem a transições eletrônicas, e as regiões específicas de absorção podem ser influenciadas por diferentes grupos químicos presentes na molécula, não se limitando apenas aos cromóforos (Passos e Saraiva, 2019). Dessa forma, o efluente simulado difere-se de uma solução aquosa contendo apenas o corante, devido à identificação de picos na região de 740

nm, que podem estar associados à presença de outros compostos químicos na composição, conforme mencionado anteriormente.

Após 120 horas de descoloração, observa-se uma diminuição na intensidade dos picos, mas não há formação de novos picos, o que dialoga com os resultados anteriores e sugere que o mecanismo predominante utilizado pelo fungo para a descoloração foi a biossorção (Prigione *et al.*, 2008). No espectro de FT-IR, apresentado na Figura 9B, foi possível identificar, no efluente tratado por 120 horas, o surgimento de novos picos em 2919 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} , associados a vibrações C-H de cadeias alifáticas, indicando a formação de novos compostos durante o processo (Webster *et al.*, 2009).

O desaparecimento ou alteração de bandas específicas, aliado ao aparecimento de novos picos, sugere que o fungo pode ter atuado também por meio de um mecanismo de biodegradação, conforme discutido anteriormente. Esse fenômeno ocorre devido à quebra das ligações químicas na estrutura do corante pelo fungo, resultando na formação de novos produtos metabólicos (Pecková *et al.*, 2021). Os dados obtidos indicam que *Penicillium* sp. combinou mecanismos de biossorção e biodegradação para a descoloração do efluente simulado.

Figura 9. Avaliação da solução descolorida após 120 h de descoloração do efluente simulado acrescido com Azul Reativo BF-5G (250 mg/L) por biomassa de *Penicillium* sp. imobilizada (MIEV). (A) Espectrofotometria UV-Vis e (B) espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier. O controle consiste no efluente simulado sem a presença de micélio.



7 CONCLUSÃO

Este capítulo teve como objetivo avaliar a capacidade do fungo *Penicillium* sp. na descoloração do corante reativo AZ-BF-5G, tanto na forma imobilizada em esponja vegetal (*L. cylindrica*) quanto não imobilizada. Os resultados demonstraram que o micélio de *Penicillium* sp. possui a capacidade de descolorir o corante reativo AZ-BF-5G. A imobilização do micélio em esponja vegetal aumentou a capacidade de descoloração e permitiu a reutilização da biomassa em múltiplos ciclos. Essa abordagem mostrou-se viável e ambientalmente sustentável, reduzindo a necessidade de descarte frequente de biomassa. A aplicação do micélio imobilizado em efluente têxtil simulado, contendo surfactantes e estabilizantes químicos, comprovou a capacidade de descoloração do sistema de imobilização, apresentando descolorações mesmo em ambientes quimicamente complexos. Dessa forma, este estudo reforça o potencial da imobilização de fungos em esponja vegetal como uma estratégia para o tratamento de efluentes têxteis, destacando-se pela sustentabilidade, pelo baixo custo e pela alta capacidade de retenção de biomassa. A reutilização da biomassa imobilizada e sua eficiência em diferentes concentrações de corante demonstra que o isolado *Penicillium* sp. pode ser uma alternativa viável para aplicações biotecnológicas na biorremediação de efluentes industriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSU, Z.; ERTUĞRUL, S.; DÖNMEZ, G. Methylene Blue biosorption by *Rhizopus arrhizus*: Effect of SDS (sodium dodecylsulfate) surfactant on biosorption properties. **Chemical Engineering Journal**, v. 158, n. 3, p. 474–481, 2010.

ARDILA-LEAL, L. D. *et al.* A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases. **Molecules**, v. 26, n. 13, 2021.

ARIKAN, E. B. *et al.* Investigation of immobilized filamentous fungi for treatment of real textile industry wastewater using up flow packed bed bioreactor. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, 2019.

AYTAR, P. *et al.* Increased removal of Reactive Blue 72 and 13 acidic textile dyes by *Penicillium ochrochloron* fungus isolated from acidic mine drainage. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 41, p. 19333–19343, 2016.

- BAYRAMOGLU, G.; YILMAZ, M. Azo Dye Removal Using Free and Immobilized Fungal Biomasses: Isotherms, Kinetics and Thermodynamic Studies. **Fibers and Polymers**, v. 19, n. 4, p. 877–886, 2018.
- BERNAL, S. P. F. *et al.* Biotechnological potential of microorganisms from textile effluent: isolation, enzymatic activity and dye discoloration. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 4, 2021.
- CHEN, S. H. *et al.* Biodegradation of Triphenylmethane Dyes by Non-white Rot Fungus *Penicillium simplicissimum*: Enzymatic and Toxicity Studies. **International Journal of Environmental Research**, v. 13, n. 2, p. 273–282, 2019.
- CHEN, S. H. *et al.* Removal of triphenylmethane dyes in single-dye and dye-metal mixtures by live and dead cells of metal-tolerant *Penicillium simplicissimum*. **Separation Science and Technology**, v. 55, n. 13, p. 2410–2420, 2020.
- DEMIEREGE, S. *et al.* Removal of textile dyes from aqueous solutions by biosorption on mushroom stump wastes. **Chemistry and Ecology**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 365–378, 2015.
- DOS SANTOS, A. Z. *et al.* Screening of filamentous fungi for the decolorization of a commercial reactive dye. **Journal of Basic Microbiology**, v. 44, n. 4, p. 288–295, 2004.
- FERNÁNDEZ, J. A. *et al.* Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5. **Rev. Colomb. Biotecnol**, 2009.
- FOMINA, P. S. *et al.* Infrared Spectroscopy in Aqueous Solutions: Capabilities and Challenges. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 1748–1765, 2023.
- GHARIANI, B. *et al.* Porous heat-treated fungal biomass: preparation, characterization and application for removal of textile dyes from aqueous solutions. **Journal of Porous Materials**, v. 26, n. 5, p. 1475–1488, 2019.
- IQBAL, M. *et al.* Production of Fungal Biomass Immobilized Loofa Sponge (FBILS)-discs for the Removal of Heavy Metal Ions and Chlorinated Compounds from Aqueous Solution. **Biotechnology Letters**, v. 27, n. 17, p. 1319–1323, 2005.
- IQBAL, M.; SAEED, A. Biosorption of reactive dye by loofa sponge-immobilized fungal biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 7, p. 1160–1164, 2007.
- KARACA, H. *et al.* Decolorization of reactive blue 13 by *Sporotrichum* sp. and cytotoxicity of biotreated dye solution. **Water Environment Research**, v. 94, n. 2, p. e1686, 2022.
- KISHOR, R. *et al.* Ecotoxicological and health concerns of persistent coloring pollutants of textile industry wastewater and treatment approaches for environmental safety. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, 2021.
- LANFRANCONI, I. *et al.* Textile dyeing wastewater treatment by *Penicillium chrysogenum*: Design of a sustainable process. **Water Science and Technology**, v. 86, n. 2, p. 292–301, 2022.

