

RENATA LOPES LANDEIRA DA SILVA

**REMOÇÃO DE COR DE EFLUENTE SINTÉTICO COM
COGUMELOS *Agaricus bispora***

UFRJ/ CT/ EQ

2008

REMOÇÃO DE COR DE EFLUENTE SINTÉTICO COM
COGUMELOS *Agaricus bispora*

RENATA LOPES LANDEIRA DA SILVA

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS DA ESCOLA DE
QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO,
COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS

Orientadoras:

Magali Christe Cammarota
D.Sc.

Maria Alice Zarur Coelho
D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Agosto de 2008

REMOÇÃO DE COR DE EFLUENTE SINTÉTICO COM
COGUMELOS *Agaricus bispora*

RENATA LOPES LANDEIRA DA SILVA

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS DA ESCOLA DE QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS

Aprovada por:

Profª. Magali Christe Cammarota, D. Sc. (orientadora)

Profª. Maria Alice Zarur Coelho, D. Sc. (orientadora)

Profª. Marta Antunes Pereira Langone, D. Sc.

Profª. Juacyara Carbonelli Campos, D. Sc.

Profª. Andréa Medeiros Salgado, D. Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Agosto de 2008

Silva, Renata Lopes Landeira da

Remoção de Cor de Efluente Sintético com Cogumelos *Agaricus bispora*/ Renata Lopes Landeira da Silva. – Rio de Janeiro, 2008-08-27

xiii, 81 p., 29,7 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos – Escola de Química, 2008-08-27

Orientadoras: Magali Christe Cammarota

Maria Alice Zarur Coelho

1. Remoção de Cor. 2. Efluentes Têxteis. 3. *Agaricus bispora*. 4. Tirosinase. I. Cammarota, Magali Christe (Orient.). II. Coelho, Maria Alice Zarur (Orient.). III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola da Química. IV. Título.

**Dedico esta tese aos meus pais Lucienne e Marcos, aos meus avós Cília,
Vilma e Newley, e ao meu namorado Victor**

Agradecimentos

Aos meus pais e avós por estarem sempre ao meu lado e por torcerem por mim.

Ao meu namorado, Victor, pelo incentivo e por entender nos momentos em que não pude estar presente.

Às minha orientadoras, Magali e Maria Alice, por me darem todo o suporte necessário, por estarem sempre dispostas a ajudar e pela grande dedicação a esse trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Tecnologia Ambiental e do Laboratório de Enzimologia por me ajudarem nos momentos em que precisei.

À minha família em geral e aos meus amigos pelo companheirismo e compreensão.

RESUMO

SILVA, Renata Lopes Landeira da. **Remoção de Cor de Efluente Sintético com Cogumelos *Agaricus bispora***. Orientadoras: Magali Christe Cammarota e Maria Alice Zarur Coelho. Rio de Janeiro, 2008. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos).

O emprego direto de cogumelos *Agaricus bispora* foi avaliado para a remoção de cor de uma mistura sintética de corantes reativos. Avaliou-se o efeito da granulometria das partículas (cubos de 0,5 ou 1,0 cm ou cogumelos moídos), da aeração do meio (sem aeração, com aeração inicial de 5 minutos e aeração contínua), da massa de cogumelos (10, 20, 40, 60 ou 80 g em 250 mL de solução) e de diferentes formas de tratamento do cogumelo sobre a remoção de cor de uma solução sintética dos corantes Reactive Yellow 37, Reactive Black 5 e Reactive Red na concentração de 13,32 mg/L cada um. Os melhores resultados foram obtidos para maiores áreas superficiais de contato do cogumelo com o efluente (cogumelo moído) e sob aeração contínua. A adição de acetona durante o processo de moagem, seguida de congelamento, contribuiu para o aumento da remoção de cor. Os cogumelos processados desta forma, permitiram melhores resultados de remoção de cor (73% após 6 h, com 20 g de biocatalisador/250 ml de efluente). A utilização de diferentes lotes e marcas de cogumelo levou à obtenção de diferentes atividades enzimáticas e percentuais similares de remoção de cor. Tal resultado comprovou que a remoção de cor não possuía relação direta com a atividade enzimática. Também foi testada a reutilização da matriz fúngica em três reações consecutivas, resultando em remoções de cor de cerca de 50% em todas as reações. A substituição do extrato enzimático pela matriz fúngica do cogumelo *Agaricus bispora* resultou em maior remoção de cor (80%). No entanto, a utilização da matriz fúngica não deve ser descartada pois houve remoção de cor, sendo a maior parte obtida através de adsorção do corante ao cogumelo e não por atividade enzimática.

