

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós – Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade

Adriele Santos Van Der Maas

**ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE LINHAGENS FÚNGICAS DO GÊNERO
Pleurotus NO TRATAMENTO DA VINHAÇA**

**Teófilo Otoni
2018**

Adriele Santos Van Der Maas

**ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE LINHAGENS FÚNGICAS DO GÊNERO *Pleurotus*
NO TRATAMENTO DA VINHAÇA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – Campus Mucuri como requisito para a obtenção do título de mestre.

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Cleide Aparecida Bomfeti
Co-orientador (a): Prof.^a Dr.^a Aruana Rocha Barros

**Teófilo Otoni
2018**

Ficha Catalográfica
Preparada pelo Serviço de Biblioteca/UFVJM Bibliotecário
responsável: Gilson Rodrigues Horta – CRB6 nº 3104

M111a Maas, Adriele Santos Van Der.
2018 Análise da eficiência de linhagens fúngicas do gênero pleurotus no tratamento da vinhaça. / Amaury Gonçalves Costa. Teófilo Otoni, 2018. 52 p. ; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade, 2018.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Cleide Aparecida Bomfeti.
Coorientadora: Prof^a Dr^a. Aruana Rocha Barros.

1. Pleurotus sp. 2. Biorremediação. 3. Vinhaça. 4. Azul de metileno. I. Título.

CDD: 572

ADRIELE SANTOS VAN DER MAAS

Análise da Eficiência de Linhagens Fúngicas do Gênero *Pleurotus* no Tratamento da Vinhaça

Dissertação apresentada ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA, AMBIENTE E SOCIEDADE – STRICTO SENSU, nível de MESTRADO, como parte dos requisitos para obtenção do título de MAGISTER SCIENTIAE EM TECNOLOGIA, AMBIENTE E SOCIEDADE.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cleide Aparecida Bomfeti

Data da aprovação: 23/03/2018



Prof.^a Dr.^a CLEIDE APARECIDA BOMFETI - UFVJM



Prof. Dr. ANDRÉ SANTIAGO AFONSO - UFVJM



Prof.^a Dr.^a MÁRCIA CRISTINA DA SILVA FÁRIA - UFVJM



Prof. Dr. MÁRCIO CÉSAR PEREIRA - UFVJM

TEÓFILO OTONI

RESUMO

A vinhaça é um subproduto oriundo das usinas de açúcar e álcool, com uma geração média de 10 a 14 litros por litro de etanol produzido. É um resíduo com baixo pH, elevada turbidez, e quando disposto de forma inadequada pode provocar uma série de desequilíbrios ambientais. A utilização de fungos do gênero *Pleurotus* como microrganismos biorremediadores surge como uma possível alternativa para o tratamento desse resíduo, pois esses organismos produzem enzimas que podem reduzir ou remover totalmente poluentes no ambiente. Por apresentar essa capacidade em produzir enzimas, muitos estudos utilizam os corantes como meio de avaliação e seleção de linhagens com potencial de biodegradação. Deste modo, este trabalho foi dividido em duas etapas, sendo objetivo da primeira, analisar a capacidade de sete linhagens de *Pleurotus* sp. em degradar o corante azul de metileno nas concentrações de 0,02 e 0,04 g.L⁻¹, com o intuito de identificar três linhagens com potencial para o tratamento da vinhaça. A segunda etapa, teve o objetivo de avaliar a capacidade de degradação da matéria orgânica presente na vinhaça em tratamentos com concentração de 25% e 100% com e sem ajuste de pH pelas três linhagens selecionadas na etapa anterior. Além disso, a eficiência de uma dessas linhagens em conjunto com a nanopartícula δ -FeOOH, também foi avaliada. Os resultados da primeira etapa revelaram que após sete dias de crescimento, todas as linhagens foram visivelmente capazes de reduzir a coloração dos meios contendo azul de metileno, e para as linhagens ERY, HI e SB a redução da absorvância em comparação ao controle foi de aproximadamente 80%. Pelos resultados da segunda etapa, foi possível evidenciar que as linhagens de *Pleurotus* sp. apresentaram grande potencial em descolorir a vinhaça tanto nas concentrações de 25 e 100%, com destaque para a linhagem HI (*Pleurotus ostreatus*) que apresentou remoção de 90% na turbidez e DQO nos tratamentos de 25%. O acréscimo de δ -FeOOH não alterou os percentuais de remoção da linhagem HI no meio contendo vinhaça 25%, mas induziu a linhagem a ser atraída por um ímã. Conclui-se pelos resultados que a vinhaça após o tratamento fúngico pode apresentar características favoráveis ao seu uso como biofertilizante e o acréscimo de δ -FeOOH pode favorecer a retirada do fungo devido a essa capacidade de torná-lo magnético.

Palavras chave: *Pleurotus* sp. Biorremediação. Vinhaça. Azul de metileno.

ABSTRACT

Vinasse is a by-product from the sugar and alcohol mills, with an average generation of 10 to 14 liters per liter of ethanol produced. It is a residue with acidic pH, high turbidity, which when improperly disposed can cause a series of environmental imbalances. The use of fungi of the genus *Pleurotus* as bioremediation microorganisms appears as a possible alternative for the treatment of this residue, since these organisms produce enzymes that can reduce or remove totally pollutants in the environment. Due to its ability to produce enzymes, many studies use dyes as a means of evaluating and selecting strains with biodegradation potential. Thus, this work was divided in two stages, being the objective of the first step to analyze the capacity of seven strains of *Pleurotus* sp. to degrade the methylene blue dye at concentrations of 0.02 and 0.04 g.L⁻¹, in order to identify three strains with potential for vinasse treatment. The second step was to evaluate the degradability of the organic matter present in the vinasse in treatments with concentrations of 25% and 100% with and without pH adjustment by the three strains selected in the previous step. Besides that, one of these strains was tested in conjunction with the nanoparticle δ -FeOOH. The results of the first step revealed that after seven days of growth, all the strains were visibly able to reduce the staining of the methylene blue media, and for the ERY, HI and SB isolates, a reduction was observed in comparison to the control of approximately 80%. From the results of the second stage, it was possible to show that the *Pleurotus* strains had a great potential to discolor the vinasse at both concentrations, especially the HI strains (*Pleurotus ostreatus*), which showed 90% removal in turbidity and COD in 25 treatments %. The addition of δ -FeOOH did not alter the percent removal of the HI strain in the medium containing 25% vinasse, but it did induce the lineage to be attracted by a magnet. It can be concluded from the results that the vinasse after the fungal treatment can present characteristics favorable to use as biofertilizer and the addition of δ -FeOOH can favor the removal of fungi once it make de fungi magnetic.

Keywords: *Pleurotus* sp. Bioremediation. Vinasse. Methylene blue.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| CAPITULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO..... | 7 |
| 1 INTRODUÇÃO | 7 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 9 |
| 2.1 Setor Sucroalcooleiro | 9 |
| 2.2 Características da vinhaça | 10 |
| 2.3 Generalidades sobre fungos..... | 11 |
| 2.4 Fungos do gênero <i>Pleurotus</i>..... | 11 |
| 2.5 Nanopartículas de Ferro | 13 |
| 3. REFERÊNCIAS | 14 |
| | |
| CAPITULO 2 - THE DEGRADATION OF METHYLENE BLUE DYE BY THE STRAINS OF <i>Pleurotus</i> sp. WITH POTENTIAL APPLICATIONS IN BIOREMEDIATION PROCESSES..... | 18 |
| | |
| ABSTRACT..... | 18 |
| RESUMO..... | 20 |
| 1 INTRODUCTION..... | 20 |
| 2 MATERIAL AND METHODS..... | 20 |
| 2.1 The isolation and maintenance of the strains of <i>Pleurotus</i> sp..... | 20 |
| 2.2 The growth of the fungi in the liquid medium..... | 20 |
| 2.3 The preparation of the culture medium containing the methylene blue dye..... | 22 |
| 2.4 The evaluation of the mycelial growth..... | 22 |
| 2.5 The evaluation of the degradation of the methylene blue dye..... | 22 |
| 2.6 Statistical analysis..... | 22 |
| 3 RESULTS AND DISCUSSION..... | 23 |
| 4 CONCLUSIONS..... | 29 |
| 5 ACKNOWLEDGMENTS..... | 30 |
| 6 REFERENCES | 30 |
| | |
| CAPITULO 3 - ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE LINHAGENS FÚNGICAS DO GÊNERO <i>Pleurotus</i> NO TRATAMENTO DA VINHAÇA DE CANA DE AÇÚCAR..... | 33 |

| | |
|--|-----------|
| RESUMO..... | 33 |
| ABSTRACT..... | 34 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 35 |
| 2 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 36 |
| 2.1 Identificação das linhagens de <i>Pleurotus</i> sp..... | 36 |
| 2.2 Identificação da vinhaça..... | 37 |
| 2.3 Preparo do meio de cultivo contendo vinhaça..... | 37 |
| 2.4 Preparo do meio de cultivo contendo vinhaça 25% e Nanopartícula de Ferro (δFeOOH) | 37 |
| 2.5 Avaliação da capacidade de degradação da vinhaça..... | 38 |
| 2.6 Análises estatísticas..... | 38 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 38 |
| 4 CONCLUSÕES..... | 48 |
| 5. REFERENCIAS..... | 48 |
| | |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 52 |

CAPITULO 1

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores de perdas na qualidade das águas está associado ao lançamento de efluentes sem o devido tratamento tanto nas águas como nos solos. As indústrias representam um dos setores com parcela significativa na destinação inadequada desses resíduos, visto que não existe a possibilidade de se manter um processo de produção totalmente desvinculado da geração de rejeitos.

O Brasil é um dos países líderes na produção de cana de açúcar e nas indústrias de manufatura desse produto é gerada a vinhaça, que é um resíduo líquido com elevado teor de matéria orgânica, com baixo pH e elevada turbidez. Segundo Lima *et al.* 2016, a produção de vinhaça em uma usina de cana de açúcar gira em torno de 10 a 14 litros por litro de etanol produzido, além da geração de resíduos sólidos e emissões atmosféricas.

A vinhaça quando disposta no meio ambiente de forma inadequada pode gerar uma série de problemas ambientais, principalmente nos recursos hídricos, devido seu alto teor de matéria orgânica. Normalmente esse subproduto é reaproveitado em outros setores, como na fertirrigação de solos, entretanto, nos últimos anos vem ocorrendo um aumento expansivo na produção de álcool e por consequência, de vinhaça, o que gerou a necessidade de pesquisas voltadas para o tratamento e reutilização desse efluente, visto que o uso indiscriminado desse resíduo no solo pode alterar algumas propriedades físico-químicas (REIS, 2014).

Diante dessa problemática, a utilização de microrganismos biorremediadores surge como uma possível alternativa para o tratamento desse resíduo, pois alguns organismos apresentam a capacidade de reduzir ou remover totalmente poluentes no ambiente (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Vários microrganismos são utilizados em processos de biorremediação, e alguns estudos vêm sendo desenvolvidos com espécies de fungos, uma vez que esses organismos conseguem desenvolver estratégias para sobreviver em ambientes extremos produzindo enzimas que alcançam os poluentes, mineralizando-os ou bioacumulando-os em suas células (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2008). Um dos gêneros fúngicos que tem recebido destaque nas pesquisas de biorremediação é o fungo *Pleurotus* sp., que além de produzir uma variabilidade de enzimas que atuam na degradação de compostos recalcitrantes, ainda é formado por representantes de fungos comestíveis, denominados popularmente de cogumelos ostra (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010).

Para o emprego dos fungos nos processos de remediação ambiental é importante realizar primeiro, a seleção das linhagens que apresentem esse potencial biorremediador. Para isso, alguns estudos utilizam corantes como meio de avaliação dessas linhagens, uma vez que a utilização de corantes, principalmente o azul de metileno oferece várias vantagens, pois permite o desenvolvimento de métodos espectrométricos simples, rápidos e quantitativos (SILVA; MONTEIRO, 2000; SOARE; COSTA; FERREIRA, 2011).

Por esses organismos apresentarem essa potencialidade, a utilização dos mesmos na degradação de efluentes com alta concentração de matéria orgânica como a vinhaça, pode gerar resultados superiores aos tratamentos anaeróbicos convencionais, principalmente pelo fato desses tratamentos não conseguirem remover a cor desse resíduo (FERREIRA, 2009).

Buscando ainda obter a máxima eficiência na adequação dos efluentes à legislação e diminuir o problema da poluição hídrica, estudos recentes indicam que tratamentos auxiliares podem ajudar na remoção de contaminantes e o uso de nanomateriais baseados em óxidos de ferro tem sido sugerido como uma alternativa ambientalmente correta para o tratamento de águas residuais (SILVA; PINEDAB; BERGAMASCOA, 2015).

A utilização de nanopartículas a base de óxido de ferro vem sendo considerada promissora, pois apresentam um baixo custo (quando na forma natural ou sintética), alta estabilidade, não apresentam toxicidade ao meio ambiente, tem alta capacidade de adsorção de poluentes e apresentam diversas formas de utilização, devido à possibilidade de recobrir sua superfície com polímeros ou moléculas (MATEI *et al.*, 2011; TEIXEIRA *et al.*, 2012).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi analisar a capacidade de sete linhagens do gênero *Pleurotus* na degradação do corante azul de metileno, com o intuito de selecionar três linhagens para a realização de testes com a vinhaça em tratamentos com concentração de 25% e 100% com e sem ajuste de pH. Além disso, a linhagem fúngica que apresentou os melhores resultados de remediação da vinhaça foi avaliada em conjunto com nanopartícula δ -FeOOH na tentativa de potencializar a ação desse fungo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Setor Sucroalcooleiro

O cultivo da cana de açúcar está presente desde a colonização do Brasil, mas o auge da cultura veio em decorrência da necessidade de produção de álcool devido a crise do petróleo em 1970, época em que o valor do barril importado pelo Brasil passou de US\$ 3,00 para US\$ 12,00 (CARVALHO *et al.*, 2013). Depois dessa crise, ficou claro que o Brasil não poderia depender exclusivamente do petróleo como fonte de energia, e assim, o álcool passou a representar uma fonte energética que poderia satisfazer as necessidades do país naquele momento, sendo que vários incentivos foram criados com a finalidade de que produtores investissem na produção do álcool.