L.C. PASSOS, M.; M.F.S. SARAIVA, M. L. Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. **Measurement**, v. 135, p. 896–904, 2019.

PECKOVÁ, V. *et al.* Comparison of efficiency for monoazo dye removal by different species of white-rot fungi. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 18, n. 1, p. 21–32, 2021.

PRIGIONE, V. *et al.* Decolourisation and detoxification of textile effluents by fungal biosorption. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 2911–2920, 2008.

PRZYSTAŚ, W.; ZABŁOCKA-GODLEWSKA, E.; GRABIŃSKA-SOTA, E. Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 285–295, 2018.

PUCHANA-ROSETO, M. J. *et al.* Fungal biomass as biosorbent for the removal of Acid Blue 161 dye in aqueous solution. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 4, p. 4200–4209, 2017.

SAEED, A.; IQBAL, M. Loofa (*Luffa cylindrica*) sponge: Review of development of the biomatrix as a tool for biotechnological applications. **Biotechnology Progress**, v. 29, n. 3, p. 573–600, 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.

SILVA, T. R. *et al.* Avaliação da descoloração de corantes têxteis por isolados fúngicos de origem ambiental. In: Encontro Anual de Iniciação Científica (EAIC), 31., 2022, Anais eletrônico, Local: Universidade Estadual de Londrina. 58317. Disponível em: http://www.uel.br/eventos/eaic/anais/?content=2022/anais_pesquisa.php.

SILVA, T. R. Biorremediação de corantes reativos têxteis por fungos filamentosos. 31 fls. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2023.

WEBSTER, G. T. *et al.* Discriminating the Intraerythrocytic Lifecycle Stages of the Malaria Parasite Using Synchrotron FT-IR Microspectroscopy and an Artificial Neural Network. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 7, p. 2516–2524, 2009.

YAN, J. *et al.* Bio-decolorization of synthetic dyes by a novel endophytic fungus *Penicillium janthinellum* LM5 from blueberry pulp. **Biochemical Engineering Journal**, v. 195, 2023.

YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 2, p. 1193–1226, 2019.

CAPÍTULO II

Descoloração de azul reativo BF-5G pelo isolado basidiomiceto B20

RESUMO

A indústria têxtil gera efluentes que contêm poluentes, como os corantes reativos. Estes compostos possuem difícil degradação e alto impacto ambiental. Neste estudo, foi avaliada a capacidade do fungo basidiomiceto B20 na descoloração do corante AZ-BF-5G, empregando biomassa fúngica não imobilizada e imobilizada em esponja vegetal (*L. cylindrica*). Foram realizados ensaios de descoloração com o basidiomiceto B20, tanto na forma não imobilizada quanto imobilizada, em diferentes concentrações de corante (50 mg/L, 250 mg/L e 2500 mg/L) e tempos de incubação (24 h a 120 h). A imobilização foi realizada em esponja vegetal. A biomassa não imobilizada demonstrou descolorações de $54,1 \pm 7,2\%$ e $59,9 \pm 2,3\%$ em 24 e 48 horas de incubação, respectivamente, na concentração de 50 mg/L. Após 120 horas, a descoloração atingiu $66,0 \pm 0,5\%$, sendo a maior eficiência observada para o basidiomiceto. No entanto, a capacidade de descoloração diminuiu com o aumento da concentração do corante, alcançando $40,3 \pm 8,9\%$ em 250 mg/L e $3,7 \pm 1,0\%$ em 2500 mg/L. A análise espectroscópica UV-Vis mostrou uma redução significativa no pico de absorbância em 599 nm, enquanto a FT-IR indicou alterações nos grupos funcionais do corante. Ao empregar 0,9 g de biomassa fúngica imobilizada (MIEV), a descoloração foi de $22,4 \pm 0,1\%$ em 24 horas e $17,4 \pm 3,2\%$ em 120 horas de incubação. O aumento da biomassa imobilizada para 1,8 g elevou a descoloração para $32,7 \pm 2,0\%$ em 24 horas. A esponja vegetal mostrou-se um suporte eficaz para a imobilização. Portanto, os resultados demonstram que o basidiomiceto B20 apresenta potencial para aplicações biotecnológicas no tratamento de efluentes têxteis, tanto na forma imobilizada quanto não imobilizada. A esponja vegetal possui capacidade de servir como suporte de imobilização, contribuindo para a sustentabilidade e viabilidade do processo. Sendo assim, este estudo contribui para a elaboração de tecnologias sustentáveis no tratamento de efluentes têxteis.

Palavras-chave: Isolado ambiental; Imobilização; Basidiomiceto; Biodegradação;

ABSTRACT

The textile industry generates effluents containing pollutants such as reactive dyes. These compounds are difficult to degrade and have high environmental impact. This study evaluated the capacity of the basidiomycete fungus B20 to decolorize the AZ-BF-5G dye, using both non-immobilized and immobilized fungal biomass in vegetable sponge (*L. cylindrica*). Decolorization assays were conducted with basidiomycete B20 in both non-immobilized and immobilized forms, at different dye concentrations (50 mg/L, 250 mg/L, and 2500 mg/L) and incubation times (24 h to 120 h). Immobilization was performed in vegetable sponge, and the decolorization mechanism was investigated by UV-Vis spectrophotometry and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). The non-immobilized biomass showed decolorization of $54.1 \pm 7.2\%$ and $59.9 \pm 2.3\%$ at 24 and 48 hours of incubation, respectively, at 50 mg/L concentration. After 120 hours, decolorization reached $66.0 \pm 0.5\%$, representing the highest efficiency observed for the basidiomycete. However, decolorization capacity decreased with increasing dye concentration, achieving $40.3 \pm 8.9\%$ at 250 mg/L and $3.7 \pm 1.0\%$ at 2500 mg/L. UV-Vis spectroscopic analysis showed a significant reduction in the absorbance peak at 599 nm, while FT-IR indicated changes in the dye's functional groups, suggesting biodegradation as the main decolorization mechanism. Using 0.9 g of immobilized fungal biomass (MIEV), decolorization was $22.4 \pm 0.1\%$ at 24 hours and $17.4 \pm 3.2\%$ at 120 hours of incubation. Increasing the immobilized biomass to 1.8 g raised decolorization to $32.7 \pm 2.0\%$ at 24 hours. The vegetable sponge proved to be an effective immobilization support. Therefore, the results demonstrate that basidiomycete B20 has potential for biotechnological applications in textile effluent treatment, in both immobilized and non-immobilized forms. The vegetable sponge can effectively serve as an immobilization support, contributing to process sustainability and viability. Thus, this study contributes to the development of sustainable technologies for textile effluent treatment.