ABSTRACT

SILVA, Renata Lopes Landeira da. **Decolorization of Synthetic Effluent from mushroom *Agaricus bispora***. Advisors: Magali Christe Cammarota and Maria Alice Zarur Coelho. Rio de Janeiro, 2008. Dissertation (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos).

The direct application of *Agaricus bispora* mushroom was evaluated for decolorization of a synthetic mixture of reactive dyes. The effects of the particle size (cubes of 0.5 or 1.0 cm or triturated mushroom), medium's aeration (without aeration, with 5 minutes of initial aeration and continuous aeration), mushroom mass (10, 20, 40, 60 or 80 g in 250 mL of solution) and different treatments of mushroom tissue were analyzed concerning to color removal efficiency of dyes Reactive Yellow 37, Reactive Black 5 and Reactive Red in a synthetic solution of 13.32 mg/L concentration. The best results were found with larger superficial contact areas between mushroom particle (triturated mushroom) and colored effluent under continuous aeration. Acetone addition during mushroom trituration process followed by freezing step contributed to decolorization improvement, leading to best results: 73% after 6 h, with 20 g of biocatalyst/250 mL of effluent. The use of different mushroom batches and brands resulted in different enzymatic activities but similar levels of color removal. Such result confirmed that decolorization does not have any direct relation with enzyme activity. The mushroom reutilization was also tested in three consecutive reactions, resulting in approximately 50% of decolorization in each reaction. The substitution of enzyme extract for mushroom *Agaricus bispora* fungal tissue resulted in higher decolorization (80%). However, the use of fungal tissue must not be rejected, since decolorization may be performed using fungal tissue. Nevertheless significant part of decolorization was obtained through dye adsorption into the mushroom tissue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Exemplo de uma estrutura química característica de um azocorante.	6
Figura 2.2: Interação Iônica entre uma molécula de corante e uma fibra têxtil.	8
Figura 2.3: Interação de Hidrogênio entre molécula de corante e fibra têxtil	9
Figura 2.4: Redução anaeróbia de corantes azo por bactéria, na ausência (A) e presença (B) de mediadores redox.	32
Figura 2.5: Esquema da Reação da Tirosinase	36
Figura 3.1. Estruturas dos corantes Reactive Yellow 37, Reactive Black 5 (B) e Reactive Red (C)	46
Figura 3.2: Esquema Experimental Empregado nos Ensaio de Remoção de Cor.	48
Figura 3.3: Cogumelos processados.	49
Figura 3.4: Extrato Enzimático.	52
Figura 4.1: Varredura do Espectro de Absorção da Solução de Corantes Diluída a 1:100 em Tampão Fosfato 0,1 mol/l, pH 7,0.	55
Figura 4.2: Cor Residual nos Ensaio Preliminares com 40 g de cogumelos em cubos de 1 cm.	56
Figura 4.3. Cor Residual nos Ensaio Preliminares com 40 g de cogumelos em cubos de 0,5 cm.	57
Figura 4.4: Cor Residual em Experimentos com 40 g de cogumelos em Cubos de 1,0 cm e 0,5 cm e moídos, sob aeração contínua.	58
Figura 4.5: Cor Residual em Experimentos com Cogumelos Processados de acordo com os Modos a (cogumelos moídos com água destilada e filtrados), b (cogumelos moídos com acetona, lavados com água destilada e filtrados) e c (cogumelos moídos com acetona, lavados com água destilada, filtrados e congelados).	59
Figura 4.6: Cor Residual para Experimentos com 10, 20, 40, 60 e 80 g de Cogumelos.	61
Figura 4.7 – Remoção de cor após 6 h de reação com diferentes massas de cogumelos com aeração contínua (experimento) e com borbulhamento de N ₂ (controle).	62
Figura 4.8: Cor Residual ao Longo do Tempo em Experimentos com 10 g (a), 20	63

g (b), 40 g (c), 60 g (d) e 80 g (e) de cogumelos com aeração contínua (experimento) e com borbulhamento de N_2 (controle).