Dessa forma, em resposta a crise vivida naquele momento histórico, o Brasil lançou o decreto nº 76.593 no dia 14 de novembro de 1975 que instituiu o Programa Nacional do Álcool – Proálcool, que foi criado com intuito de incentivar a produção e atender as necessidades internas e externas do mercado (CARVALHO *et al.*, 2013). Essa foi à primeira estratégia brasileira utilizada para o desenvolvimento de uma fonte alternativa de energia no país.

Dessa forma, as plantações de cana de açúcar no território brasileiro passaram a ocupar em 2015 cerca de 11 milhões de hectares, sendo 91% desses hectares plantados na região centro-sul do país. Segundo dados da ÚNICA (União da Indústria de cana de açúcar), atualmente a matriz energética brasileira é composta por 44% de fontes renováveis de energia e os produtos derivados da produção de cana de açúcar representam 15,7% da oferta de energia gerada, sendo o etanol um dos responsáveis pelo crescimento das fontes alternativas no país.

No último relatório divulgado pela ÚNICA sobre a safra 2016\2017, a quantidade de cana de açúcar processada na região Centro-Sul na 2ª quinzena de março havia alcançado 7,96 milhões de toneladas e o volume fabricado de etanol alcançou 326,89 milhões de litros, em que 81,41 milhões de litros são de etanol e 245,49 milhões de litros são de álcool hidratado. Sendo assim, o Brasil continua aumentando a sua produção de álcool e esse aumento, gera a necessidade de estudos voltados para destinação adequada dos subprodutos gerados nesse setor.

2.2 Características da Vinhaça

O processamento da cana de açúcar nas usinas e destilarias de produção de açúcar e álcool produz diversos resíduos, e entre eles, o com maior representatividade é a vinhaça, que é um subproduto com elevado teor orgânico e com uma produção de milhões de litros por ano, sendo gerados aproximadamente 15 litros de vinhaça por litro de etanol processado (SPADOTTO, 2008; LIMA, *et al.* 2016).

A vinhaça é um subproduto líquido constituído de água e matéria orgânica na forma de ácidos orgânicos. As características e riquezas desse material variam de acordo com o processo de fermentação sofrido (SARTORI, 2011) e dessa forma, as características físicas e químicas podem variar conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1- Características físicas e químicas da Vinhaça.

| Parâmetro | Melaço | Caldo | Misto |
|---|-----------------|-----------------|---------------|
| pH | 4,2 – 5,0 | 3,7 – 4,6 | 4,4 – 4,6 |
| Temperatura (°C) | 80 – 100 | 80 – 100 | 80 – 100 |
| DBO (mg.L ⁻¹ O ₂) | 25.000 | 6.000 – 16.500 | 19.800 |
| DQO (mg.L ⁻¹ O ₂) | 65.000 | 15.000 – 33.000 | 45.000 |
| Sólidos totais (mg.L ⁻¹) | 81.500 | 23.700 | 52.700 |
| Sólidos voláteis (mg.L ⁻¹) | 60.000 | 20.000 | 40.000 |
| Sólidos fixos (mg.L ⁻¹) | 21.500 | 3.700 | 12.700 |
| Nitrogênio (mg.L ⁻¹ N) | 450 – 1610 | 150 – 700 | 480 – 710 |
| Fósforo (mg.L ⁻¹ P ₂ O ₅) | 100 – 290 | 10 – 210 | 9 – 200 |
| Potássio (mg.L ⁻¹ K ₂ O) | 3.740 – 7.830 | 1.200 – 2.100 | 3.340 – 4.600 |
| Cálcio (mg.L ⁻¹ CaO) | 450 – 5.180 | 130 – 1.540 | 1.130 – 4.570 |
| Magnésio (mg.L ⁻¹ MgO) | 420 – 1520 | 200 – 490 | 580 – 700 |
| Sulfato (mg.L ⁻¹ SO ₄) | 6.400 | 600-760 | 3.700 – 3.730 |
| Carbono (mg.L ⁻¹ C) | 11.200 – 22.900 | 5700 – 13.400 | 8700 – 12.100 |
| Relação C\N (mg.L ⁻¹) | 16 - 16,27 | 19,7 – 21,07 | 16,4 – 16,43 |
| Matéria Orgânica (mg.L ⁻¹) | 63.400 | 19.500 | 3.800 |
| Substâncias redutoras (mg.L ⁻¹) | 9.500 | 7.900 | 8.300 |

Fonte: Adaptado de Marques (2006).

Segundo Freire e Cortez (2000) e Rebelato, Madaleno e Rodrigues (2013), a vinhaça é rica em potássio, podendo apresentar outros elementos como Ca e Mg. Além disso, a sua concentração de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio) tem um poder poluente cerca de 100 vezes maior que o esgoto doméstico.

A vinhaça apresenta coloração escura devido a presença de compostos de alto peso molecular como as melanoidinas que são gerados durante a fermentação, pH em torno de 3,7 a 4,5, além de possuir potencial corrosivo devido ao ácido sulfúrico empregado nas domas de fermentação, podendo apresentar após a destilação temperaturas em torno de 107° C (NETO, 2008; NICOCHELLI, 2011).

Com o aumento na produção de álcool ocorrido nos últimos anos, as indústrias tiveram que buscar novas destinações à vinhaça, e a fertirrigação passou a ser adotada por ser uma disposição de baixo custo com a possibilidade de se aproveitar o potencial de fertilização do solo (NICOCHELLI, 2011). Entretanto, ressalta-se que essa utilização deve ser realizada com cautela, pois pode gerar possíveis problemas ambientais como poluição do solo e de cursos d'água (SPADOTTO, 2008).

Estudos cada vez mais inovadores surgem apontando alternativas de tratamento que reduzam a concentração da matéria orgânica contida na vinhaça, a fim de ampliar possíveis utilizações em plantios diversos, descarte no solo, fonte de energia, dentre outras disposições finais. A utilização de fungos no tratamento da vinhaça entra nesse contexto, visto que algumas espécies possuem a capacidade de reduzir essa carga orgânica (FERREIRA, 2009; SARTORI, 2011; DA SILVA; SILVA; OLIVEIRA, 2015).

2.3 Generalidades sobre os fungos

Os fungos constituem um grupo de organismos heterotróficos e aclorofilados, que podem ser unicelulares ou multicelulares. Esses microrganismos são biodegradadores naturais que possuem digestão absorptiva, pois excretam enzimas específicas para o meio em que estão em contato, e em seguida quebram as macromoléculas orgânicas em unidades menores, absorvendo-as (PUTZKE, PUTZKE 2002; TORTORA; FUNKE, CASE, 2012;).

Os fungos realizam um papel essencial no processo de decomposição de compostos orgânicos, sendo responsáveis por reciclar o carbono presente no ambiente. Esses microrganismos são capazes de degradar componentes da madeira, como celulose e lignina, utilizando-os como fonte de energia (SANTOS, 2011).

Segundo Blackwell *et al.* (2012), esses microrganismos são divididos em sete filos: Basidiomycota, Ascomycota, Glomeromycota, Zigomycota, Blastocladiomycota, Chytridiomycota e Neocallimastigomycota. O tipo de fungo mais comum em processos de biorremediação de efluentes são os do filo Basidiomycota ou, também, chamados de fungos basidiomicetos, popularmente conhecidos como cogumelos (MOREIRA NETO *et al.*, 2013).

2.4 Fungos do gênero *Pleurotus*

O gênero *Pleurotus* popularmente conhecidos como cogumelos ostra, pertence ao grupo dos basidiomicetos e possui aproximadamente 40 espécies sendo todas elas comestíveis (RANZANI; STURION; 2000; OBODAI; CLELAND-OKINE; VOWOTOR, 2003; RAMPINELLI, 2009).

Esse gênero é caracterizado por apresentar organismos que são decompositores primários, comuns em troncos de madeira e resíduos vegetais. Esses fungos crescem em temperaturas ótimas próximas de 25°C, o que é comum em lugares onde o clima é tropical (ZADRAZIL; KURTZMAN, 1984; PUTZKE; PUTZKE, 2002).

Outra característica interessante desse grupo está relacionada ao seu rápido crescimento, que não exige muito controle acerca do ambiente no qual será cultivado (FAN; SOCCOL, 2000), sendo extremamente versáteis, porque possuem enzimas como peroxidases e lacasses, que apresentam capacidade de degradação para uma variedade significativa de compostos (COHEN; PERSKY; HADAR, 2002).

O cultivo desse gênero evidencia duas fases do fungo: a fase vegetativa que corresponde à colonização do substrato e a fase reprodutiva onde são observados os corpos de frutificação e a liberação dos esporos, que são as estruturas de reprodução (PEDROSO, 2003).

Tendo em vista as características presentes neste grupo, a sua utilização em tratamentos de biorremediação, degradação de poluentes ambientais, bem como em tratamentos de efluentes industriais vem sendo avaliada em alguns estudos, pois os fungos desse gênero são considerados bons degradadores e eficientes na descoloração de corantes provenientes de indústrias têxteis, alimentícias e farmacêuticas (GERN, 2005; KAMIDA *et al.* 2005; SOUZA, ROSADO, 2009; FERREIRA, 2009).

2.5 Nanopartículas de Ferro

A utilização de nanomateriais vem sendo mencionada nos últimos anos como uma alternativa promissora para o tratamento de efluentes industriais, principalmente os com base de óxidos de ferro, pois oferecem um custo inferior se comparado a outros compostos, alta estabilidade, não apresentam efeitos negativos ao meio ambiente, tem uma elevada capacidade de adsorção de poluentes e podem ser utilizados de diversas formas, devido à possibilidade de recobrir sua superfície com polímeros ou moléculas (MATEI *et al.*, 2011; TEIXEIRA *et al.*, 2012).

Existe uma infinidade de compostos que são classificados como nanomateriais, e dentre eles, os óxidos de ferro, possuem como base, a hematita, magnetita e maghemita. Esses óxidos também podem apresentar-se como hidróxidos de ferro e óxi-hidróxidos de ferro que são compostos que apresentam ferro juntamente com O e/ou OH em sua composição (SILVA; PINEDAB; BERGAMASCOA, 2015). SILVAAs características das nanopartículas estão diretamente relacionadas com as morfologias e com as dimensões das estruturas que podem variar de 1 a 100 nm, e dessa forma, os materiais nanoestruturados apresentam comportamento e propriedades diferentes quando comparadas aos materiais no estado normal (OLIVEIRA; FABRIS; PEREIRA, 2013).

A utilização de óxidos de ferro em tratamento de águas residuais pode apresentar dois objetivos: O primeiro voltado à adsorção ou imobilização de poluentes e o segundo como catalisador para transformar contaminantes em compostos menos tóxicos.

O processo com o objetivo de adsorção vem sendo realizado para remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos em grande volume de água e com separação rápida por meio de campos magnéticos externos (GONÇALVES *et al.*, 2009; CASTRO *et al.*, 2009).

No processo de adsorção de efluentes líquidos alguns poluentes orgânicos adsorvidos podem não ser decompostos, sendo apenas retirados de um meio aquoso e transportados á outra fase, e dentro desse contexto alguns processos oxidativos avançados também utilizam os óxidos de ferro como catalisadores no processo de remediação ambiental (OLIVEIRA; FABRIS, PEREIRA, 2013).

Dessa forma, pode-se observar algumas vantagens na utilização de processos a base de nanomateriais, sendo interessante a realização de estudos a fim de avaliar o potencial que existe na utilização desses compostos da remediação de vários efluentes, incluindo a vinhaça.

REFERÊNCIAS

- BLACKWELL, M. *et al.* **Fungi. Eumycota: mushrooms, sac fungi, yeast, molds, rusts, smuts, etc.** Version 30 January, 2012. Disponível em: <<http://tolweb.org/Fungi/2377/20120130inTheTreeofLifeWebProject>, <http://tolweb.org/>>. Acesso em: 20 de junho 2017.
- CARVALHO, L. C. *et al.* Cana de açúcar e Álcool Combustível: Histórico, Sustentabilidade e Segurança Energética. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 530, 2013.
- CASTRO, C.S.; GUERREIRO, M.C.; OLIVEIRA, L.C.A.; GONÇALVES, M. ; ANASTÁCIO, A.S.; NAZZARRO, M. . Iron oxide dispersed over activated carbon: Support influence on the oxidation of the model molecule methylene blue. **Applied Catalysis**. v. 367, p. 53-58, 2009.
- COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wooddegrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**. Berlin, v. 58, p. 582-594, 2002.
- DA SILVA, L. M.; SILVA, A. E.; OLIVEIRA, M. T. Avaliação inicial do potencial de *Pleurotus eryngii* na bioremediação da vinhaça. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**. Paraná, v. 10, n. 2, p. 14-20, 2015.
- ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUSC, v.2,2010.
- FAN, L.; SOCCOL, C. R.; PANDEY, A. Produção de cogumelo comestível *Pleurotus* em casca de café e avaliação do grau de detoxificação do substrato. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas: [s.n.], 2000. p. 687-670. Disponível em:< [http:// www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/697/155537_Art179f.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/697/155537_Art179f.pdf?sequence=1&isAllowed=y)> . Acesso em: 14 de Maio 2017.
- FARIA, M. C S.; ROSEMBERG *et al.* Arsenic removal from contaminated water by ultrafine δ -FeOOH adsorbents. **Chemical Engineering Journal**. v.237, p. 47-54,2014. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.10.006>.
- FERREIRA, L. F. R. **Biodegradação de vinhaça proveniente do processo industrial de cana de açúcar por fungos**. 2009. 134p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.
- FREIRE, W. J.; CORTEZ, L. A. B. **Vinhaça de cana de açúcar**. Livraria e Editora Agropecuária. Guaíba, 2000. 203 p.
- GERN, R. M. M. **Estudo de Meios de Cultivo para Produção de Biomassa e Polissacarídeos por *Pleurotus ostreatus* DSM 1833 em cultivo submerso**. 2005. 137p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicas da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, v. 8,

n. 34, 2005. Disponível em:<<http://www1.esb.Ucp.pt/twt/olimpiadasbio07/MyFiles/MyAutoSiteFiles/FontesInformacao253906202/samorais/Biorremediacao.pdf>>. Acesso em: 10 Junho 2017.