Keywords: Environmental isolated; Immobilization; Basidiomycete; Biodegradation;

8 MATERIAL E MÉTODOS

8.1 ISOLADO FÚNGICO E CORANTE TÊXTIL

O presente estudo utilizou o fungo filamentosso basidiomiceto denominado B20 obtido de biomassa celulósica advinda de fragmentos de mata atlântica da região de Londrina-Paraná (Silva, 2022). Ele está armazenado no Laboratório de Fisiologia e Biologia Molecular de Fungos, da Universidade Estadual de Londrina.

Foi utilizado o corante têxtil Azul Reativo BF-5G (AZ-BF-5G), fornecido pela Texpal®, Valinhos - SP. O comprimento de onda característico do corante ocorre em 599 nm. As soluções de estoque do corante foram preparadas com água ultrapura na concentração de 1000 g/L e esterilizados por filtração (0,22 µm, Millipore®). A concentração empregada nos ensaios de descoloração foi de 50 mg/L; 250 mg/L; 500 mg/L; 1000 mg/L e 2500 mg/L.

8.2 AVALIAÇÃO DE DESCOLORAÇÃO

Para avaliação da capacidade de descoloração, o isolado foi cultivado em meio YPD (Extrato de levedura 1%; Peptona 2%; Dextrose 2%; Ágar 2%) solidificado a 28 °C por 7 dias. Após o crescimento, foi adicionado 5 discos de micélio crescido no YPD em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 ml de meio *Sabouraud* (Peptona 1%; Dextrose 4%; Extrato de levedura 2,5%) para obtenção de biomassa fúngica.

Após o cultivo, a biomassa fúngica foi removida e submetida ao processo de centrifugação a 10.000 RPM por 10 minutos, sendo posteriormente lavada com água destilada estéril para eliminação de quaisquer resíduos provenientes do meio de cultivo. Em sequência, foi pesado 1 g do micélio úmido e adicionado a 3 ml de solução água/corante (50 mg/L; 250 mg/L; 500 mg/L e 2500 mg/L) e incubado por 120 horas.

As amostras retiradas a cada 24 horas foram centrifugadas (10.000 RPM por 10 minutos) para obtenção de sobrenadante livre de células e determinação da porcentagem de descoloração, realizada por leitura espectrofotométrica no comprimento de onda 600 nm em espectrofotômetro BioTek modelo EL808. A porcentagem de descoloração foi dada por meio da seguinte fórmula:

$$\%DES = \frac{(ABS\ inicial - ABS\ final)}{ABS\ Inicial} \times 100$$

Onde: %DES representa a descoloração, ABS Inicial representa o valor da absorbância da solução controle água/corante e ABS Final representa o valor da absorbância após cultivo com a massa micelial úmida (Bernal *et al.*, 2021). Os resultados foram apresentados como a porcentagem média de descoloração e desvio padrão (\pm) de três repetições independentes.

8.3 ENSAIO DE IMOBILIZAÇÃO

A esponja vegetal (*L. cylindrica*) foi utilizada como suporte de imobilização para os isolados fúngicos *Penicillium* sp. e B20. Inicialmente, três fragmentos de esponja vegetal (2 cm²), umedecidos e sem inóculo, foram pesados, apresentando uma massa média de 0,6 g. Esse valor foi descontado nas pesagens subsequentes das esponjas com biomassa fúngica imobilizada, a fim de determinar a quantidade total de biomassa fúngica aderida ao suporte. Ensaios prévios indicaram que a esponja vegetal, na ausência de microrganismos, não apresenta capacidade de adsorção do corante utilizado.

A metodologia para preparação da esponja vegetal foi adaptada de Iqbal e colaboradores (2005). Os fragmentos de esponja foram fervidos em água de torneira por 30 minutos, lavados três vezes com água destilada e secos em estufa a 60 °C por 24 horas. Após a secagem, três fragmentos foram transferidos para frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 200 mL de meio *Sabouraud* em caldo. Em seguida, os frascos foram autoclavados a 121°C por 15 minutos.

Após a esterilização, a imobilização do basidiomiceto B20 ocorreu por meio de cultura crescida em YPD solidificado por 7 dias, da qual foram retirados 5 discos de micélio com o auxílio de ponteira esterilizada. Em seguida, foram inoculados em frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 200 mL de meio *Sabouraud* em caldo com 3 fragmentos de esponja estéreis, por 7 dias a 90 RPM e 28 °C. Após este período, as esponjas com células imobilizadas seguiram para ensaios de descoloração contendo o volume fixo de 15 mL de solução por até 120 h de incubação com o corante na concentração de 50 mg/L e 72 h de incubação empregando 250 mg/L de corante AZ-BF-5G.

8.4 AVALIAÇÃO DE UV-VIS E FT-IR

Para a avaliação dos sobrenadantes livres de células, após o processo de descoloração, as amostras foram analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, modelo UV-2600), com varredura espectral nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm, conforme metodologia descrita por Eichlerová *et al.* (2007). Em seguida, foi realizada a análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, Shimadzu, modelo IR Prestige-21). Para essa análise, as amostras foram preparadas na forma de pastilhas de Brometo de Potássio (KBr), e os espectros foram obtidos na região do infravermelho médio (400–4000 cm^{-1}).

8.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados de descoloração foram analisados estatisticamente por análise de *one-way* ANOVA ($p < 0.05$) e aplicou-se pós-teste de Tukey's. A análise estatística foi realizada no *software GraphPad Prism 8*.