Figura 4.9: Cor Residual em Experimentos com 20 g de Cogumelo com aeração contínua e Controle (N_2 e Na_2SO_3). 64

Figura 4.10: Cor Residual em Experimentos com 20 g de Cogumelo e Controle (aeração sem cogumelos). 65

Figura 4.11: Variação da Absorbância a 520 nm em experimentos com aeração contínua, controle a (tampão + cogumelo + aeração) e controle b (tampão + cogumelo + borbulhamento de N_2). 66

Figura 4.12: Remoção de Cor com Reutilização dos Cogumelos. 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Classificação dos corantes segundo o modo de fixação.	11
Tabela 2.2: Produtores de Corantes e Pigmentos no Brasil.	12
Tabela 2.3: Características Típicas dos Efluentes Têxteis.	16
Tabela 2.4: Quadro Comparativo das Tecnologias de Tratamento.	40
Tabela 3.1. Relação de materiais e seus fornecedores.	44
Tabela 4.1 – Atividade enzimática em diferentes lotes e marcas e remoção de cor após 6 h em experimentos com 40 g cogumelo moído (modo c de processamento)/250 ml de efluente (solução de corante diluída a 1:25) sob aeração contínua.	60
Tabela 4.2: Resumo dos Experimentos Realizados neste Trabalho	70

ÍNDICE

1. Introdução e Objetivos	1
1.1. Introdução	1
1.2. Objetivos	3
2. Revisão Bibliográfica	4
2.1. Corantes Têxteis	4
2.1.1. Origem dos Corantes	6
2.1.2. Fixação dos Corantes	8
2.1.3. Classificação dos Corantes	9
2.1.4. O Segmento no Brasil	10
2.2. Corantes Azo e o Meio-Ambiente	13
2.3. Processos de Tratamento de Efluentes Têxteis	16
2.3.1. Processos Disponíveis para o Tratamento de Efluentes Têxteis	17
2.3.1.1. Processos Físicos	17
2.3.1.1.1. Adsorção	17
<u><i>Carvão ativado</i></u>	18
<u><i>Sílica</i></u>	19
<u><i>Betaciclodextrina</i></u>	19
<u><i>Quitina e Quitosana</i></u>	19
<u><i>Outros materiais</i></u>	20
2.3.1.1.2. Resinas de Troca Iônica	20
2.3.1.2. Processos Químicos	21
<u><i>Ozonização</i></u>	21
<u><i>H₂O₂ – sais de Ferro II (Reagente Fenton)</i></u>	21
<u><i>Hipoclorito de Sódio</i></u>	23
<u><i>Processos eletroquímicos</i></u>	23
2.3.1.3. Processos Biológicos	24
<u><i>Fungos da Podridão Branca</i></u>	25
<u><i>Bactérias</i></u>	27
<u><i>Algas</i></u>	27
<u><i>Biossorção</i></u>	28