GONÇALVES, M.; DE CASTRO, C. S.; OLIVEIRA, L. C. A.; GUERREIRO, M. C. Síntese e caracterização de nanopartículas de óxido de ferro suportadas em matriz carbonácea: remoção do corante orgânico azul de metileno em água. **Química Nova**, v. 32, p. 1723-1726, 2009.

KAMIDA, H. M. *et al.* Biodegradação de Efluente Têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**. São Paulo, v. 28, n. 4, p. 629-632, 2005. Disponível em:< <http://www.Scielo.br/pdf/qn/v28n4/25109.pdf>>. Acesso em 22 julho 2017.

LIMA, A. L. *et al.* Revisão sobre a toxicidade e impactos ambientais relacionados à vinhaça, efluente da indústria sucroalcooleira. **Cadernos UniFOA**. Volta Redonda, n. 32, p. 27-34, 2016.

MARQUES, M. O. Aspectos técnicos e legais da produção, transporte e aplicação de vinhaça. **Atualização em produção de cana de açúcar**. Piracicaba, n. 2, p. 369-375, 2006.

MATEI, E.; PREDESCU, A.; VASILE, E.; PREDESCU, A.; J. PHYS. Properties of magnetic iron oxides used as materials for wastewater treatment. **Journal of Physics: Conference Series**. v.304, p.1-10, 2011.

MOREIRA NETO, S. *et al.* Descolorization of salt-alkaline effluent with industrial reactive dyes by lacases- producing Basidiomycetes strains. **Letters in Applied Microbiology**. v.56, p.283-290, 2013.

NASCIMENTO, C. R. S. D.; NASCIMENTO, C. R. S. **Avaliação do potencial de Descoloração e Detoxificação de Corantes Utilizados em Indústria Têxtil por Fungos Isolados de Sedimento do Parque Nacional da Serra da Capivara (PI)**. 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

NETO, J. A. L. **Monitoramento de componentes químicos da vinhaça aplicados em diferentes tipos de solo**. 2008. 89.p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

NICOHELLI, L. M. **Sorção ao potássio de diferentes materiais submetidos à aplicação de vinhaça**. 2011. 82.p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2011.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K. A. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on diferente lignocellulosic by-productes. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. Estados Unidos da America, v. 30, p. 146-19, 2003.

OLIVEIRA, L. C. A.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C. Óxidos de ferro e suas aplicações em processos catalíticos: uma revisão. **Química Nova**. v.36, p.123-130, 2013.

PEDROSO, A.L. **Produção de *Pleurotus spp* em resíduo da Indústria do cigarro e avaliação do substrato exaurido**. 2003.103.p . Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos Fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, v. 2, 2002.

RAMPINELLI, J. R. **Produção de *Pleurotus Djamor* e Avaliação do seu Potencial nutricional**. 2009. 124.p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimento) -Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

RANZANI, M. R.; STURION, G. L. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil *Pleurotus spp* e outras espécies desidratadas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, p. 102-108, 2000.

REBELATO, M. G; MADALENO, L. L; RODRIGUES, A. M. Ponderação do impacto ambiental dos resíduos e subprodutos da produção industrial sucroenergética. **Revista Gestão Industrial**. Paraná, v. 9, n. 2, p. 392-415, 2013. Disponível em:<<https://periodicos.u tfpr.edu.br/revistagi/article/view/1506/1026>>. Acesso em: 02 de junho 2017.

REIS, M. C. **Avaliação da Vinhaça De Cana De Açúcar Para Produção de Hidrogênio em Reator a Anaeróbio de Leito Fluidizado em Condição Mesofílica: Efeito de Co-Substrato, TDH e Concentração**. 2014. 143.p. Tese (Doutorado em Química) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

SARTORI, S. B. **Atividade enzimática e valores nutricionais de *Pleurotus spp*. Cultivados em vinhaça**. 2011. 109.p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2011.

SANTOS, J. R. D. P. **Potencial de degradação de resíduos por *Pleurotus ssp***, Piracicaba. 2014. 111.p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2011.

SILVA, J. H.; MONTEIRO, R. T. R. Degradação de xenobióticos por fungos filamentosos isolados de areia fenólica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v. 24, p. 669-674, 2000. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v24n3/19.pdf>>. Acesso em: 02 de maio 2017.

SILVA, M. F.; PINEDAB, E. A. G.; BERGAMASCOA, R. Aplicação de óxidos de ferro nanoestruturados como adsorventes e fotocatalisadores na remoção de poluentes de águas residuais. **Química Nova**. v.38, n.3, p.393-398, 2015. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150008>.

SOARES, C. H. L. **Estudos Mecanísticos de degradação de efluentes de indústria de papel e celulose por fungos basidiomicetos degradadores de madeira**. 1998. 132.p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

SOARES, I. A *et al.* Fungos na Biorremediação de Áreas Degradadas. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 78, n. 2, p. 341-350, 2011.

SOUZA, A. F.; ROSADO, F. R. Utilização de Fungos Basidiomicetes em Biodegradação de Efluentes Têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**. Maringá, v. 2, p. 121-139, 2009.

SPADOTTO, C. A. **Gestão de Resíduos: realizações e desafios no setor sucroalcooleiro**. 2008. Disponível em: <http://webmail.cnpma.embrapa.br/down_hp/360.pdf>. Acesso 15 de maio 2017.

TEIXEIRA, A. P. C. *et al.* M. Iron: a versatile element to produce materials for environmental applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.23, p.1579-1593, 2012.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R. CASE, C. L **Microbiologia**. 10 ed.: Artmed, v.1, 2012.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA DE AÇÚCAR – ÚNICA. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://www.portalunica.com.br>>. Acesso em: 04 de julho 2017.

ZADRAZIL, F.; KURTZMAN, R. H. The Biology of Pleurotus Cultivation in the Tropics. In: CHANG SHU-TING, T.H.Q. **Tropical Mushrooms: Biological Nature & Cultivation Methods**. Hong Kong: [s.n.], 1984. cap. 15, p. 493.2017.

CAPITULO 2

Degradação do corante azul de metileno por linhagens de *Pleurotus* sp. com potencial aplicação em processos de biorremediação

RESUMO

Os fungos têm uma grande capacidade para produzir enzimas que são capazes de degradar compostos. De acordo com esse fato, os corantes solúveis são frequentemente utilizados como maneira de avaliação e seleção de linhagens com potencial de biodegradação. O presente estudo verificou a capacidade de linhagens de *Pleurotus* sp. na degradação do corante azul de metileno, a fim de identificar linhagens com potencial para processos de biorremediação. Desse modo, um total de sete linhagens de *Pleurotus* sp. foram cultivadas em meio líquido de batata com o corante azul de metileno nas concentrações de 0,02 g.L⁻¹ e 0,04 g.L⁻¹. Os resultados das absorvâncias mostraram que todas as linhagens foram visivelmente capazes de reduzir a coloração do meio, após sete dias de crescimento fúngico. Observou-se ainda, uma redução de aproximadamente 80% na coloração para as linhagens denominadas ERY, HI e SB em comparação com o controle. Assim, foi possível constatar que essas linhagens podem ser utilizadas em bioprocessos de remoção de cor e na biodegradação de compostos poluentes.

Palavras-Chave: Absorbância, Descoloração, Fungo.

The degradation of methylene blue dye by the strains of *Pleurotus* sp. with potential applications in bioremediation processes

ABSTRACT

Fungi have a large capacity to produce enzymes that are capable of degrading compounds. In this regard, soluble dyes are often used as a means of evaluating and selecting strains with potential for biodegradation. The present study verified the capacity of the strains of *Pleurotus* sp. in degrading methylene blue dye, in order to identify the strains with potential for the bioremediation. For this reason, a total of seven strains of *Pleurotus* sp. were grown in a potato liquid medium with the methylene blue dye at the concentrations of 0.02 g.L⁻¹ and 0.04 g.L⁻¹. The results of the absorbances showed that all the isolates were visibly able to reduce the media staining, following seven days of growth. However, a reduction of approximately 80% in the staining was observed for the strains named ERY, HI, and SB compared to the control. Thus, it was observed that in this way, these strains could be used in the color removal bioprocesses and in the biodegradation of pollutant compounds.

Keywords: Absorbance, Discoloration, Fungi.

1. INTRODUCTION

In the different cities of Brazil, environmental pollution is directly related to the disorderly growth of the urban population and the lack of basic sanitation. The improper dumping of toxic effluents into the rivers has made them the large deposits of toxic metals and other substances that are difficult to degrade. Due to this situation, there is a need to restore these ecosystems through planned interferences, rebuild their structures, and create conditions for restoring the natural ecological processes of each environment (SOARES *et al.*, 1998).

One of the alternatives to this problem is the use of the bioremediation processes, which are the treatments performed through the use of living organisms, efficient and adequate in the process of minimization or even in the complete elimination of pollutants in the impacted environment. Several organisms can be used as bioremediation agents in the environment, depending mainly on the presence of the microorganisms, capable of metabolizing the original molecules and the products of their degradation (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

The fungi are a group of promising microorganisms for studies and also for application as bioremediation agents since they present a series of economic, ecological, and potential characteristics to degrade recalcitrant compounds through their enzymatic systems (ATAGANA; HAYNES; WALLEES, 2006). Compared to the other microorganisms, the use of the fungi in the bioremediation processes is highly viable because they are able to rapidly adapt their metabolism to the different sources of carbon to produce a large amount of intracellular and extracellular enzymes, responsible for the degradation, mineralization, and accumulation of the toxic materials (KAMIDA *et al.*, 2005).

In addition to these factors, the fungi have a mode of growth that is chemostatically induced toward the source of organic carbon through the elongation and branching of hyphae, which allow the colonization of large areas. Thus, the superficial contacts with the contaminants are optimized, thereby increasing their bioavailability and consequently, their biodegradation (CHANDER; ARORA; BATH, *et al.*, 2004).

Considering the characteristics presented by these organisms, the studies in the area of biotechnology indicate that the strains of *Pleurotus* sp. have a high potential as an agent in the recovery of environments, contaminated by a variety of recalcitrant compounds (ZHUO *et al.*, 2017). The fungi produce a high amount of mycelial mass and are considered good biosorbents due to the chemical composition of their cell walls and the mechanisms of

their resistance to the conditions of environmental stress (BURATTO; COSTA; FERREIRA, et al., 2012). The chemical composition of the cell walls of the fungi is responsible for attracting and retaining metals in the fungal biomass through the electrostatic interactions-a process known as biosorption (GUPTA; RASTOGI, 2009).

Due to the high degradative potential and the mechanisms of resistance under adverse environmental conditions, the use of the filamentous fungi and their metabolites has grown in recent years (SANTANA *et al.*, 2016). In this regards, the use of the dyes, mainly methylene blue as a selection method, for identification of the lignolytic activity and the degradation capacity offers several benefits, including the development of simple, rapid, and quantitative spectrometric methods. Besides, dyes do not hinder the growth of organisms and their polymeric nature ensures that their degradation occurs extracellularly, at least in the initial stages (SILVA; MONTEIRO, 2000).

Therefore, this work verified the capacity of the isolates of *Pleurotus* sp. in degrading methylene blue dye, in order to identify some of the strains with potential for the bioremediation processes.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 The isolation and maintenance of the strains of *Pleurotus* sp.

For the realization of the experiments, a total of seven strains of the fungi, *belonging* to the genus *Pleurotus* were analyzed. A total of four strains were obtained from the *in natura* species, commercialized in the supermarkets of Belo Horizonte-MG and were named P1, P2, P3, and P4. For the isolation of the fungal mycelia from these mushrooms, acquired in the supermarkets, fragments were extracted from the inner parts of the fungi and were isolated in Petri dishes, containing the potato dextrose agar (PDA) medium, previously sterilized in an autoclave at 121°C for 20 min, followed by the addition of 50 µg.mL⁻¹ of ampicillin.

The other three strains, obtained from the Microorganisms Genetics Laboratory at the State University of Londrina, Londrina, PR, Brazil were identified as *Pleurotus eryngii* (ERY) and *Pleurotus ostreatus* (HI and SB).

The plates, containing the strains of *Pleurotus* sp. were kept at 28 °C until the medium surface was completely colonized by the fungal mycelia. Subsequently, all the strains were kept in a refrigerator at 4°C and were periodically tested for maintenance.

2.2 The growth of the fungi in the liquid medium

The potato dextrose (PD) liquid medium was used for the growth of the fungal strains. After the preparation, an aliquot of 3 mL of the liquid culture medium was transferred into test tubes and autoclaved at 121 °C for 20 min.

For each of the isolates of *Pleurotus* sp., a disk of 1 cm in diameter was removed from the mycelia, growing in the solid medium and inoculated into test tubes, each containing 3 mL of the PD liquid medium. Subsequently, the test tubes, containing the samples were incubated in a static incubator at 28 °C for seven days.

2.3 The preparation of the culture medium containing the methylene blue dye

Using the PD culture medium, the experiments were performed by giving two treatments with the methylene blue dye at the concentrations of 0.02 g.L⁻¹ and 0.04 g.L⁻¹, chosen according to Babá, Rosado and Zonetti et al. (2009). Also, the PD control medium was prepared without the addition of the dye.

The solutions were prepared in 250 mL Erlenmeyer flasks, followed by the distribution of 100 mL of the PD liquid medium and the addition of the methylene blue dye at the different concentrations of g.L⁻¹ and 0.04 g.L⁻¹. All the solutions were autoclaved at 121°C for 20 min. After sterilization, each Erlenmeyer flask received 3 mL of the liquid culture medium, previously inoculated with the seven strains of *Pleurotus* sp., prepared in the test tubes as described above. All the treatments were performed in triplicate.

After this procedure, the flasks were incubated in an orbital incubator at 110 rpm for seven days at 28 °C.

2.4 The evaluation of the mycelial growth

The growth of the fungal biomass was evaluated by the filtration of the treatments, using a funnel and Whatman N1 filter papers, weighed initially. After the procedure, the filter papers with the mycelial mass from each of the isolates were kept in a static incubator at 60°C until a constant weight was reached. Subsequently, the fungal mycelia were measured in an analytical balance and their masses were expressed in grams.

2.5 The evaluation of the degradation of the methylene blue dye

The supernatants from each of the seven isolates were evaluated by reading their absorbances on a spectrophotometer at a wavelength of 520 nm. The absorbances of each of the final solutions, inoculated with the fungal strains were compared to their respective initial solutions without the fungal inoculation, resulting in the percentage of degradation of the dye for each of the fungal isolates.