9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

9.1 AVALIAÇÃO DE DESCOLORAÇÃO PELA BIOMASSA NÃO IMOBILIZADA DO BASIDIOMICETO B20

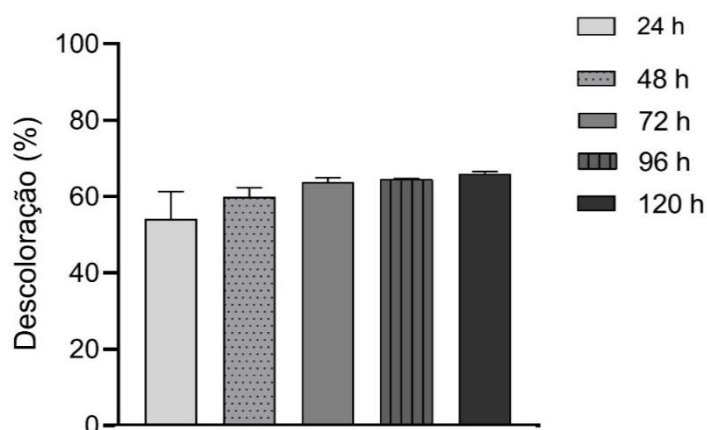
O micélio não imobilizado do basidiomiceto B20 promoveu a descoloração do corante AZ-BF-5G (50 mg/L) em todas as condições testadas. No tempo de 24 e 48 horas de incubação, foi observado $54,1 \pm 7,2\%$ e $59,9 \pm 2,3\%$ de descoloração pela biomassa fúngica, respectivamente. A partir de 72 horas de incubação na solução corante, a descoloração foi de $63,85 \pm 1,0\%$, um valor aproximado foi constatado em 96 horas de incubação ($64,45 \pm 0,2\%$). Após um período de 120 horas, foi observado $66 \pm 0,5\%$ de descoloração, sendo a maior descoloração obtida pelo basidiomiceto conforme observado na Figura 10, não houve diferença estatística entre as condições testadas.

Foi testada a capacidade de descoloração de *Phanerochaete chrysosporium* no azo corante Amarelo direto 27 (DY27) e preto reativo 5 (RB5) na concentração de 50 mg/L. Em 120 horas de tratamento, constatou-se 30% de descoloração para RB5 e 50% para DY27 (De Almeida *et al.*, 2021). Valores superiores foram evidenciados em tempo de incubação semelhante no presente estudo.

Trametes hirsuta foi descrito com capacidade de descolorir cerca de 80% do corante Allura Red AC (50 mg/L) após 14 dias, demonstrando longo período de incubação (Pecková *et al.*, 2021). Outro estudo usou o mesmo gênero, *Trametes versicolor* DSM 3026, que descoloriu 95% do corante Orange II (20 mg/L) em 7 dias (Gugel *et al.*, 2024), enquanto no presente estudo foi empregado maior concentração de corante e menor tempo de incubação para descoloração.

Embora os fungos utilizados nesses estudos tenham apresentado maiores porcentagens de descoloração em comparação ao basidiomiceto B20, é importante destacar que fatores como tipo de corante, concentração inicial e tempo de exposição podem influenciar significativamente os resultados (Rajhans *et al.*, 2021).

Figura 10. Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L) por micélio não imobilizado do basidiomiceto B20 nos tempos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas de incubação



9.2 EFEITOS DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CORANTE NA CAPACIDADE DE DESCOLORAÇÃO DO BASIDIOMICETO B20

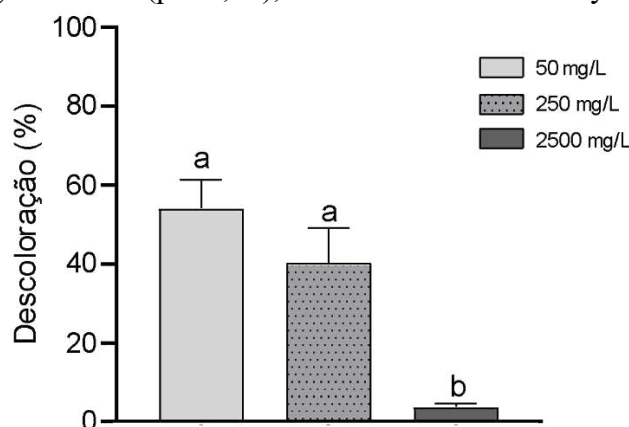
Nesta etapa, foram avaliadas diferentes concentrações do corante AZ-BF-5G, sendo elas 250 mg/L e 2500 mg/L com a capacidade de descoloração do basidiomiceto B20 não imobilizado (Figura 11). Estudos anteriores relataram que a concentração de corantes em efluentes têxteis varia amplamente, sendo os valores mais frequentes de 20 a 250 mg/L, dependendo da etapa de fabricação (Yaseen e Scholz, 2019). O tempo de 24 horas de incubação foi escolhido para prosseguir com os experimentos.

Isto posto, a biomassa fúngica não imobilizada apresentou descoloração de $40,3 \pm 8,9\%$ do corante na concentração de 250 mg/L. Contudo, com o aumento da concentração

do corante para 2500 mg/L, o basidiomiceto B20 foi capaz de descolorir apenas $3,7 \pm 1,0\%$, menor descoloração observada para este isolado. Os resultados obtidos demonstram que o aumento de concentração de corante pode estar interferindo na descoloração pela biomassa.

Comportamento semelhante de redução da descoloração em elevadas concentrações de corante foi observado em estudos anteriores. *Perreniporia tephropora* MUCL 47500, por exemplo, descoloriu acima de 50% o corante Azul Reativo 7 e Laranja de Metila na concentração de 50 mg/L, mas a descoloração reduziu para 20% em 1500 mg/L. É importante notar que esses resultados foram obtidos após 7 dias de incubação (Steeve *et al.*, 2014). No presente estudo, a opção por uma concentração de 2500 mg/L, que excede as concentrações comumente reportada, permitiu avaliar o limite de tolerância do isolado B20. A descoloração observada em 2500 mg/L, mesmo que em um percentual reduzido, demonstra a capacidade de o microrganismo interagir e promover remoção do corante em uma matriz de alta carga poluente, em um curto período de incubação, o que pode ser uma característica relevante para cenários de efluentes industriais com picos de concentração.

Figura 11. Porcentagem de descoloração em 24 horas de incubação utilizando diferentes concentrações do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L; 250 mg/L; 2500 mg/L) por micélio não imobilizado do basidiomiceto B20. Letras distintas (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), conforme teste de Tukey.