2.3.2. Processos Emergentes de Tratamento de Corantes e Efluentes Têxteis	28
2.3.2.1. Processos Oxidativos Avançados (POA's)	29
<u><i>Sistema H_2O_2/UV</i></u>	29
<u><i>Sistema TiO_2/UV</i></u>	30
2.3.2.2. Membranas	31
2.3.2.3. Mediadores Redox	31
2.3.2.4. Tratamento Enzimático	32
2.3.2.4.1. Peroxidases	34
2.3.2.4.2. Polifenol Oxidases (fenoloxidas)	35
2.3.2.5. Tirosinase	36
2.4. Processos Combinados	38
2.5. Análise Comparativa	39
3. Materiais e Métodos	44
3.1. Materiais	44
3.2. Equipamentos	44
3.3. Métodos	45
3.3.1. Origem dos Cogumelos	45
3.3.2. Obtenção do Efluente Sintético	45
3.3.3. Seleção do Melhor Comprimento de Onda para Medida da Remoção de Cor	46
3.3.4. Ensaio Preliminares	47
3.3.5. Condução dos Ensaio	47
3.3.5.1. Efeito da Granulometria dos Cogumelos	48
3.3.5.2. Processamento dos Cogumelos	48
3.3.5.3. Avaliação de Diferentes Marcas e Lotes de Cogumelos	50
3.3.5.4. Efeito da Massa de Cogumelo Utilizada	50
3.3.5.5. Controles	50
3.3.5.5.1. Remoção de Cor por Adsorção	50
3.3.5.5.2. Remoção de Cor por Oxidação Química	51
3.3.5.5.3. Efeito da Liberação de Produtos pelos Cogumelos	51
3.3.6. Ensaio com Reutilização do Cogumelo	51
3.3.7. Avaliação da Remoção de Cor por Extrato Enzimático	52

3.3.7.1. Obtenção do Extrato Enzimático	52
3.3.7.2. Experimentos com Extrato Enzimático	52
3.3.8. Métodos Analíticos	53
3.3.8.1. Cor	53
3.3.8.2. Atividade Enzimática	53
3.3.8.3. pH	54
3.3.8.4. Dosagem de Proteínas	54
4. Resultados e Discussão	55
4.1. Seleção do Melhor Comprimento de Onda para Medida da Remoção de Cor	55
4.2. Ensaio Preliminares	56
4.3. Efeito da Granulometria dos Cogumelos	57
4.4. Processamento dos Cogumelos	58
4.5. Avaliação de Diferentes Marcas e Lotes de Cogumelos	60
4.6. Efeito da Massa de Cogumelo Utilizada	61
4.7. Controles	62
4.7.1. Remoção de Cor por Adsorção	62
4.7.2. Remoção de Cor por Oxidação Química	65
4.7.3. Efeito da Liberação de Produtos pelos Cogumelos	66
4.8. Ensaio com Reutilização do Cogumelo	67
4.9. Remoção de Cor por Extrato Enzimático	68
4.10. Considerações Finais	69
5. Conclusões e Sugestões	73
5.1. Conclusões	73
5.2. Sugestões	74
6. Referências Bibliográficas	75

1. Introdução e Objetivos

1.1 Introdução

Nas últimas décadas, os problemas ambientais têm se tornado cada vez mais críticos e freqüentes, principalmente devido ao desmedido crescimento populacional e aumento da atividade industrial. Impactos ambientais decorrentes da ação antrópica têm atingido dimensões catastróficas, podendo ser observados através de alterações na qualidade do solo, ar e água.

Sem dúvida, a contaminação de águas naturais tem sido um dos grandes problemas da sociedade moderna. A economia de água em processos produtivos vem ganhando especial atenção devido ao valor agregado que tem sido atribuído a este bem, através de princípios como consumidor pagador e poluidor pagador, incorporados em nossa legislação (KUNZ *et al.*, 2002).

Dentro deste contexto, o setor têxtil apresenta especial destaque, devido a seu parque industrial gerar grandes volumes de efluentes, os quais, quando não corretamente tratados, podem causar sérios impactos ambientais (KUNZ *et al.*, 2002).

A indústria têxtil consome quantidades consideráveis de água durante o processo de tingimento. Os elevados volumes despejados e a composição complexa dos efluentes, fazem com que a indústria têxtil seja considerada uma das mais poluidoras dentre todos os setores industriais (BIZANI *et al.*, 2006).

O tratamento de efluentes contendo corantes é uma preocupação crescente na indústria têxtil devido ao visível impacto estético decorrente do lançamento de compostos coloridos em um corpo hídrico, bem como a possíveis problemas de toxicidade. À medida que a legislação ambiental se torna mais exigente, a efetividade e a redução de custo dos processos de tratamento se tornam mais importantes (KAMMRADT, 2004).