2.6 Statistical analysis

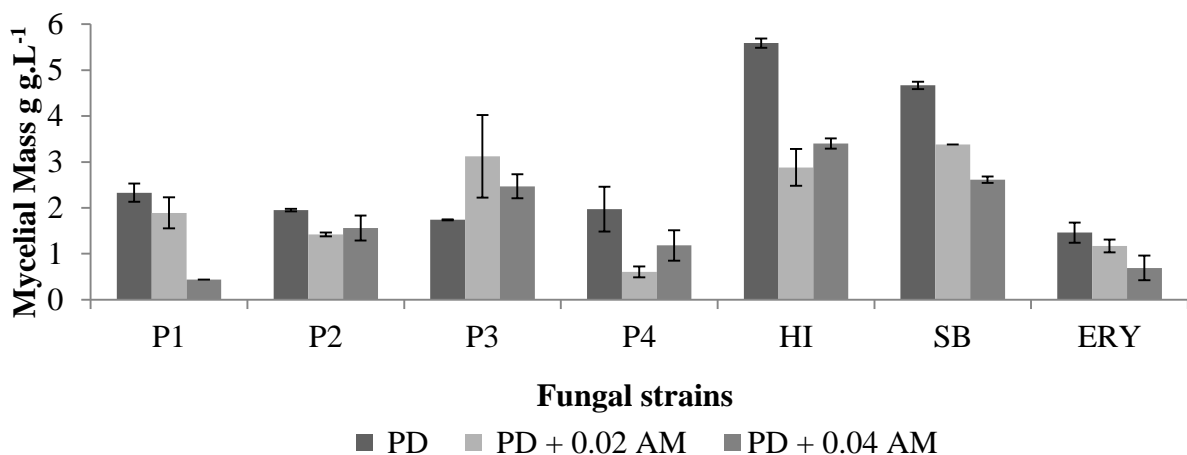
All the statistical analyses were performed using the SPSS software version 2.1. The statistical methods used were ANOVA, followed by Tukey's test at the 5% level of significance.

3. RESULTS AND DISCUSSION

It was observed that all the isolates of *Pleurotus* sp. were able to grow at the different concentrations of the methylene blue dye (Figure 1).

The strains of *Pleurotus* sp. have the capacity to produce a significant amount of mycelial mass because of their efficiency and being one of the most cultivated fungi, they have extensive applicability in the biological processes. The fungi are able to grow in different media due to their ability to secrete enzymes to absorb the nutrients, necessary for their development (BURATO *et al.*, 2012).

Figure 1 - Mycelial mass production by the seven *Pleurotus* strains (P1, P2, P3, P4, HI, SB, ERY) after seven days of incubation at 28 °C under agitation in the medium without addition of methylene blue dye (PD); in the medium with the addition of 0.02 g L⁻¹ of methylene blue (PD + 0.02 g.L⁻¹AM); and in the medium with the addition of 0.04 g.L⁻¹ of the methylene blue (PD + 0.04 g.L⁻¹AM).



The analysis of the production of fungal mycelial mass (Figure 1) showed that except for isolate P3, almost all the isolates in the solution with the PD medium were able to produce a higher mycelial mass compared to the other solutions. Such a good development of the isolates in the PD medium can be attributed to the fact that the medium was composed of only glucose and potato, thereby generating a high capacity of development for the strains and becoming ideal for their growth. However, the addition of the dye resulted in a lower development of the fungi due to their necessity of expending energy for the degradation of this compound (CONFORTIN *et al.*, 2008).

In the solution with the PD medium, only strain P3 presented the lowest mycelial mass average, compared to the other solutions. However, as shown by Tukey's test at the 5% level of probability in Table 1, this value did not differ significantly from the results of the P1, P2, P4, and ERY strains for this treatment.

Table 1 - Production of Mycelial Mass (g.L^{-1}) presented by *Pleurotus* strains (P1, P2, P3, P4, HI, SB, ERY) for the treatments in the medium without addition of the methylene blue (PD); in the medium with the addition of 0.02 g.L^{-1} of methylene blue (PD + AM 0.02 g.L^{-1}); and in the medium with the addition of 0.04 g.L^{-1} of the methylene blue dye (PD + AM 0.04 g.L^{-1}).

| Treatments | Fungal Strains | | | | | | |
|------------|----------------|----------|----------|---------|---------|--------|-----------|
| | P1 | P2 | P3 | P4 | HI | SB | ERY |
| PD | 2.34 bA | 1.95 bA | 1.74 bB | 1.97 bA | 5.59 aA | 4.68aA | 1.46 bA |
| PD+AM 0.02 | 1.90 bA | 1.42 bcA | 3.13 aA | 0.65 cB | 2.89 aB | 3.38aB | 1.17 bcAB |
| PD+AM 0.04 | 0.44 dB | 1.56 bcA | 2.47abAB | 1.19cdB | 3.40 aB | 2.61aC | 0.69 cdB |

Equal lowercase letters in the same row and upper case in the same column indicate averages with no statistical difference for Tukey's HSD^{ab} test at the 5% level of significance ($p < 0.05$).

Among the seven strains of *Pleurotus* sp., the isolates HI and SB were the ones that presented more extensive mycelial mass averages for the treatment of the PD medium, reaching 5.59 g.L^{-1} and 4.68 g.L^{-1} , respectively. The same fungal strains, when grown at the different concentrations of the methylene blue dye had a higher production of mycelial mass, relative to the other strains and when compared to each other, the behavior of these two isolates presented mycelial mass averages without statistically significant differences, thereby indicating a good development of these two isolates in the treatments tested.

However, the analysis of the behavior of these strains in the solutions revealed that the strain HI showed a statistically equal growth between the two treatments with the methylene blue dye, indicating that regardless of the concentration, the mass averages are statistically the same for this strain, that differed from the SB strain, presenting a distinct

growth in the different treatments with its highest mycelial mass being found in the solution containing 0.02 g.L^{-1} of the methylene blue dye.

The analysis of the mycelial growth of the strains in the treatment with 0.02 g.L^{-1} and 0.04 g.L^{-1} of the methylene blue dye showed that the isolate P3 did not present statistically significant differences with the isolates HI and SB and that only in the treatment with a higher concentration of the dye, strain P3 presented a mycelial mass average without any statistically significant difference from strain P2.

During the treatments with the methylene blue dye, the behavior of strain P3 showed that in the two concentrations of the dye, the growth was also statistically equal, indicating a good development of the strain in both the treatments. Table 2 shows that the lowest mass averages were found for fungal strains P1, P2, P4, and ERY in the treatments with 0.02 g.L^{-1} and 0.04 g.L^{-1} of the dye, and only isolate P1 presented a decline in growth between the two treatments with a statistically significant difference. Thus, among the fungal strains studied, isolates HI, SB, and P3 stood out in relation to the production of mycelial mass.

In our study, it was noticed that the mycelial growth of the strains varied with the increasing concentrations of the dye, showing that each strain presents a different behavior in relation to its growth, varying not only with the characteristics of the culture medium but also with the characteristics of the individual species.

The analysis of the absorbances, described in Figure 2 and Figure 3 demonstrated that all the isolates were visibly able to reduce the color of the medium, following seven days of growth, thus corroborating with the results obtained by Babá, Rosado and Zonetti et al. (2009). Through a visual analysis in that study, the color was observed to decrease when the PD culture medium, containing the methylene blue dye was inoculated with an isolate of the fungus *Pleurotus ostreatus*.

Figure 2 - The absorbance of the solutions in which the *Pleurotus* strains (P1, P2, P3, P4, HI, SB, ERY) were cultivated. The medium without addition of the methylene blue dye (PD), the medium with the addition of 0.02 g.L⁻¹ of the methylene blue (PD + 0.02 AM) and the medium with the addition of 0.04 g.L⁻¹ of the methylene blue (PD + 0.04 AM).

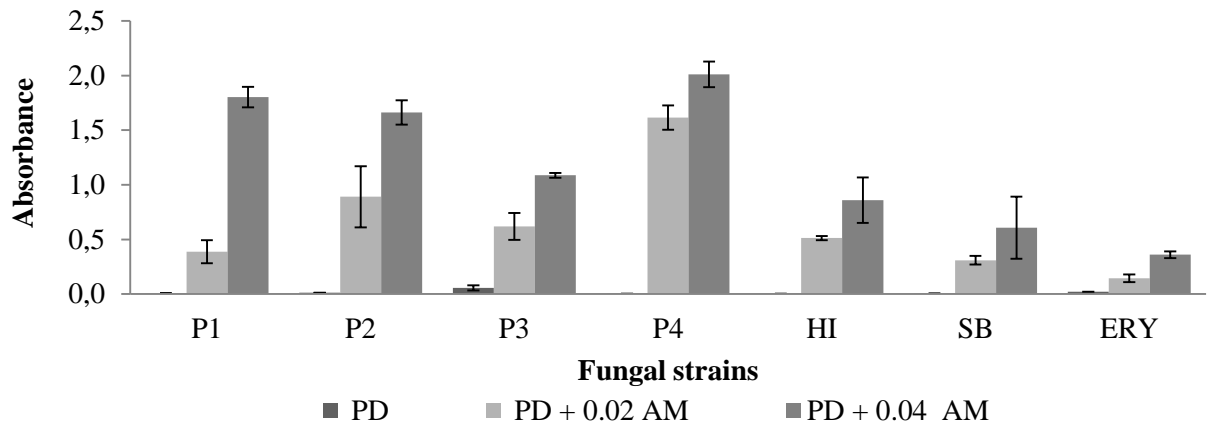
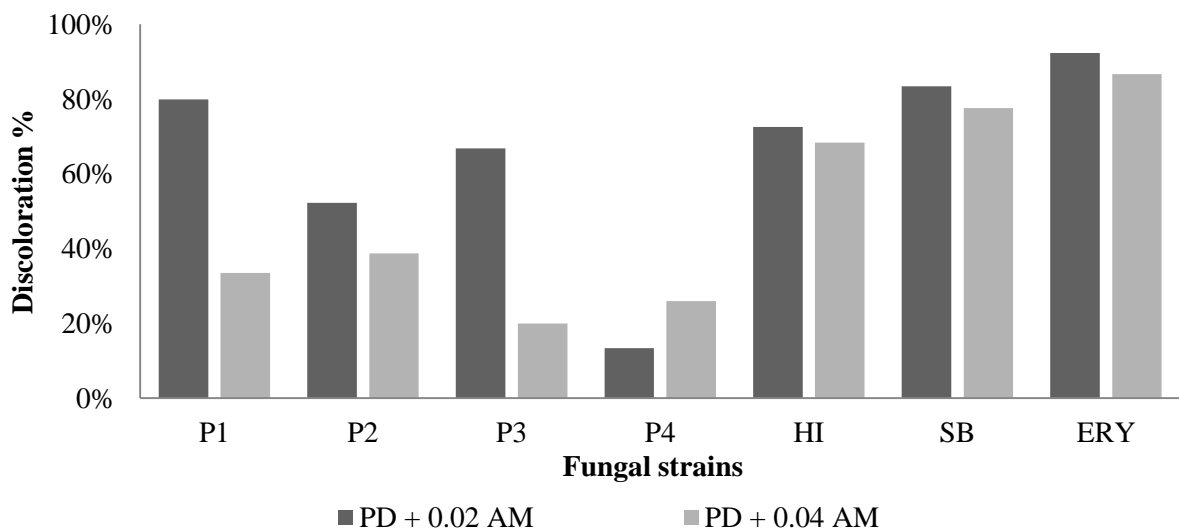


Figure 2 shows the results of the absorbances obtained for each treatment after the period of inoculation with the fungal strains. Comparing the absorbances of these treatments with their respective controls, it was possible to identify the reductions obtained for each of the solutions (Figure 3). However, only in the PD medium, the reduction in the color of the solution was not possible to verify because it was the control.

Figure 3 - Percentage reduction of the absorbance of the initial solution in which the *Pleurotus* strains (P1, P2, P3, P4, HI, SB, ERY) were cultivated. The medium with the addition of 0.02 g.L⁻¹ of the methylene blue (PD + 0.02 AM) and the medium with the addition of 0.04 g L⁻¹ of the methylene blue (Medium PD + 0.04 AM).



The values, described in Figure 2 and Figure 3 indicated the decolorizing potential of the seven strains of *Pleurotus* sp. with reductions in the color of the methylene blue dye, ranging between 13.3% and 92.3%. Figure 3 also shows that almost all the fungal isolates presented greater reductions in the absorbances of the solution at both the concentrations, indicating that these fungi present the ability to degrade this dye of the lowest concentration with the greatest efficiency. Only strain P4 presented a different behavior because it showed a higher percentage of reduction in the absorbance of the solution with the PD medium, containing 0.04 g L⁻¹ of the methylene blue dye, indicating that in this way, the metabolism of each fungal strain can develop a different capacity, in order to metabolize compounds.

Among all the fungal isolates, the ERY strain presented the best results with a 92.3% reduction in the absorbance for the treatment of the PD medium with 0.02 g L⁻¹ of the methylene blue dye and a 86.7% reduction in the absorbance for the treatment of the PD medium with 0.04 g L⁻¹ of the dye, compared to the treatments without fungal inoculation.

As shown in Table 2, the analysis of the treatment of the PD medium with 0.02 g L⁻¹ of the methylene blue dye verified that the absorbance differences among the strains ERY, SB, HI, and P1 were not statistically significant, indicating that for this treatment they exhibit a similar efficiency in the removal of the color. On the other hand, it was also observed that in the PD + AM solution, containing 0.02 g L⁻¹ of the dye, the strain P3 did not present statistically significant differences in relation to the strains SB and HI, thereby suggesting that this strain also shows a significant reduction in the color of this solution.