9.3 AVALIAÇÃO DA SOLUÇÃO DESCOLORIDA APÓS DESCOLORAÇÃO POR MICÉLIO NÃO IMOBILIZADO DO BASIDIOMICETO B20

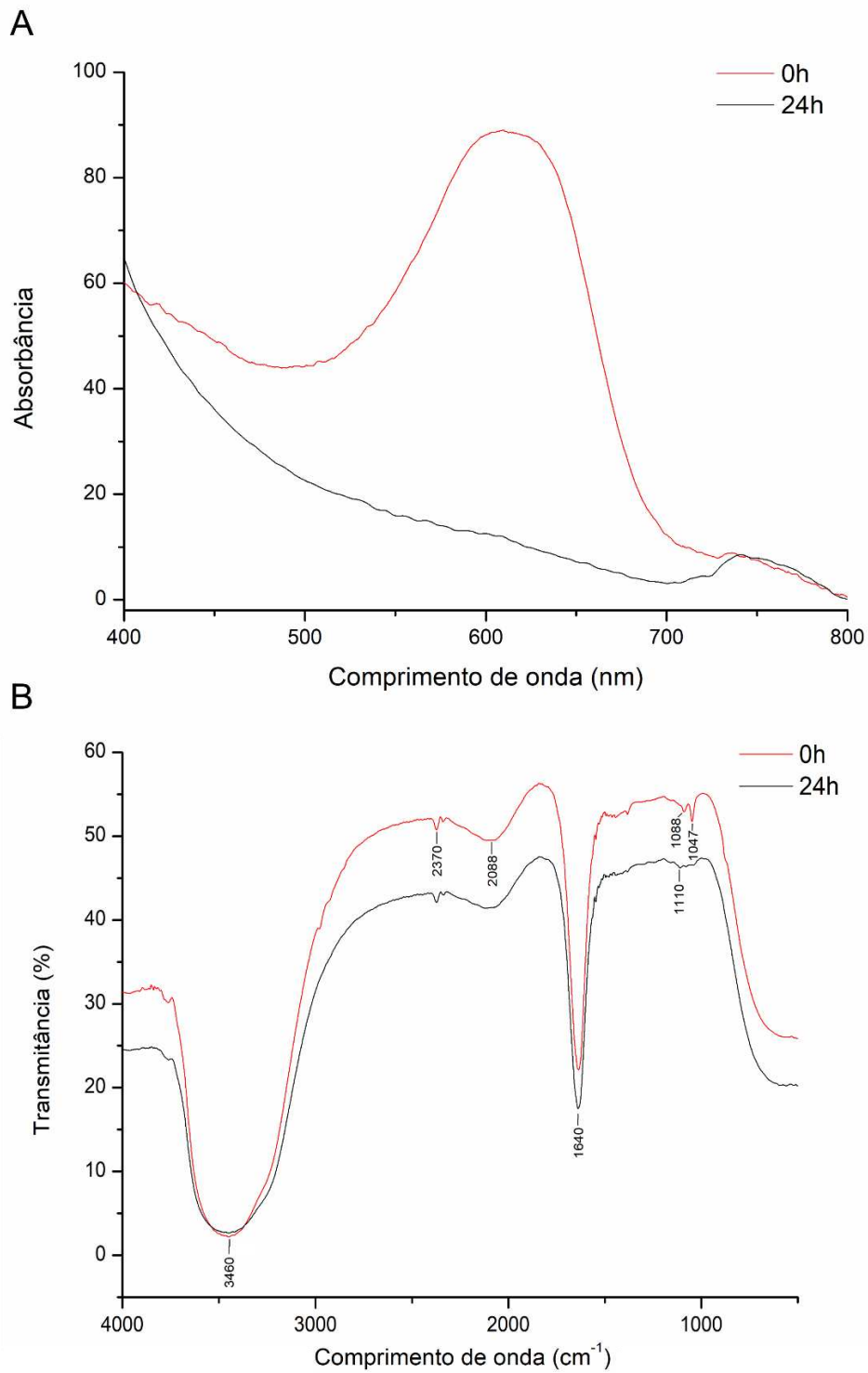
A análise dos sobrenadantes produzidos nos testes de descoloração é um passo importante para entender as mudanças químicas que ocorreram durante o tratamento. Na Figura 12A, o espectro de UV-Vis ilustra a mudança na característica de absorbância antes (0 h) e após 24 horas de descoloração. Inicialmente, observa-se um pico de máxima absorção em,

aproximadamente, 600 nm, característico do cromóforo do corante estudado (599 nm). Após a descoloração, observa-se uma redução na intensidade do pico em 599 nm, sem a formação de novos picos, o que sugere que o mecanismo predominante de descoloração foi a bioissorção (Prigione *et al.*, 2008).

Na Figura 12B, o espectro de FT-IR compara as alterações nos grupos funcionais presentes antes (0 h) e após 24 horas do processo de descoloração. No tempo de 0h, é possível observar bandas distintas em 3460 cm^{-1} , associadas à vibração de estiramento do grupo hidroxila ($-\text{OH}$), e em 1640 cm^{-1} , relacionadas à vibração de carbonilas ($\text{C}=\text{O}$). Essas duas bandas estão associadas à presença de soluções aquosas, correspondendo como diluente do corante (Fomina *et al.*, 2023). Também é possível observar a presença de duas bandas em 1088 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{O}$) e 1047 cm^{-1} ($-\text{C}=\text{O}$), podendo ser estiramentos de segundos álcoois (Singh; Ahlawat; Rajor, 2017)

Após 24 horas, observa-se uma redução na intensidade dessas bandas. Além disto, temos o surgimento de uma banda em 1110 cm^{-1} atribuídas ao grupo $\text{C}-\text{O}$ (Carolin; Kumar; Joshiba, 2021). A observação de alterações nas presenças de bandas pode ser um indicativo da alteração da estrutura molecular do corante durante o processo de descoloração, novamente reforçando que o mecanismo de descoloração utilizado por esse isolado pode ser biodegradação e bioissorção (Khan; Joshi, 2019)

Figura 12. Avaliação da solução descolorida antes (0 h) e após (24 h) a descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L) pelo basidiomiceto B20 não imobilizado. (A) Espectrofotometria UV-Vis e (B) espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier.



9.4 IMOBILIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DESCOLORAÇÃO DO BASIDIOMICETO B20

Diversos suportes sólidos têm sido explorados para a imobilização de fungos em aplicações biotecnológicas, sendo a esponja vegetal (*L. cylindrica*) uma alternativa que objetiva a sustentabilidade, a biodegradabilidade, o baixo custo, a reutilização e a ampla disponibilidade comercial (Iqbal; Saeed, 2007). Sua estrutura porosa oferece uma grande área de contato e facilita o manuseio da biomassa, além de atuar como uma estratégia para proteger os microrganismos contra condições ambientais adversas que possam comprometer o processo de descoloração ou outras aplicações biotecnológicas (Przystaś; Zabłocka-Godlewska; Grabińska-Sota, 2018). Para avaliar a esponja vegetal como suporte para a imobilização da biomassa de B20, foi analisada sua capacidade de descolorir o corante AZ-BF-5G ao longo de 120 horas de incubação.