Seguindo a hierarquia do gerenciamento de resíduos, a saber: prevenção, minimização na fonte, reciclagem, e tratamento e disposição, empresas do setor têxtil devem buscar aplicar procedimentos e utilizar matérias primas e insumos não poluentes tanto quanto

possível, evitando a geração de resíduos. As matérias primas utilizadas devem ser processadas de forma a reduzir ao mínimo a geração que não puder ser evitada. Apenas após o ajuste destes aspectos, as empresas devem buscar soluções para uma possível reciclagem ou finalmente para o tratamento e disposição dos resíduos (KAMMRADT, 2004).

Alternativas mais promissoras para resolução de inúmeros problemas ambientais ocasionados pela atividade industrial derivam do estudo de novas tecnologias para o tratamento de efluentes industriais. Nesse contexto, a utilização de processos biológicos baseados na utilização de fungos e bactérias ou na utilização direta de enzimas, têm aparecido como alternativas de grande potencial (FORGIARINI, 2006).

Nas últimas décadas, a utilização de enzimas no tratamento de resíduos vem sendo objeto de inúmeros trabalhos. As enzimas são catalisadores biológicos de natureza protéica, que participam de várias reações bioquímicas do metabolismo celular. A utilização de enzimas com propósitos tecnológicos pressupõe fazer com que estes catalisadores biológicos atuem eficientemente na obtenção e/ou modificação de produtos industrializados (KAMEDA, 2003).

Existem várias enzimas que podem ser aplicadas no tratamento de efluentes industriais. Dentre as enzimas empregadas para a remoção de compostos fenólicos, destacam-se as polifenoloxidasas. A tirosinase é uma polifenoloxidase presente em vários seres vivos, capaz de catalisar a oxidação de fenóis utilizando apenas o oxigênio molecular como cofator e possui ampla distribuição na natureza, o que proporciona um número diversificado de fontes de obtenção. A tirosinase extraída do cogumelo *Agaricus bispora* tem sido bastante investigada, devido à facilidade de obtenção em grandes quantidades (KAMEDA, 2003).

Considerando que a estrutura molecular de corantes reativos apresenta quase sempre grupos hidroxil ligados, uma alternativa aos processos de remoção de cor seria a aplicação de enzimas polifenoloxidasas, que catalisam a reação de o-hidroxilação de fenóis a catecóis e a desidrogenação destes catecóis a quinonas, que são instáveis em meio aquoso, polimerizam e precipitam. Na literatura são encontrados alguns trabalhos sobre a remoção de cor de soluções aquosas com polifenoloxidasas, especialmente com

lacases. Neste trabalho, o emprego de cogumelos *Agaricus bispora* foi avaliado para a remoção de cor de uma mistura sintética de corantes reativos, tendo como meta o aproveitamento de restos da produção do cogumelo, eliminando-se o processo de extração da enzima e reduzindo os custos do tratamento.

1.2 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o emprego direto de cogumelos *Agaricus bispora* como fonte da enzima tirosinase na remoção de cor de um efluente sintético.

Para tal, os seguintes objetivos específicos foram seguidos:

- Avaliar a remoção de cor com diferentes granulometrias de cogumelo;
- Avaliar diferentes modos de processamento dos cogumelos e seu efeito sobre a remoção de cor;
- Avaliar a remoção de cor e atividade enzimática em diferentes lotes e marcas de cogumelo;
- Estudar o efeito da massa de cogumelo utilizada na remoção de cor;
- Realizar ensaios controle para determinação da remoção de cor por adsorção, oxidação química e liberação de produtos pelo cogumelo;
- Estudar a reutilização da matriz fúngica em reações consecutivas;
- Comparar a remoção de cor pelo cogumelo e por extrato enzimático proveniente do cogumelo.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Corantes Têxteis

Corantes são materiais, normalmente aplicados em solução, que se fixam a um substrato, que pode ser um tecido, papel, cabelo, couro ou outros materiais. Preferencialmente, os corantes devem ser estáveis à luz e aos processos de lavagem. Também devem apresentar fixação uniforme com as fibras em todo o substrato (KAMMRADT, 2004).