Table 2 - The absorbance of the *Pleurotus* strains (P1, P2, P3, P4, HI, SB, ERY) for the treatments in the medium without addition of the methylene blue dye (PD); in the medium with the addition of 0.02 g.L⁻¹ of the methylene blue (PD + AM 0.02 g.L⁻¹); and in the medium with the addition of 0.04 g L⁻¹ of the methylene blue (PD + AM 0.04 g L⁻¹).

| Treatments | Fungal Strains | | | | | | |
|------------|----------------|--------|---------|---------|---------|---------|----------|
| | P1 | P2 | P3 | P4 | HI | SB | ERY |
| PD | 0.01aA | 0.01aA | 0.06aA | 0.003aA | 0.004aA | 0.01aA | 0.02a A |
| PD+AM0.02 | 0.39bAB | 0.89cB | 0.62bcB | 1.62dB | 0.51baB | 0.31baB | 0.14a AB |
| PD+AM0.04 | 1.80dC | 1.66dC | 1.09cC | 2.01dC | 0.86bcC | 0.61baC | 0.36aB |

Equal lowercase letters in the same row and upper case in the same column indicate averages with no statistical differences for Tukey's HSD^{ab} test at the 5% level of significance (p < 0.05).

The analysis of the treatment with 0.04 g.L⁻¹ of the methylene blue dye revealed that the strain ERY presented the lowest absorbance average and consequently, the highest reduction in the color between the treatments (Table 1). The strain ERY was the only isolate

that did not present statistically significant differences between the two treatments to which it was subjected (Table 2). Some of the isolates were also seen to present a direct relationship between the growth of mycelial mass and the reduction in the absorbance, while the other isolates such as the strain ERY showed an inverse relationship.

The strains SB and HI showed statistical equality in the treatment with 0.04g.L^{-1} of the methylene blue dye with the performance of the strain SB being statistically equal to that of the strain ERY. When compared to the control treatments, the other strains showed high absorbance averages, thereby generating lower reductions in the color than these three strains.

For each isolate, the evaluation of the mean absorbances of the three treatments verified that the ERY, SB, and HI isolates presented reductions of over 60% in all the solutions. Thus they were found to be most promising for the processes of bioremediation as they presented tolerance and efficiency in the removal of the color of methylene blue dye.

Rosolen et al. (2004) also carried out an evaluation of the capacity of the two strains *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* in the degradation of the nine textile dyes, including Palanil Yellow 3G, Drimaren Yellow CL-R, Indanthren Yellow 5GF, Drimaren Red CL-5B, Indanthren Red FBB, Dispersol Red C-4G, Dispersol Blue C-2R, Drimaren Blue CL-R, and Indanthren Blue RCL. The authors verified that the above two strains were visibly able to discolor almost all the dyes, except Indanthren Red FBB, which presented a complex structure, compared to the other dyes. The rate of degradation of the dyes in this work followed the growth rate of the fungi, indicating that the percentage of removal of the color was related to the capacity of the fungi to grow, differing from the present study, where it was verified that the strains such as ERY did not present such direct relationship.

In the same work carried out by Rosolen et al. (2004), the toxicity of an effluent, containing these dyes, was tested and it was verified that the effluent treated with both the fungal strains presented a lower toxicity, indicating the efficiency of the fungal strains of the genus *Pleurotus* in the processes of removal of color and toxicity.

The data of the work carried out by Bettin et al. (2011) also corroborate with the results found in the present study, where it was possible to verify a 15–70% discoloration of the dye Reactive Blue 220, in contact with the crude enzyme extract of the fungal strain *Pleurotus sajor-caju*, suggesting that this strain presents a potential for the discoloration of the textile dyes.

In another study by Bettin et al. (2011), the dye discoloration of the chromophore groups such as anthraquinone, azo, and triphenylmethane during the growth of the *Pleurotus*

sajor-caju strain PS–2001 was tested in Petri dishes and the discoloration of the dyes was verified visually, indicating that the treatment with this fungal strain could be used in the biotechnological processes.

The fungi, belonging to the division Basidiomycetes are microorganisms with great capacities to biodegrade and mineralize diverse compounds, having the most varied structures. Among these compounds, the dyes represent a class of substances with complex chemical structures with the possibility of being broken into simpler molecules by the action of the extracellular enzymes, produced by these fungi.

The fungi of the genus *Pleurotus* have a high capacity to produce enzymes, organic acids, and other metabolites that are capable of promoting the discoloration of the dyes and agroindustrial residues. Due to their lack of substrate specificity, these enzymes are also capable of degrading a variety of xenobiotics (WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003). Furthermore, the fungi of this genus differ in the degradation ability of these substances due to the qualitative and quantitative characteristics of their individual enzymes (KAMIDA *et al.*, 2005).

In fact, the fungi of the genus *Pleurotus* are known to be good producers of the lignolytic enzymes, which are capable of oxidizing the xenobiotic compounds as well as the dyes, showing a correlation between the lignolytic enzymes and the discoloration of compounds (WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

Corroborating these findings with the present work, we can highlight the capacity of the genus *Pleurotus* in the bioremediation processes, thereby indicating the importance of the selection of isolates since strains from the same genus or even the same species can behave in different ways against environmental degradation.

4. CONCLUSIONS

The analysis of the growth of fungal biomass showed that the seven strains of *Pleurotus* sp. tested in this study are able to grow under atypical conditions with the different concentrations of the methylene blue dye, thereby indicating their potential to be used in the bioremediation processes.

The results, concerning the performance of the seven strains of *Pleurotus* sp. in the degradation of the methylene blue dye showed significant reductions in the absorbances of the solutions after the incubation period. The discoloration of both the culture media with the dye at the concentrations of 0.02 g L⁻¹ and 0.04 g L⁻¹ was successfully achieved by the

strains of *Pleurotus* sp., designated as ERY, HI, and SB with a reduction of around 80% in the absorbance.

The tests showed that despite contributing to the discoloration of the solutions tested, the amount of biomass production is not a determining factor since the strain ERY presented a lower production of mycelial mass but reached the highest values in reducing the color of the substrate containing the methylene blue dye.

5. ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

6. REFERENCES

- ATAGANA, H. I.; HAYNES, R. J.; WALLIS, F. M. Fungal Bioremediation of creosote contaminated soil: a laboratory scale bioremediation study using indigenous soil fungi. **Water Air and Soil Pollution**, Beltsville, v. 172, p. 201–219, 2006. <https://doi.org/10.1007/s11270-005-9074-x>.
- BABÁ, A. Y.; ROSADO, F. R.; ZONETTI, P. C. Biorremediação de efluentes líquidos por meio da ação de *Pleurotus* sp. In: Encontro Internacional de Produção Científica CESUMAR, 5., 27–30 2009, Paraná. **Anais...** Paraná, 2009. Disponível em: <https://www.unicesumar.edu.br/epcc-2009/wp-content/uploads/sites/77/2016/07/Adriane_yumi_baba.pdf 2009>. Acesso em: 10 de março de 2016.
- BETTIN, F. *et al.* Growth, kinetics, production, and characterization of extracellular laccases from *Pleurotus sajor-caju* PS-2001. **Process of Biochemistry**, v. 46, p. 758–764, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.12.002>.
- BURATTO, A. P.; COSTA, R. D.; FERREIRA, E. D. S. Aplicação de biomassa fúngica de *Pleurotus ostreatus* em processo de biossorção de íons cobre (II). **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Pato Branco, v. 17, p. 413–420, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522012000400008>.
- CHANDER, M.; ARORA, D. S.; BATH, H. K. Biodecolourisation of some industrial dyes by white-rot fungi. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, p. 94–9, 2004. <https://doi.org/10.1007/s10295-004-0116-y>.

CONFORTIN, F. G. *et al.* Production of *Pleurotus sajor-caju* strain PS-2001 biomass in submerged culture. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 1149–1155, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0394-x>.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicas de biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 8, n. 34, p. 36–43, 2005.

GUPTA, V. K.; RASTOGI, A. Biosorption of hexavalent chromium by raw and acid treated green alga *Oedogonium hatei* from aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, p. 396–402, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.104>.

KAMIDA, H. M. *et al.* Biodegradação de Efluente Têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, p. 629–632, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422005000400014>.

ROSOLEN, L. *et al.* Biodegradação de efluente têxtil e nove corantes técnicos utilizando fungos basidiomicetos. **Revista Química Têxtil**, v. 76, p. 26- 32, 2004.

SANTANA, M. D. F. *et al.* Fenoloxidase e biodegradação do corante têxtil azul brilhante de remazol para três espécies de macrofungos coletadas na Amazônia. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 11, p. 53–60, 2016.

SILVA, J. H.; MONTEIRO, R. T. R. Degradação de xenobióticos por fungos filamentosos isolados de areia fenólica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 669–674, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832000000300019>.

SOARES, G. M. B.; COSTA-FERREIRA, M.; AMORIM, M. T. P. Decolorization of an anthraquinone-type dye using a laccase formulation. **Bioresource Technology**, v. 79, p. 171–177, 2011. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00043-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00043-8).

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 161–187, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.08.011>.

ZHUO, R. *et al.* Induction of lacase by metal ions and aromatic cinpounds in *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 and discolorization of different sythetic dyes by extracelular laccase. **Biochemistry Engineering Journal**, v. 117, p. 62–72, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.09.016>.

CAPÍTULO 3

Análise da eficiência de linhagens fúngicas do gênero *Pleurotus* no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar

RESUMO

A vinhaça é um subproduto oriundo das usinas de açúcar e álcool, com uma geração média de 10 a 14 litros por litro de etanol produzido. É um resíduo com baixo pH, elevada coloração e turbidez, que quando disposto de forma inadequada pode provocar uma série de desequilíbrios ambientais. Buscando obter eficiência na adequação dos efluentes à legislação e diminuir o problema de poluição hídrica, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de degradação da matéria orgânica presente na vinhaça em concentrações de 25% e 100%, com e sem ajuste de pH por três linhagens fúngicas do gênero *Pleurotus*. Além disso, foi analisado a eficiência de uma dessas linhagens em conjunto com a nanopartícula δ -FeOOH. Foi possível evidenciar que as linhagens de *Pleurotus* apresentaram grande potencial em descolorir a vinhaça em ambas às concentrações, com destaque para a linhagem HI (*Pleurotus ostreatus*) que apresentou remoção de 90% na turbidez e DQO nos tratamentos de 25% de vinhaça, e valores que variaram de 2 a 90% nos tratamentos de 100% de vinhaça. O acréscimo de δ -FeOOH não alterou os percentuais de remoção da linhagem HI no meio contendo vinhaça 25% , mas induziu a linhagem a ser atraída por um ímã. Os resultados mostraram que a vinhaça após o tratamento fúngico pode apresentar características favoráveis para o uso como biofertilizante e o acréscimo de δ -FeOOH pode favorecer a retirada dos fungos de efluentes tratados.

Palavras -chave: vinhaça, fungos, δ -FeOOH.

Analysis of the efficiency of fungal strains of the genus *Pleurotus* in the treatment of vinasse of sugar cane

ABSTRACT

Vinasse is a byproduct from the sugar and alcohol mills, with an average generation of 10 to 14 liters per liter of ethanol produced. It is a residue with acid pH, high staining and turbidity, which when improperly disposed can cause a series of environmental imbalances. Seeking to obtain efficiency in the adequacy of the effluents to the legislation and to reduce the problem of water pollution, the aim of this study was to evaluate the degradability of organic matter present in vinasse in treatments with concentration of 25% and 100% with and without pH adjustment treated with three fungal strains of the genus *Pleurotus*. In addition, the efficiency of one of these strains was analyzed in conjunction with the δ -FeOOH nanoparticle. It was possible to verify that the *Pleurotus* strains showed a great potential to discolor the vinasse at both concentrations, especially the HI strain (*Pleurotus ostreatus*), which showed 90% removal in turbidity and COD in the treatments of 25% vinasse, and values which varied from 2 to 90% in 100% vinasse concentration. The addition of δ -FeOOH did not alter the percentage of removal of HI strain in 25% vinasse, but it did induce the lineage to be attracted by a magnet. The results showed that the vinasse after the fungal treatment can present favorable characteristics for the use as biofertilizer and the addition of δ -FeOOH can favor the removal of fungi from the treated effluent.

Key words: vinasse, fungi, δ -FeOOH.

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores de perdas na qualidade das águas está associado ao lançamento de efluentes sem o devido tratamento, tanto nas águas como nos solos. As indústrias representam um dos setores com parcela significativa na destinação inadequada desses resíduos, visto que não existe a possibilidade de se manter um processo de produção totalmente desvinculado da geração de rejeitos.

O Brasil é um dos países líderes na produção de cana-de-açúcar e nas indústrias de manufatura desse produto é gerada a vinhaça, que é um resíduo líquido com elevado teor de matéria orgânica, pH ácido e elevada coloração. Segundo Lima *et al.* (2016), a produção de vinhaça em uma usina de cana-de-açúcar gira em torno de 10 a 14 litros por litro de etanol produzido, além da geração de resíduos sólidos e emissões atmosféricas.

A vinhaça, quando lançada no meio ambiente de forma inadequada, pode gerar uma série de problemas ambientais, principalmente nos recursos hídricos, devido ao seu alto teor de matéria orgânica.

Normalmente esse subproduto é reaproveitado em outros setores, como na fertirrigação de solos. Entretanto, nos últimos anos vem ocorrendo um aumento expansivo na produção de álcool e, por consequência, de vinhaça, o que gerou a necessidade de pesquisas voltadas para o tratamento e reutilização desse efluente, visto que o uso indiscriminado desse resíduo no solo pode alterar suas propriedades físico-químicas (REIS, 2014).

Diante dessa problemática, a utilização de microrganismos biorremediadores surge como uma possível alternativa para o tratamento desse resíduo, pois alguns organismos apresentam a capacidade de reduzir ou remover totalmente poluentes no ambiente (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Vários microrganismos são utilizados em processos de bioremediação, e entre eles estão os fungos, com destaque para o gênero *Pleurotus*, pois conseguem desenvolver estratégias para sobreviver em ambientes extremos e com isso produzem enzimas que alcançam os poluentes, mineralizando-os ou bioacumulando-os em suas células (NASCIMENTO, 2008).

Buscando ainda obter a máxima eficiência na adequação dos efluentes à legislação e diminuir o problema de poluição hídrica, estudos recentes indicam que tratamentos auxiliares podem ajudar na remoção de contaminantes e o uso de nanomateriais baseados em óxidos de ferro tem sido sugerido como uma alternativa ambientalmente correta para o tratamento de águas residuárias (SILVA; PINEDAB; BERGAMASCOA, 2015).