No ensaio, foram utilizados dois pesos de biomassa fúngica imobilizada (MIEV) de B20, sendo 0,9 g e 1,8 g. Todas as condições de imobilização testadas demonstraram que a esponja vegetal funciona como suporte de imobilização para o isolado B20. Empregando 0,9 g de MIEV (Figura 13A), os índices de descoloração foram de $22,4 \pm 0,1\%$ em 24 horas, $23,7 \pm 0,4\%$ em 48 horas, $22,6 \pm 1,9\%$ em 72 horas e $25 \pm 4,4\%$ em 96 horas de incubação, mantendo-se constante. Entretanto, em 120 horas de incubação, observou-se uma redução na descoloração, atingindo $17,4 \pm 3,2\%$. A queda na descoloração pode ser atribuída a fatores que influenciam a descoloração por biodegradação, mecanismo relacionado com basidiomicetos, sendo a alteração do pH ao longo da descoloração devido à atividade metabólica do fungo, a disponibilidade de nutrientes, alterações de temperatura e a concentração do corante utilizada, conforme descrito por Kumar e colaboradores (2024).

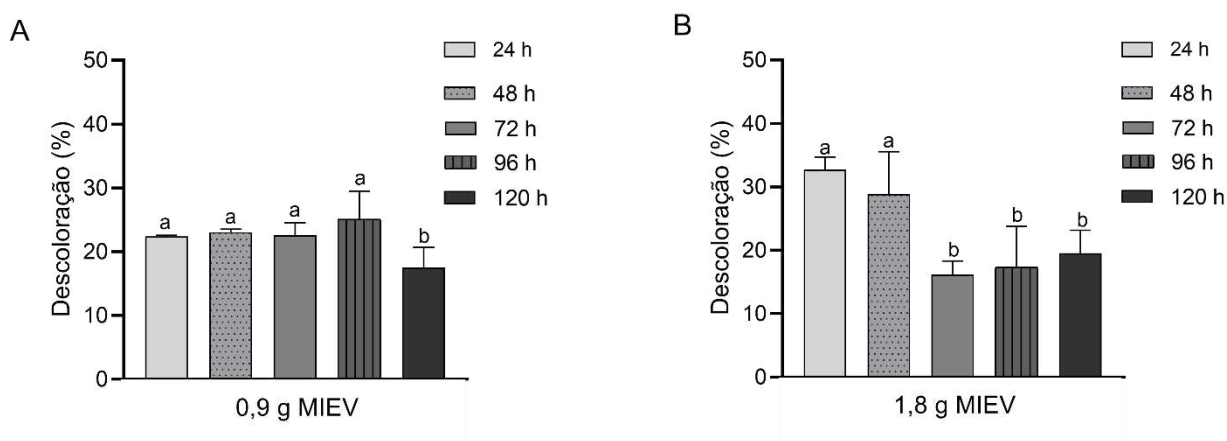
Em relação ao suporte de imobilização, estudos anteriores testaram a imobilização de três fungos em esponja vegetal (*L. cylindrica*) para a descoloração de RB5 na concentração de 75 mg/L, relataram êxito na imobilização e descolorações (Fernández *et al.*, 2009) dialogando com os resultados do suporte escolhido no presente estudo.

Ao utilizar 1,8 g de MIEV de B20 (Figura 13B), observou-se uma descoloração inicial maior ($32,7 \pm 2,0\%$) em 24 horas em comparação com a quantidade de 0,9 g ($p = 0,0009$), demonstrando a influência da biomassa na eficiência do processo. Esse comportamento corrobora com estudos como o de Demierege *et al.* (2015), que reportaram um aumento linear na descoloração do corante Levafix Braun E-RN (de 60% para 100%) com o incremento da biomassa de *Agaricus bisporus* não imobilizado (0,075 g para 0,2 g). Entretanto, após 48 horas, a descoloração diminuiu para $28,8 \pm 6,7\%$, após 72 horas ($16,1 \pm 2,1\%$), os

valores se estabilizaram em $17,3 \pm 6,4\%$ (96 h) e $19,5 \pm 3,6\%$ (120 h), indicando possível saturação.

Dessa forma, a esponja vegetal revela-se um suporte para a imobilização da biomassa fúngica do basidiomiceto B20. A redução na descoloração observada após imobilização, em comparação ao micélio não imobilizado, pode estar associada às características metabólicas do fungo. Basidiomicetos, como os utilizados neste estudo, podem apresentar porcentagens reduzidas de descoloração dependendo de fatores como a presença de nutrientes, pH, concentração de biomassa e de corante (De Almeida, 2021). Esses resultados destacam a importância da otimização dos parâmetros do processo de descoloração.

Figura 13. Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G empregando diferentes biomassas fúngicas imobilizada (MIEV) do basidiomiceto B20, sendo (A) 0,9 g de MIEV e (B) 1,8 g de MIEV, nos tempos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas de incubação. Letras distintas (a, b) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), conforme teste de Tukey.