Pode-se utilizar duas formas diferentes para colorir um material: cobrindo-o com uma substância colorida, ou fazendo com que o material reaja com um composto, de modo a alterar sua coloração superficial. Deste modo, pode-se diferenciar pigmentos de corantes solúveis. A grande diferença entre um pigmento e um corante está na solubilidade, ou seja, um pigmento é insolúvel enquanto que um corante é solúvel no meio aplicado, seja ele água ou qualquer outro solvente. Os pigmentos, se misturados com aglutinantes, produzem tintas para cobertura. Por apresentarem pouca biodisponibilidade, estes pigmentos caracterizam-se por uma baixa toxicidade. No caso dos corantes solúveis, as soluções penetram no substrato, reagindo com o material a ser tingido. Devido a sua alta solubilidade, são altamente biodisponíveis, o que pode ser associado com sua elevada toxicidade (KAMMRADT, 2004).

A tintura de tecidos é uma arte que começou há milhares de anos e a disponibilidade comercial de corantes é enorme. A tecnologia moderna no tingimento consiste de dúzias de etapas que são escolhidas de acordo com a natureza da fibra têxtil, características estruturais, classificação e disponibilidade do corante para aplicação, propriedades de fixação compatíveis com o destino do material a ser tingido, considerações econômicas e muitas outras. Em virtude da alta demanda, vários milhões de compostos químicos coloridos têm sido sintetizados nos últimos cem anos, dos quais cerca de dez mil são produzidos em escala industrial. Entretanto, estima-se que atualmente dois mil tipos de corantes estão disponíveis para a indústria têxtil. Essa diversidade é justificada, uma vez que cada tipo de fibra a ser colorida requer corantes com características próprias e bem definidas (GUARATINI & ZANONI, 2000).

A diversidade estrutural dos corantes e a grande variabilidade na composição dos efluentes gerados nas operações de tingimento são, provavelmente, fatores que colaboram para a recalcitrância das substâncias coloridas (RAMALHO *et al.*, 2002). A complexa estrutura aromática, juntamente com os metais pesados presentes nos efluentes, induzem efeitos tóxicos. O tratamento destes efluentes, assim, é tido como um grande desafio.

No período anterior à metade do século XIX, os corantes eram, quase sempre, extraídos de fontes naturais, de origem principalmente animal ou vegetal. Naturalmente, as propriedades de muitas destas substâncias estavam longe do ideal e este fato, juntamente com a indisponibilidade comercial das fontes de suprimento, encorajaram a busca de corantes sintéticos com propriedades superiores. Hoje, praticamente todos os corantes e pigmentos comerciais disponíveis são substâncias sintéticas, com exceção de alguns pigmentos inorgânicos importantes (KAMMRADT, 2004).

A molécula de corante utilizada para tingimento da fibra têxtil pode ser dividida em duas partes principais: o grupo cromóforo e a estrutura responsável pela fixação à fibra. Existem vários grupos cromóforos utilizados atualmente na síntese de corantes. No entanto, o grupo mais representativo e largamente empregado pertence à família dos azocorantes (Figura 2.1), que se caracterizam por apresentarem um ou mais grupamentos $-N=N-$ ligados a sistemas aromáticos. Os azocorantes representam cerca de 60% dos corantes atualmente utilizados no mundo, sendo extensivamente utilizados no tingimento de fibras têxteis (KUNZ *et al.*, 2002).

A outra parte da molécula de corante, ligada ao grupo cromóforo, é responsável pela fixação do corante à fibra. Existem atualmente várias classes de corantes classificados segundo sua fixação, que serão vistas posteriormente, como por exemplo ácidos, diretos, básicos, de enxofre e reativos, sendo estes últimos os mais utilizados em nível mundial.