A utilização de nanopartículas a base de óxido de ferro vem sendo considerada promissora, pois apresenta um baixo custo quando comparada a outros materiais, alta estabilidade, não apresentam toxicidade ao meio ambiente, tem alta capacidade de adsorção de poluentes e apresentam diversas formas de utilização, devido à possibilidade de recobrir sua superfície com polímeros ou moléculas (MATEI *et al.*, 2011; TEIXEIRA *et al.*, 2012). Além destas propriedades, existe a possibilidade de reutilização dessas nanopartículas devido a suas propriedades magnéticas.

Associando os efeitos que os fungos do gênero *Pleurotus* podem promover no tratamento da vinhaça e o uso de nanopartículas de ferro em tratamento de efluentes, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de degradação da matéria orgânica, a diminuição da turbidez e o aumento do pH de amostras de vinhaça em tratamentos com concentração de 25% e 100% com e sem ajuste de pH por três linhagens fúngicas do gênero *Pleurotus*. Além disso, a eficiência de uma dessas linhagens fúngicas associada com a nanopartícula δ -FeOOH também foi avaliada.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Linhagens de *Pleurotus* sp

Foram utilizadas três linhagens de fungos pertencentes ao gênero *Pleurotus*, obtidas do Laboratório de Genética de Microrganismos da Universidade Estadual de Londrina-PR e identificadas como *Pleurotus eryngii* (ERY) e *Pleurotus ostreatus* (HI e SB). Todas as linhagens foram mantidas sobre refrigeração a 4 °C e sofreram repiques periódicos para a manutenção das culturas.

2.2 Obtenção da vinhaça

A vinhaça utilizada no experimento foi cedida pela Destilaria de Álcool de Serra dos Aimorés (DASA), localizada no município de Serra dos Aimorés – MG. Após o recolhimento das amostras, o resíduo foi mantido em freezer à -20 °C para inibir a ação de microrganismos até a sua utilização nos experimentos. Para a execução dos testes, a vinhaça foi descongelada a temperatura ambiente.

2.3 Avaliação da capacidade de degradação da vinhaça por linhagens de *Pleurotus* sp.

Os experimentos foram realizados em tratamentos utilizando 25% e 100% da concentração da vinhaça original, sendo as soluções preparadas com ajuste e sem ajuste de

pH. Para a obtenção dos diferentes valores de concentração, o material foi diluído em água ultrapura.

As soluções foram preparadas em frascos erlenmeyer com 50 mL de capacidade, com a distribuição de 30 mL de vinhaça seguindo as concentrações de 25% e 100%. A correção do pH foi realizada utilizando uma solução de NaOH 1M.

Os frascos contendo a vinhaça com e sem ajuste de pH (25 e 100%) foram esterilizados em autoclave a 121 °C por 20 minutos. Em seguida, cada erlenmeyer recebeu três discos de aproximadamente 1 cm de diâmetro do micélio das linhagens fúngicas (ERY, HI, SB), previamente crescidos em meio sólido BDA (batata, dextrose e ágar). Com o intuito de comparar os resultados após o tratamento, foi também preparado um meio controle para cada solução sem a inoculação fúngica.

Os frascos foram então incubados em incubadora com agitação orbital com velocidade de agitação de 110 rpm durante 14 dias a 28 °C, conforme trabalho realizado por Ferreira (2011). Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

Ao final dos 14 dias, os fungos foram removidos da solução com ajuda de uma espátula, e o sobrenadante foi transferido para tubos do tipo Falcon de 50 mL. Após esse procedimento, foi realizada uma avaliação dos seguintes parâmetros físico-químicos: DQO, pH e turbidez.

As análises de pH e turbidez foram realizadas utilizando um pHmetro (modelo mPA-210) e um turbidímetro (Modelo Poly Control, AP-2000) e as medidas foram feitas de acordo com os manuais de instrução de cada equipamento. A DQO foi feita de acordo com o Standad Methods for the Examination of water and wastewater - APHA (2005).

2.4 Avaliação da capacidade de degradação da vinhaça 25% por *Pleurotus ostreatus* e δ -FeOOH.

Baseado nos resultados experimentais com as 3 linhagens fúngicas (ERY, HI, SB) e com a vinhaça nas concentrações de 25 e 100%, com ou sem ajuste de pH, o tratamento que se destacou com relação a uma melhoria nas propriedades da vinhaça foi a solução 25%, tratada com a linhagem HI (*Pleurotus ostreatus*), nas condições com ou sem ajuste de pH. Assim, a continuação dos experimentos utilizando δ -FeOOH foi realizada com essas condições. A δ -FeOOH foi sintetizada conforme descrito por Pereira et al. (2013).

As soluções de vinhaça 25% foram preparadas em frascos erlenmeyer com 50 mL de capacidade, com a distribuição 7,5 ml de vinhaça e 22,5 ml de água ultrapura. A correção do pH (tratamentos com ajuste de pH) foi feita utilizando uma solução de NaOH 1 M.

Posteriormente, foi realizada a pesagem em balança analítica de 0,03g de δ -FeOOH e o mesmo foi acrescentado em cada tratamento. Por fim, as soluções foram esterilizadas em autoclave a 121 °C por 20 minutos.

Após a esterilização, cada erlenmeyer recebeu três discos de aproximadamente 1 cm de diâmetro do micélio da linhagem HI, crescida previamente em meio sólido BDA. Com o intuito de comparar os resultados após o tratamento, foi também preparado um meio controle para cada solução sem a inoculação fúngica. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

Os frascos foram então, incubados em incubadora com agitação orbital com velocidade de 110 rpm durante 14 dias a 28 °C de acordo com Ferreira (2011).

Após esse procedimento, os fungos foram removidos da solução com ajuda de espátula e em seguida foi realizada uma avaliação dos parâmetros físico-químicos: DQO, pH e turbidez, como descritos anteriormente.

2.5 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com o programa STAT JAB e o método estatístico utilizado foi análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey a 5% de significância. Os dados de turbidez e DQO passaram por uma transformação logarítmica.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

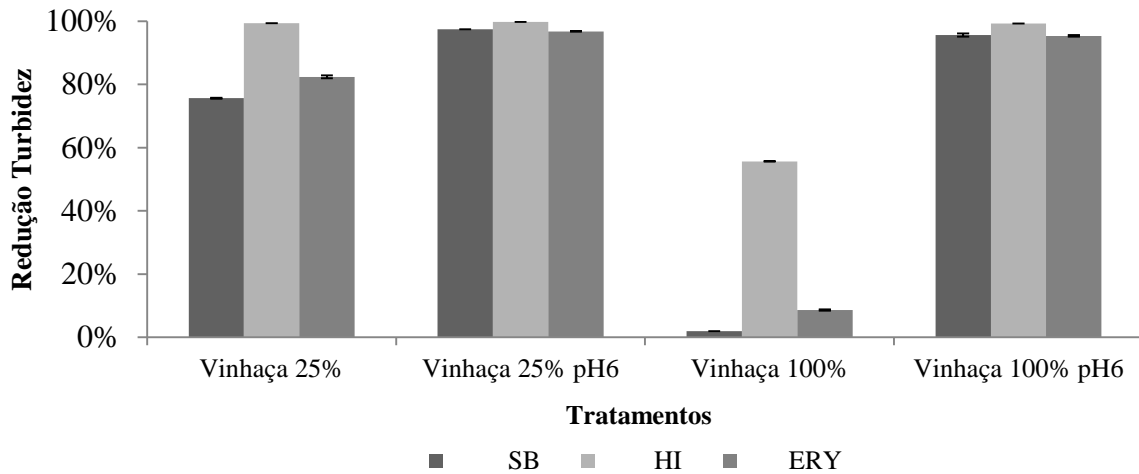
3.1 Desempenho das linhagens de *Pleurotus* no tratamento da vinhaça

Após o período de 14 dias de incubação, a vinhaça não apresentou toxicidade que afetasse o desenvolvimento das linhagens de *Pleurotus* nas duas concentrações avaliadas com ou sem ajuste de pH.

Analisando a redução da turbidez após o tratamento com as três linhagens fúngicas foi possível constatar que a concentração de 25% com ou sem ajuste de pH produziu reduções que variaram de 75 a 99,9 % em relação aos controles, conforme Figura 1. Para a concentração de 100% com ajuste de pH a redução variou de 95,4.a 99,3% sendo que nos tratamentos com concentração de 100% sem ajuste de pH, as reduções foram menores e variaram de 2 a 55,7%.

A linhagem HI apresentou destaque em relação às demais, pois obteve uma diminuição da turbidez superior a 98% em quase todos os tratamentos, exceto no 100% sem ajuste de pH, em que alcançou uma redução de 55% da turbidez da vinhaça.

Figura 1 - Porcentagem de redução da turbidez da solução inicial dos tratamentos com 25% e 100% de vinhaça, sem ajuste de pH e com ajuste de pH para 6, após período de 14 dias em que as linhagens de *Pleurotus* SB, HI e ERY foram cultivadas.



Comparando a performance das 3 diferentes linhagens fúngicas, conforme a Tabela 1, a linhagem SB (*Pleurotus ostreatus*) nos tratamentos com 25% e 100% de vinhaça sem ajuste de pH, não apresentou diferenças estatísticas em relação às médias da linhagem ERY (*Pleurotus eryngii*) para essas concentrações de vinhaça. Sendo possível ainda, verificar que as duas linhagens apresentaram valores de turbidez nos tratamentos com ajuste de pH de 25% e 100% sem diferenças estatísticas, mostrando que o tratamento com vinhaça com ajuste de pH na máxima concentração é capaz de produzir resultados que podem ser comparados ao do tratamento diluído.

Para essas 2 linhagens, observa-se ainda, que o ERY apresentou diferenças estatísticas entre seus tratamentos com 100% de vinhaça, o que não ocorre para o SB nessa mesma concentração.

A linhagem HI (*Pleurotus ostreatus*) apresentou médias estatisticamente diferentes e menores nas soluções com 25% de vinhaça com ou sem ajuste de pH, comparada às linhagens ERY e SB. Apenas no tratamento com 100% sem ajuste de pH foi possível notar que o HI apresentou comportamento semelhante as demais linhagens.

Tabela 1 - Média dos valores de turbidez em NTU, após cultivo das linhagens de *Pleurotus* SB, HI e ERY nas concentrações de 25% e 100% de vinhaça, sem ajuste de pH e com ajuste de pH para a 6, submetidos ao teste de Tukey HSD^{ab}.

| | SB | HI | ERY |
|-------------------|-----------|-----------|------------|
| Vinhaça 25% | 223 bA | 7,5 aA | 61,5bA |
| Vinhaça 25% pH 6 | 49,2 bA | 3,8 aA | 23,6 bA |
| Vinhaça 100% | 4531,7 aB | 4138,3 aD | 2890,0 aB |
| Vinhaça 100% pH 6 | 144,4 bAB | 67,3 aC | 3857,0 abA |

Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúscula iguais na mesma coluna indicam médias sem diferenças estatísticas para o teste de Tukey HSD^{ab} ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Com relação à variação do pH nas amostras, após o tratamento fúngico (Tabela 2), foi possível verificar que no tratamento com 25% de vinhaça sem ajuste de pH houve uma elevação no valor do pH no cultivo das 3 linhagens, com destaque para o SB. A faixa de pH da vinhaça sem o tratamento fúngico variou de 3,9 sem diluição (vinhaça 100%) a 4,0 na solução diluída (25% de vinhaça).

As linhagens HI e ERY exibiram médias de pH estatisticamente iguais em todos as soluções, sendo possível verificar que os tratamentos com ajuste se mantiveram com médias próximas ou iguais a 6. O SB apresentou em quase todos os tratamentos, com exceção do 100% sem ajuste de pH, a melhor correção do pH.

A falta de ajuste no pH na concentração de 25% permitiu uma elevação no valores de pH após tratamento da vinhaça com os fungos para as 3 linhagens, porém para o tratamento 100%, as 3 linhagens não foram capazes de modificar o pH da solução inicial, que continuou ácida.

Segundo Esposito e Azevedo (2010) a maioria das espécies de fungos apresentam valores de desenvolvimento ótimo na faixa de pH entre 5 e 7, o que provavelmente contribuiu com os melhores resultados nesse experimento com o ajuste de pH para 6. Entretanto, segundo os autores, algumas espécies conseguem produzir mecanismos de adaptação e com isso sobrevivem em condições extremas de pH, com um valor mínimo na faixa de 2, o que justifica os resultados encontrados nos tratamentos sem ajuste, visto que a faixa de pH original da vinhaça oscilou de 3,9 a 4,0.

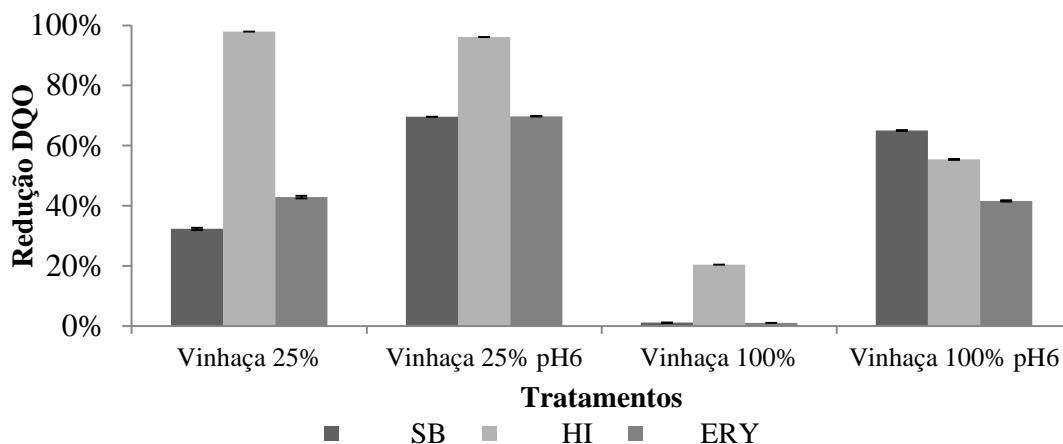
Tabela 2 - Média dos valores de pH, após cultivo das linhagens de *Pleurotus* SB, HI e ER nos tratamentos com 25% e 100% de vinhaça, sem ajuste de pH e com ajuste de pH igual a 6, submetidos ao teste de Tukey HSD^{ab}.

| | SB | HI | ERY |
|------------------|---------|----------|----------|
| Vinhaça 25% | 7,3 a A | 4,9 b BC | 5,2 b AB |
| Vinhaça 25% pH6 | 8,1 a A | 6,0 b AB | 6,0 b A |
| Vinhaça 100% | 3,9 a B | 3,9 a B | 3,8 a B |
| Vinhaça 100% pH6 | 7,9 a A | 6,4 b AC | 6,2 b A |

Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúscula iguais na mesma coluna indicam médias sem diferenças estatísticas para o teste de Tukey HSD^{ab} ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

A redução na DQO das amostras nos diferentes tratamentos pode ser analisada pela Figura 2. A faixa de DQO da vinhaça sem o tratamento fúngico variou de 4.080 na solução diluída (25% de vinhaça) a 25.227 sem diluição (vinhaça 100%).