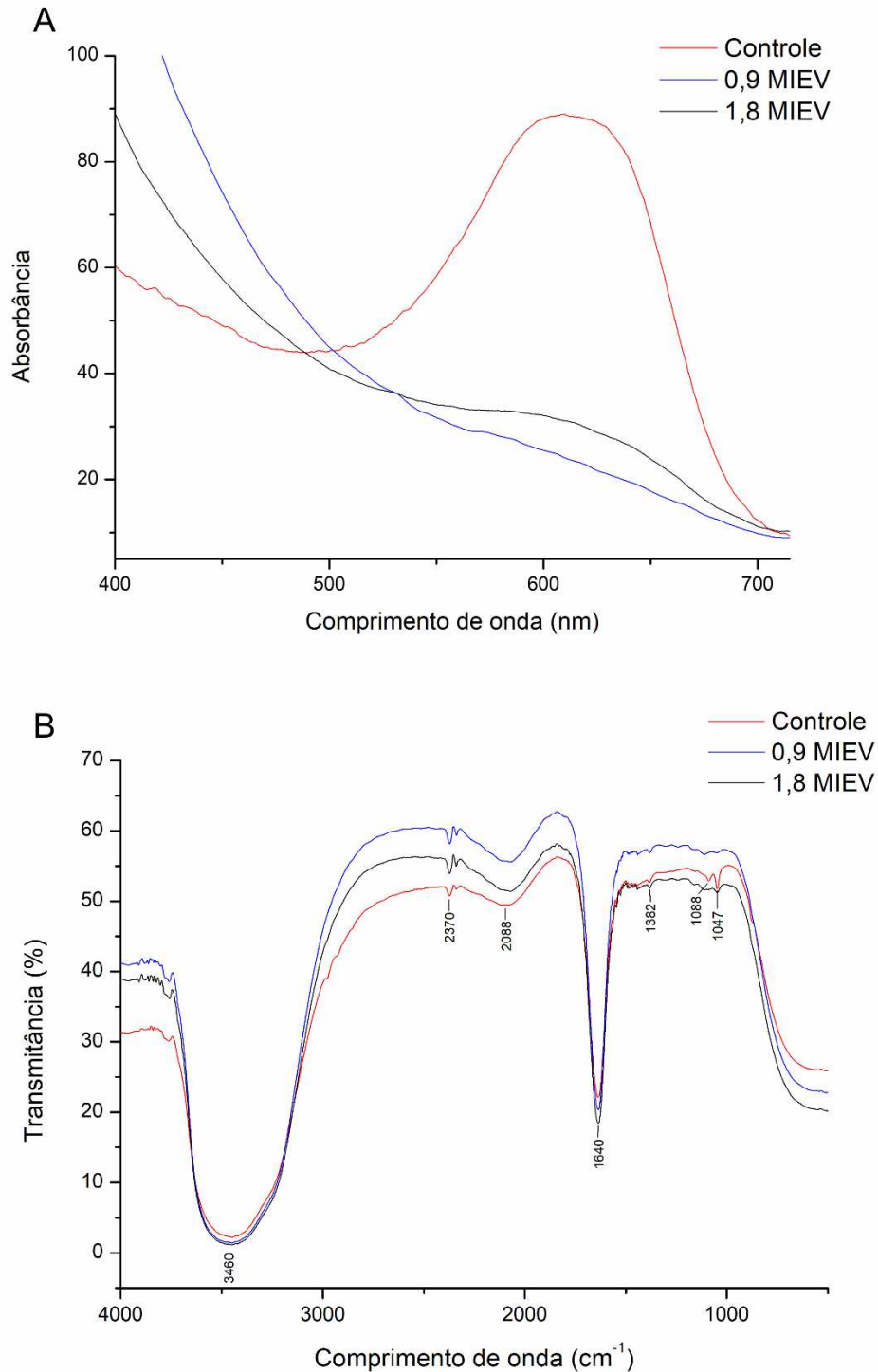


Após os ensaios, foram avaliados os sobrenadantes das condições de 0,9 e 1,8 g de MIEV em 72 horas de incubação, por espectrofotômetro UV-Vis e espectroscopia de FT-IR, conforme ilustrado nos gráficos da Figura 14. O espectro de UV-Vis ilustra a mudança na característica de absorvância entre as diferentes biomassas referentes à descoloração (Figura 14A). Inicialmente, observa-se um pico baixo de absorção em, aproximadamente, 600 nm, caracterizando a descoloração de 0,9 g de MIEV. Já com o aumento da biomassa (1,8 g), nota-se que houve uma baixa redução do pico em relação ao controle, demonstrando uma descoloração menor que com 0,9 g de biomassa fúngica.

Na Figura 14B, é possível identificar, na espectroscopia de FT-IR, bandas em 3460 cm^{-1} , associadas ao grupo hidroxila ($-\text{OH}$) e, em 1640 cm^{-1} , que, quando relacionadas à

presença de grupamentos carbonilas (C=O), essas bandas estão associadas à presença de soluções aquosas, como citado anteriormente (Fomina *et al.*, 2023). Ainda, dentro da região de *fingerprint*, temos as presenças de duas bandas em 1088 cm^{-1} (-C-O) e 1047 cm^{-1} (-C=O) no controle conforme demonstradas anteriormente, sendo que, após a descoloração, não apareceram. Isto pode estar relacionado com a mudança na estrutura da molécula ocasionada pelo possível mecanismo de descoloração por biodegradação (Khan; Joshi, 2019).

Figura 14. Avaliação dos sobrenadantes após descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (50 mg/L) empregando 0,9 g e 1,8 g de micélio imobilizado (MIEV) do basidiomiceto B20 por 72 horas de incubação. (A) Espectrofotometria UV-Vis e (B) espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. O controle consiste no corante sem a presença de micélio.



9.5 CAPACIDADE DE DESCOLORAÇÃO POR BIOMASSA DE B20 IMOBILIZADO EM RELAÇÃO AO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DO CORANTE AZ-BF-5G

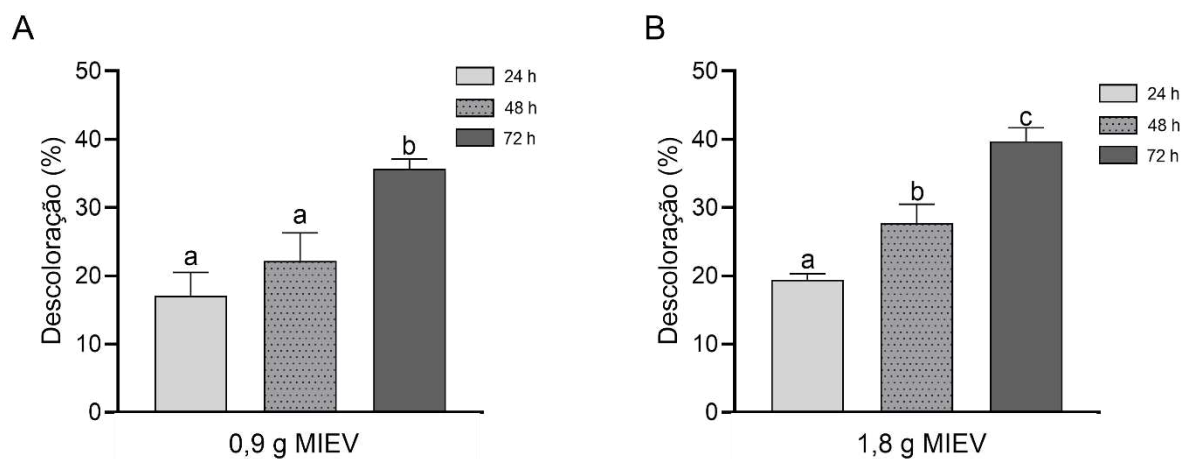
Os tempos de 24, 48 e 72 horas de incubação foram selecionados para avaliação com base nos resultados obtidos nos experimentos anteriores. A Figura 15 apresenta os resultados de descoloração para a concentração de 250 mg/L do corante reativo, utilizando 0,9 g de MIEV de B20, com $17,1 \pm 3,4\%$ de descoloração em 24 horas, $22,2 \pm 4,1\%$ em 48 horas e $35,7 \pm 1,4\%$ em 72 horas de incubação.