Figura 2 - Porcentagem de redução da DQO da solução inicial dos tratamentos com 25% e 100% de vinhaça, sem ajuste de pH e com ajuste de pH para 6, em que as linhagens de *Pleurotus* SB, HI e ERY foram cultivadas.



Nota-se que o percentual de redução variou entre as linhagens, com maiores resultados nos tratamentos com 25% pH 6. Nos dois tratamentos de 25% observa-se que a linhagem HI apresentou reduções superiores a 95% da DQO original da vinhaça e as linhagens SB e ERY apresentaram reduções significativas, no entanto, menores que 70%.

Analisando os tratamentos com concentração de 100% foi possível verificar que a solução com correção de pH apresentou reduções que variaram de 42 a 65% com melhores resultado para a linhagem SB. Já no tratamento de 100% sem ajuste foi possível notar que as linhagens SB e ERY reduziram menos que 2% da DQO da amostra original, sendo que nesta solução a linhagem HI removeu aproximadamente 21% da DQO.

A vinhaça é um efluente caracterizado pela alta coloração e por consequência apresenta uma alta DQO, cujos valores oscilam de 15.000 a 33.000 mg.L⁻¹O₂ (Marques, 2006). Após realização dos testes, foi possível verificar que os resultados da DQO variaram de 76 mg.L⁻¹O₂ no tratamento com 25% sem ajuste de pH a 24.952 mg.L⁻¹O₂ no 100% sem ajuste, conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Média dos valores da DQO (mg.L⁻¹O₂), após cultivo das linhagens de *Pleurotus* SB, HI e ERY nos tratamentos com 25% e 100% de vinhaça, sem ajuste de pH e com ajuste de pH igual a 6, submetidos ao teste de Tukey HSD^{ab}.

| | SB | HI | ERY |
|------------------|-----------|-----------|-----------|
| Vinhaça 25% | 4145b A | 76 a A | 1366 b A |
| Vinhaça 25% pH6 | 2860 a A | 239 a B | 1011 a A |
| Vinhaça 100% | 24952 a A | 19496 a C | 19223 a A |
| Vinhaça 100% pH6 | 8848 a A | 9384 a BC | 11500 a A |

Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúscula iguais na mesma coluna indicam médias sem diferenças estatísticas para o teste de Tukey HSD^{ab} ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Observa-se pela Tabela 3, que apenas o tratamento com 25% sem acerto de pH apresentou diferenças estatísticas entre os fungos, com destaque para a linhagem HI, que obteve o menor valor para a DQO.

Analisando o comportamento individual dos fungos nos diferentes tratamentos foi possível notar que a linhagem HI foi a única que resultou em diferenças entre as soluções, sendo possível constatar que os tratamentos com 100% com e sem ajuste de pH são estatisticamente iguais e que o de 25% pH 6 também não possui diferença estatística em relação ao 100% pH 6.

Ao longo dos tratamentos foi possível evidenciar que as linhagens de *Pleurotus* apresentaram grande potencial em biodegradar e descolorir a vinhaça em ambas as concentrações, especialmente para a concentração de 25%. Dentre as linhagens foi possível verificar que o HI apresentou, em geral, destaque na melhoria dos parâmetros físico-químicos avaliados.

Alguns estudos como o de Rodriguez *et al.* (2003) e Silva *et. al* (2015), relataram que uma alta concentração de vinhaça pode provocar no fungo um efeito inibitório no seu crescimento, devido a presença de compostos recalcitrantes como os compostos fenólicos, e devido a essa inibição, não seria possível a descoloração de meios contendo vinhaça 100%.

No estudo conduzido por Silva *et. al* (2015) os ensaios de descoloração da vinhaça foram realizados com o fungo *Pleurotus eryngii* em concentrações de vinhaça de 9%,

18% e 30% sem ajuste de pH. Os resultados desse trabalho foram inferiores ao presente estudo, pois promoveram descoloração de 76,7% e 58,1% apenas, sem resultado de redução na solução de 30%, sendo concluído pelo autor que concentrações superiores a 18% inibem o desenvolvimento da linhagem.

Já no trabalho de Rodrigues *et. al* (2003), os testes foram realizados com dois efluentes, a vinhaça e a polpa de café, ambos com ajuste de pH para 6,5 nas concentrações de 25%, 50% e 100% com o fungo *Pleurotus ostreatus*. Nesse trabalho o fungo apresentou inibição em seu crescimento nos dois efluentes a partir da concentração de 50%, sendo observadas somente reduções inferiores a 60% na DQO e cor desses efluentes. Segundo os autores desse trabalho, a vinhaça na concentração de 25% apresenta um efeito estimulante para o crescimento do fungo, devida a baixa toxicidade e alta presença de aminoácidos e vitaminas, por isso que em baixa concentração é possível obter resultados superiores aos demais.

No presente estudo foi possível verificar que as linhagens cresceram nas concentrações de 100% e que apresentaram reduções significativas de DQO (55%) e turbidez (99,3%), corroborando com os resultados de Ferreira (2011), que avaliou o fungo *Pleurotus sajor caju* em concentração de 100% de vinhaça, obtendo redução de 75,3% na DQO e 99,7% na turbidez.

A alta turbidez apresentada pela vinhaça tem origem na etapa de fermentação do melão, em que a presença de compostos como lignina, polifenóis, caramelo e melanoidina produzem uma alta coloração que persiste até mesmo após tratamentos aeróbios convencionais (GOKARN; MAYADEVI, 2000). Segundo Rajarathanan e Bano (1989) e Esposito e Azevedo (2010), a biodegradação da lignina e dos compostos que produzem a cor na vinhaça ocorre de forma extracelular pela ação de enzimas produzidas pelo fungo. A degradação ocorre de forma extracelular, pois os componentes lignocelulósicos devem ser inicialmente despolimerizados até compostos menores que são susceptíveis ao transporte pela parede celular dos fungos e ao metabolismo intracelular.

Dentre os fungos mais estudados em processos de descolorir efluentes, *Aspergillus* sp. sempre apresentaram destaque, com médias de descoloração de até 75% (SHAEGAN *et. al*, 2004; MOHAMMAD *et.al*, 2006). No entanto, no presente estudo foi possível encontrar resultados superiores aos de *Aspergillus* sp. com remoções superiores a 90% de turbidez.

Em um estudo conduzido por Monteiro, Alves e Souza (2013), foi possível testar os benefícios que a vinhaça, após tratamento com fungos do gênero *Pleurotus*, promovia em

culturas de milho e sorgo, sendo verificado que a vinhaça após tratamento proporcionou maior germinação do milho e sorgo e maior crescimento nas plântulas de milho em relação a vinhaça *in natura*. Esse estudo mostra que a vinhaça pode apresentar, após tratamento, uma vasta área de aplicação, não sendo apenas destinada a lavouras de cana-de-açúcar, como vem ocorrendo ao longo dos anos.

Dessa forma, a eficiência do tratamento realizado pelas linhagens de *Pleurotus* avaliadas no presente estudo possibilitaram reduções de até 90% na turbidez e DQO, além de um aumento no valor do pH, o que indica que a vinhaça após tratamento fúngico pode apresentar características favoráveis para uso como biofertilizante em diversas culturas.

3.2 Desempenho da linhagem HI (*Pleurotus ostreatus*) em conjunto com δ -FeOOH em 25% de vinhaça

De acordo com os resultados anteriores, o tratamento com concentração de 25% (com e sem ajuste de pH) apresentou os melhores resultados para os parâmetros analisados com a atuação da linhagem HI, sendo assim, esse tratamento foi selecionado para a realização de testes em conjunto com δ -FeOOH. O composto δ -FeOOH tem sido utilizado em processos de adsorção de corantes e poluentes ambientais, tornando se uma alternativa para o tratamento de efluentes (FARIA *et.al*, 2014; OLIVEIRA; FABRIS; PERIERA 2013; SILVA *et.al*, 2015). Sendo assim, esse composto foi analisado como uma possível alternativa complementando a atuação do fungo *Pleurotus ostreatus*.

Primeiramente, a vinhaça foi submetida ao tratamento durante 14 dias com a ação da nanopartícula de ferro e o fungo separadamente. No entanto, o δ -FeOOH, em suspensão na vinhaça 25% apresentou um aumento na turbidez da solução, em relação ao controle, conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Média dos valores de Turbidez (NTU) da vinhaça, após 14 dias de tratamento com δ -FeOOH e com a linhagem de *Pleurotus ostreatus* HI.

| | Turbidez |
|--------------------------|------------------|
| Controle | 407,3 \pm 1,53 |
| Vinhaça + δ FeOOH | 964 \pm 0,0 |
| Vinhaça + Fungo | 10,9 \pm 0,17 |

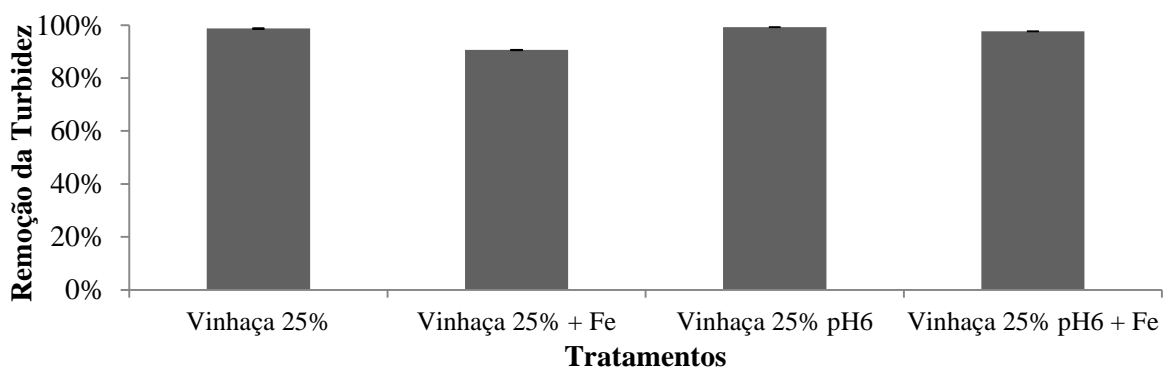
A elevação da turbidez nas amostras pode ter sido influenciada pela quantidade de partículas em suspensão no momento da leitura no turbidímetro, visto que a δ -FeOOH

apresenta tamanho de 23nm como descrito por Chagas *et al.* (2013). O tratamento apenas com o fungo seguiu o mesmo padrão de redução de turbidez anteriormente apresentado.

Diante desses resultados, a vinhaça 25% foi submetida ao tratamento com δ -FeOOH em conjunto com a linhagem fúngica HI. Dessa forma os seguintes tratamentos foram analisados: vinhaça 25% sem ajuste de pH + HI, vinhaça 25% sem ajuste de pH + HI + δ -FeOOH, vinhaça 25% com ajuste de pH para 6,0 + HI, vinhaça 25% com ajuste de pH para 6,0 + HI + δ -FeOOH.

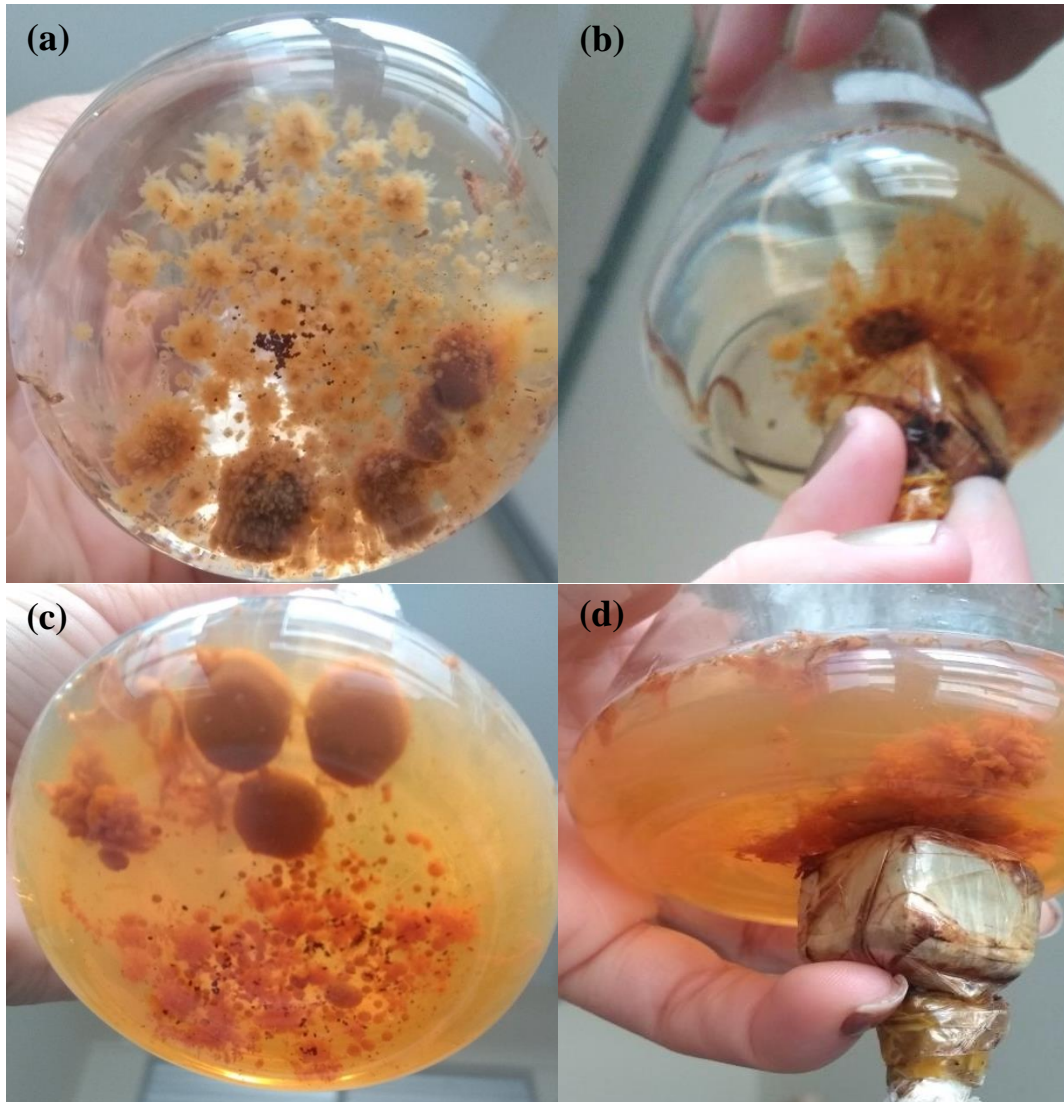
De acordo com a Figura 3, em que se analisou o percentual de remoção da turbidez dos tratamentos com relação à vinhaça 25%, foi possível notar uma redução superior a 90% em todos os tratamentos, o que indica, que o acréscimo de δ -FeOOH não aumentou e nem afetou a média de remoção de turbidez da linhagem HI. Observa-se também, que o comportamento da linhagem não apresentou variações bruscas com o ajuste de pH, mantendo os percentuais próximos.

Figura 3 - Porcentagem de redução da turbidez no tratamento com 25% de vinhaça sem ajuste e com ajuste de pH para 6, após período de 14 dias em que a linhagem HI foi cultivada. Onde: Fe= δ -FeOOH.



Analisando o aspecto visual dos diferentes tratamentos, após o acréscimo da nanopartícula, foi possível verificar que grande parte das frações de δ -FeOOH ficaram aderidas à superfícies das hifas da linhagem fúngica HI, conforme a Figura 4. Essa adesão fez com que todo o material particulado fosse atraído para a região próxima a linhagem quando a superfície do erlenmeyer foi submetida à ação de um ímã.

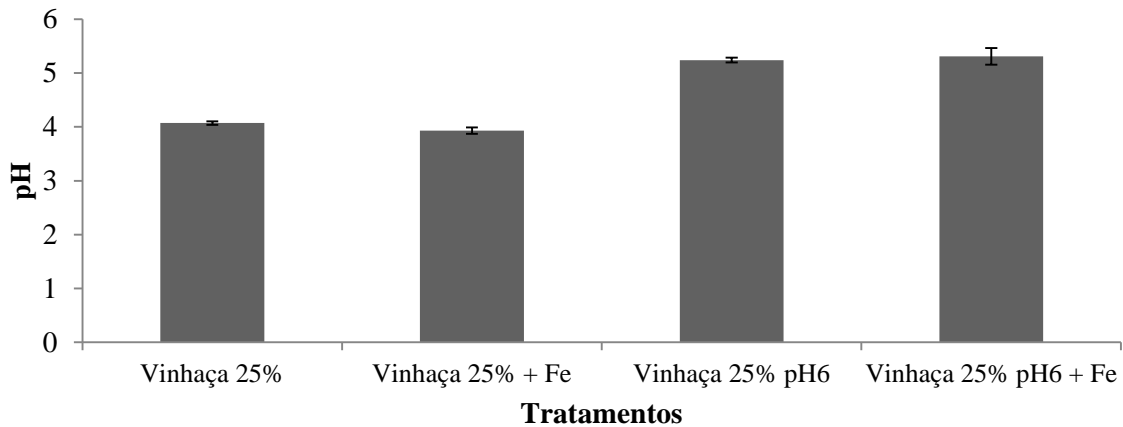
Figura 4 - Aspecto visual da vinhaça após tratamento com a linhagem HI em conjunto com δ -FeOOH. Onde: (a) vinhaça sem ajuste de pH; (b) Vinhaça sem ajuste de pH com aproximação do ímã; (c) Vinhaça com ajuste de pH e (d) Vinhaça com ajuste de pH e aproximação do ímã.



Analisando a Figura 4, percebe-se que o tratamento com ajuste de pH induziu um crescimento maior na linhagem fúngica e, por consequência, observou-se uma quantidade maior de nanopartículas aderidas à superfície do fungo.

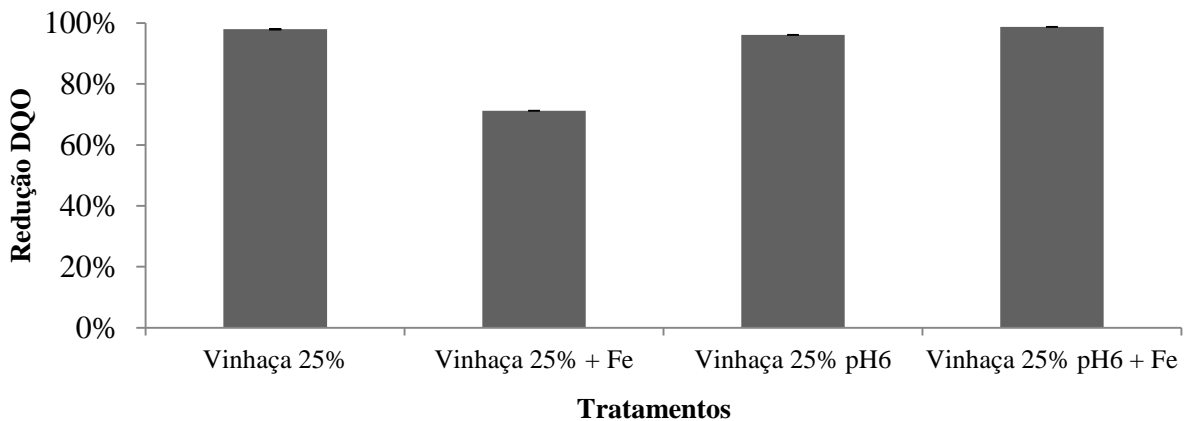
Com relação aos valores de pH, após o período de inoculação como pode ser visualizado na Figura 5, não ocorreram alterações nos tratamentos com o acréscimo de δ -FeOOH, sendo que as soluções mantiveram os valores iniciais de pH.

Figura 5 - Variação dos valores de pH encontrados no tratamento com 25% de vinhaça sem ajuste e com ajuste de pH para 6, após período de 14 dias em que a linhagem HI foi cultivada. Onde: Fe= δ -FeOOH (Fe).



A partir da análise dos valores de DQO, foi possível observar que apenas o tratamento sem ajuste de pH e com a adição da nanopartícula, obteve um percentual de remoção inferior a 90%, como visualizado na Figura 6.

Figura 7 - Porcentagem de redução da DQO no tratamento com 25% sem ajuste e com ajuste de pH para 6, após período de 14 dias em que a linhagem HI foi cultivada. Onde Fe= δ -FeOOH (Fe).



Nos demais tratamentos observou-se que não ocorreram diferenças significativas em relação ao acréscimo da nanopartícula, pois o percentual de remoção continuou superior a 95%.

No entanto, uma diferença encontrada foi entre os tratamentos com acréscimo de δ -FeOOH, e ajuste de pH, pois com o ajuste, ocorreram remoções 27% maiores em relação a solução sem ajuste. Esse fato pode sugerir novamente a ideia de que a correção do pH melhora o desenvolvimento do fungo e, com isso, as nanopartículas ficam mais aderidas ao micélio, contribuindo, portanto, com uma maior degradação dos compostos presentes e

tornando ainda o fungo magnético, o que pode vir a auxiliar na utilização do fungo para a processo de clareamento e biofertilização da vinhaça.

4. CONCLUSÃO

A análise do desempenho das três linhagens fúngicas (SB, HI e ERY) no tratamento da vinhaça na concentração de 25% e 100% indicam que o gênero *Pleurotus* apresenta potencial significativo para a correção do pH, remoção da turbidez e DQO.

Dentre as linhagens, o HI (*Pleurotus ostreatus*) apresentou os melhores resultados, com reduções superiores a 90% na turbidez e DQO na concentração de 25%, e resultados que variaram de 2 a 90% no tratamento com 100% de vinhaça.

Os testes demonstraram que a correção do pH favorece o desempenho do fungo e que a ação da nanopartícula (δ -FeOOH) em combinação com a linhagem fúngica mantém os percentuais de remoção e induz o fungo a se atraído por um ímã. Esse resultado é favorável, pois pode favorecer a retirada das linhagens no processo de tratamento.

Dessa forma, pode-se inferir que a vinhaça, após tratamento fúngico apresenta características que podem ser benéficas ao seu uso na agricultura como biofertilizante, sendo necessário apenas a realização de testes de toxicidades antes da aplicação da mesma após o tratamento com o fungo no solo.

5. REFERÊNCIAS

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th. Edition. American Public Health Association, Washington, DC., 2005.

CHAGAS, P. *et al.* δ -FeOOH: a superparamagnetic material for controlled heat release under AC magnetic field. **Journal of Nanoparticle Research**, V.15, p.1544, 2013.
<https://doi.org/10.1007/s11051-013-1544-2>

FARIA, M. C S. *et al.* Arsenic removal from contaminated water by ultrafine δ -FeOOH adsorbents. **Chemical Engineering Journal**. v.237, p. 47-54,2014.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.10.006>

FERREIRA, L. F. R. *et al.*. Evaluation of sugar-cane vinasse treated with *Pleurotus sajor-caju* utilizing aquatic organisms as toxicological indicators. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.74, n.1, p. 132-137, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.042>.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia**, Caxias do Sul: EDUSC, v.2,2010.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicas de biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 8, n. 34, p. 36–43, 2005.

GOKARN, A. N.; MAYADEVI, S. Active charcoal from agr-waste for colour removal of treated spentwash. In: anual Covention of D.S.T.A, 2000. Pune. **Proceedings...Pune,2000**. Part 1,p.B1-B10.

LIMA, A. L. *et al.* Revisão sobre a toxicidade e impactos ambientais relacionados à vinhaça, efluente da indústria sucroalcooleira. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, n. 32, p. 27-34, 2016.

MARQUES, M. O. Aspectos técnicos e legais da produção, transporte e aplicação de vinhaça. **Atualização em produção de cana de açúcar**. Piracicaba, n. 2, p. 369-375, 2006.

MATEI, E *et al.* Properties of magnetic iron oxides used as materials for wastewater treatment. **Journal of Physics: Conference Series**. v.304, p.1-10, 2011.
<https://doi/10.1088/1742-6596/304/1/012022>.

MOHAMMAD, P. *et al.* Appication of response surfasse mehodology for optimization of importante parameters in decolorizing treated distillery wasterwater using *Aspergillus fumigatus* UB2.60, **Internationl Biodeterioration and Biodegradation**, Birmingham, v.57, n. 4, p. 195-199,2006.

MONTEIRO, R. T. R.; ALVES, N. M. M.; SOUZA, G. Avaliação da aplicação de vinhaça tratada com *Pleurotus* no crescimento de milho e sorgo. **Anais..** São Paulo: USP, 2013.

NASCIMENTO, C. R. S. D.; NASCIMENTO, C. R. S. **Avaliação do potencial de Descoloração e Detoxificação de Corantes Utilizados em Indústria Têxtil por Fungos Isolados de Sedimento do Parque Nacional da Serra da Capivara (PI)**. 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

OLIVEIRA, L. C. A.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C. Óxidos de ferro e suas aplicações em processos catalíticos: uma revisão. **Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 123-130, 2013.

PEREIRA, M.C. *et al.* Nanostructured δ -FeOOH: a novel photocatalyst for water splitting. **Journal of Materials Chemistry**, v.21, p. 1-11, 2011. <http://dx.doi.org/10.1039/C1JM11736J>

RAJARATHANAM, S.; BANO,Z. *Pleurotus mushrooms*. **Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition**, Boca Raton, v.28, p.31-113,1989.

REIS, M. C. **Avaliação da Vinhaça De Cana De Açúcar Para Produção de Hidrogênio em Reator a Anaeróbio de Leito Fluidizado em Condição Mesofílica: Efeito de Co-Substrato, TDH e Concentração**. 2014. 143.p. Tese (Doutorado em Química) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

RODRÍGUES, S. *et al.* Tratamiento de efluentes industriales coloreados com *Pleurotus spp.* **Revista Iberoamericana de Micología**, México, v.20, p.164-168,2003.

SILVA, M. F.; PINEDAB, E. A. G.; BERGAMASCOA, R. Aplicação de óxidos de ferro nanoestruturados como adsorventes e fotocatalisadores na remoção de poluentes de águas residuais. **Química Nova**, v.38, n.3, p.393-398, 2015a. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150008>.

SILVA, L. M. *et al.* Avaliação inicial do potencial de *pleurotus eryngii* (dc.: fr.) quel. na biorremediação de vinhaça. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.10, n.2, p.14-20, 2015.

TEIXEIRA, A. P. C. *et al.* Iron: a versatile element to produce materials for environmental applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.23, p.1579-1593, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532012 005000039>.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Com relação á degradação do corante azul de metileno, foi possível verificar que as linhagens de *Pleurotus* denominadas ERY, HI e SB apresentaram redução em torno de 80% da absorbância dos meios com concentrações do corante azul de metileno de 0,02 g L⁻¹ e 0,04 g L⁻¹.
- A análise do desempenho das três linhagens fúngicas (SB, HI e ERY) no tratamento da vinhaça na concentração de 25% e 100% indicam que o gênero *Pleurotus* apresenta potencial significativo para a correção do pH, remoção da turbidez e DQO. Dentre essas linhagens, o HI (*Pleurotus ostreatus*) apresentou os melhores resultados, com reduções superiores a 90% na turbidez e DQO na concentração de 25%, e resultados que variaram de 2 a 90% no tratamento com 100% de vinhaça.
- Os testes demonstraram que a ação da nanopartícula (δ -FeOOH) em combinação com a linhagem fúngica mantém os percentuais de remoção e induz a linhagem a ser atraída por um ímã.
- A vinhaça, após tratamento fúngico apresenta características que podem ser benéficas ao seu uso na agricultura como biofertilizante, sendo necessário a realização de outros testes, antes da aplicação da mesma no solo.
- Sugere-se ainda realização de testes com concentrações diferentes da nanopartícula, a fim de testar a sua eficiência em conjunto com o fungo, focando na possibilidade da retirada do fungo após o tratamento dessa vinhaça.