A maior biomassa empregada (1,8 g) de MIEV de B20 apresentou aumento na descoloração, sendo $19,4 \pm 0,8\%$ em 24 horas de incubação. Já em 48 horas, observou-se $27,7 \pm 2,7\%$ de descoloração e $39,7 \pm 1,9\%$ em 72 horas de incubação. Destaca-se que a maior porcentagem de descoloração foi obtida empregando 1,8 g de MIEV de B20 após 72 horas de incubação. Portanto, ambos os pesos de biomassa apresentaram descolorações proporcionais à quantidade de micélio disponível, indicando que o aumento da biomassa influencia positivamente os resultados, como demonstrado anteriormente.

Esses dados evidenciam que a imobilização do basidiomiceto promoveu maior descoloração na maior concentração do corante (250 mg/L) em relação a menor concentração utilizada (50 mg/L). Ambas as concentrações refletem os níveis que podem ser encontrados em corpos d'água impactados por descargas industriais, demonstrando a viabilidade do sistema imobilizado (Yaseen; Scholz, 2019).

A literatura apresenta poucos relatos que tragam que o aumento da concentração de corante pode estimular a descoloração por fungos, sendo mais comum que concentrações mais elevadas inibam esse processo. Esse mecanismo foi constatado ao avaliar *P. chrysosporium* na descoloração do corante Preto Reativo 5. Na concentração de 75 mg/L do corante, o fungo teve a capacidade de descolorir 6%; ao aumentar a concentração do corante para 300 mg/L, resultou em uma elevação na descoloração para 16% (Fernández *et al.*, 2009), o que reforça os resultados obtidos nesta pesquisa.

Figura 15. Porcentagem de descoloração do corante Azul Reativo BF-5G (250 mg/L) empregando diferentes biomassas fúngicas imobilizadas (MIEV) do basidiomiceto B20, sendo (A) 0,9 g de MIEV e (B) 1,8 g de MIEV, nos tempos de 24, 48 e 72 horas de incubação. Letras distintas (a, b, c) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), conforme teste de Tukey.



10 CONCLUSÃO

Este capítulo avaliou a capacidade do basidiomiceto B20 na descoloração do corante reativo AZ-BF-5G, utilizando sistemas de biomassa imobilizada em esponja vegetal (*L. cylindrica*) e biomassa não imobilizada. Os resultados evidenciaram que a forma não imobilizada apresentou maior capacidade de descoloração. O protocolo de imobilização celular em esponja vegetal demonstrou viabilidade, embora exija mais estudos de otimização de parâmetros operacionais para melhoramento da porcentagem de descoloração. Os dados obtidos dialogam com a aplicabilidade da imobilização fúngica em matrizes vegetais, sendo uma abordagem sustentável para tratamento de efluentes têxteis, destacando-se pelas características de custo reduzido e pela elevada capacidade de retenção de biomassa. Diante desses resultados, o isolado B20 pode ser uma alternativa viável para aplicações biotecnológicas na biorremediação de efluentes industriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNAL, S. P. F. *et al.* Biotechnological potential of microorganisms from textile effluent: isolation, enzymatic activity and dye decoloration. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 4, 2021.

CAROLIN, C. F.; KUMAR, P. S.; JOSHIBA, G. J. Sustainable approach to decolourize methyl orange dye from aqueous solution using novel bacterial strain and its metabolites characterization. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 23, n. 1, p. 173–181, 2021.

DE ALMEIDA, A. P. *et al.* Decolorization and detoxification of different azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 under submerged fermentation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 727–738, 2021.

DEMIERGE, S. *et al.* Removal of textile dyes from aqueous solutions by biosorption on mushroom stump wastes. **Chemistry and Ecology**, v. 31, n. 4, p. 365–378, 2015.

EICHLEROVÁ, I. *et al.* Decolorization of Orange G and Remazol Brilliant Blue R by the white rot fungus *Dichomitus squalens*: Toxicological evaluation and morphological study. **Chemosphere**, v. 69, n. 5, p. 795–802, 2007.

FERNÁNDEZ, J. A. *et al.* Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5. **Rev. Colomb. Biotecnol**, 2009.

FOMINA, P. S. *et al.* Infrared Spectroscopy in Aqueous Solutions: Capabilities and Challenges. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 1748–1765, 2023.

GUGEL, I. *et al.* Mycoremediation of Synthetic Azo Dyes by White-Rot Fungi Grown on Dairy Waste: A Step toward Sustainable and Circular Bioeconomy. **Fermentation**, v. 10, n. 2, p. 80, 2024.

IQBAL, M.; SAEED, A. Biosorption of reactive dye by loofa sponge-immobilized fungal biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 7, p. 1160–1164, 2007.

KHAN, S.; JOSHI, N. Molecular identification of dye degrading bacterial isolates and FT-IR analysis of degraded products. **Environmental Engineering Research**, v. 25, n. 4, p. 561–570, 2019.

KUMAR, V. *et al.* Harnessing the potential of white rot fungi and ligninolytic enzymes for efficient textile dye degradation: A comprehensive review. **Water Environment Research**, v. 96, n. 1, 2024.

PARSHETTI, G. K. *et al.* Biodegradation of Reactive blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 18, p. 3638–3642, 2007.

PECKOVÁ, V. *et al.* Comparison of efficiency for monoazo dye removal by different species of white-rot fungi. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 18, n. 1, p. 21–32, 2021.

PRZYSTAŚ, W.; ZABŁOCKA-GODLEWSKA, E.; GRABIŃSKA-SOTA, E. Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 285–295, 2018.

RAJHANS, G. *et al.* Degradation of dyes by fungi: an insight into mycoremediation. **BioTechnologia**, v. 102, n. 4, p. 445–455, 2021.

RENGANATHAN, S. *et al.* Accumulation of Acid Orange 7, Acid Red 18 and Reactive Black 5 by growing *Schizophyllum commune*. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 16, p. 2189–2193, 2006.

SILVA, T. R. *et al.* Avaliação da descoloração de corantes têxteis por isolados fúngicos de origem ambiental. In: Encontro Anual de Iniciação Científica (EAIC), 31., 2022, Anais eletrônicos [...] Local: Universidade Estadual de Londrina. 58317. Disponível em: http://www.uel.br/eventos/eaic/anais/?content=2022/anais_pesquisa.php.

SINGH, R.; AHLAWAT, O. P.; RAJOR, A. Decolourization of Textile Dyes by Ligninolytic Fungi Isolated from Spent Mushroom Substrate. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, 2017.

STEEVE, M. *et al.* Discoloration and biodegradation of two dyes by white-rot fungi *Perreniporia tephropora* MUCL 47500 isolated in Gabon. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 2014.

YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 2019.