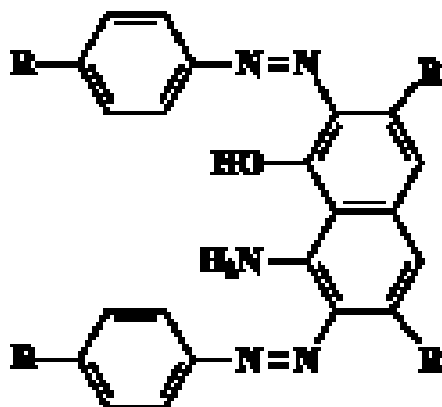


Figura 2.1: Exemplo de uma estrutura química característica de um azocorante (fonte: KUNZ *et al.*, 2002)

2.1.1. Origem dos Corantes

O homem utiliza as cores há mais de 20 mil anos. O primeiro corante a ser conhecido pela humanidade foi o **Negro-de-Fumo** (*Carbon Black*). Por volta de 3.000 a.C., foram produzidos alguns corantes inorgânicos sintéticos, como o **Azul Egípcio**. Sabe-se que os caçadores do Período Glacial pintavam, com fuligem e ocre, as paredes das cavernas reservadas ao culto, criando obras que resistem há milênios. Com o tempo, muitos corantes naturais foram sendo descobertos. O vermelho das capas dos centuriões romanos era obtido de um molusco chamado *Murex*, um caramujo marinho. Outro corante também muito utilizado era o índigo natural, conhecido desde os egípcios até os bretões, extraído da planta *Isatis tinctoria* (www.abiquim.org.br).

O primeiro corante orgânico sintetizado com técnica mais apurada foi o **Mauve**, obtido em 1856, por William H. Perkin. O cientista trabalhava em seu laboratório caseiro, estudando a oxidação da fenilamina, também conhecida como anilina, com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇). Certa vez, ao fazer a reação entre estes compostos, obteve um resultado surpreendente. Após jogar fora o precipitado resultante da reação e lavar os resíduos do frasco com álcool, Perkin admirou-se com o aparecimento de uma bonita coloração avermelhada. Ele repetiu a reação, sob as mesmas circunstâncias, e obteve de novo o corante, ao qual chamou de **Púrpura de Tiro** e que, posteriormente, passou a

ser denominado pelos franceses de **Mauve**. Imediatamente, Perkin patenteou sua descoberta e, com ajuda financeira do pai e do irmão, montou uma indústria de **Mauve** (www.abiquim.org.br).

Após essa descoberta, houve uma corrida dos químicos para conseguir sintetizar outros corantes. Para dar apoio à sua indústria, Perkin montou um amplo laboratório de pesquisa onde conseguiu sintetizar outros corantes. Pode-se ter uma idéia do impacto que foi a descoberta do corante sintético **Mauve** pelo fato de ainda hoje se utilizar o termo "anilina" para designar qualquer substância corante, apesar da anilina em si não ser um corante, mas sim o ponto de partida para a elaboração de corantes (www.abiquim.org.br).

Em 1880, Karl Heumann descobriu uma rota sintética para um dos corantes naturais mais utilizados: o índigo. Sua síntese envolvia a fusão cáustica da N-fenil-glicina, que podia ser obtida pela reação de ácido cloroacético com anilina. As plantações da *Isatis tinctoria* logo deixaram de ser um bom negócio, pois o custo para a sua síntese química era menor do que para seu cultivo e extração (www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/dye/corantes.html).

No fim do século XIX, fabricantes de **corantes sintéticos** estabeleceram-se na Alemanha, Inglaterra, França e Suíça, suprindo as necessidades das indústrias que, na época, fabricavam tecidos, couro e papel. Nos anos de 1994 e 1995, as grandes corporações implantaram unidades fabris próprias ou em parcerias com fabricantes locais em diversos países asiáticos, como China, Índia e Indonésia (www.abiquim.org.br).

Hoje, a indústria de corantes dos Estados Unidos é a maior fonte exportadora destes produtos, colocando no mercado aproximadamente 2000 tipos de corantes sintéticos (GUARATINI & ZANONI, 2000).

2.1.2. Fixação dos Corantes

A forma de fixação da molécula de corante às fibras têxteis geralmente é feita em solução aquosa e pode envolver basicamente quatro tipos de interações: ligações iônicas, de hidrogênio, van der Waals e covalentes.

Interações Iônicas: São tingimentos baseados em interações entre o centro positivo dos grupos amino e carboxilatos presentes na fibra e a carga iônica da molécula do corante (Figura 2.2).

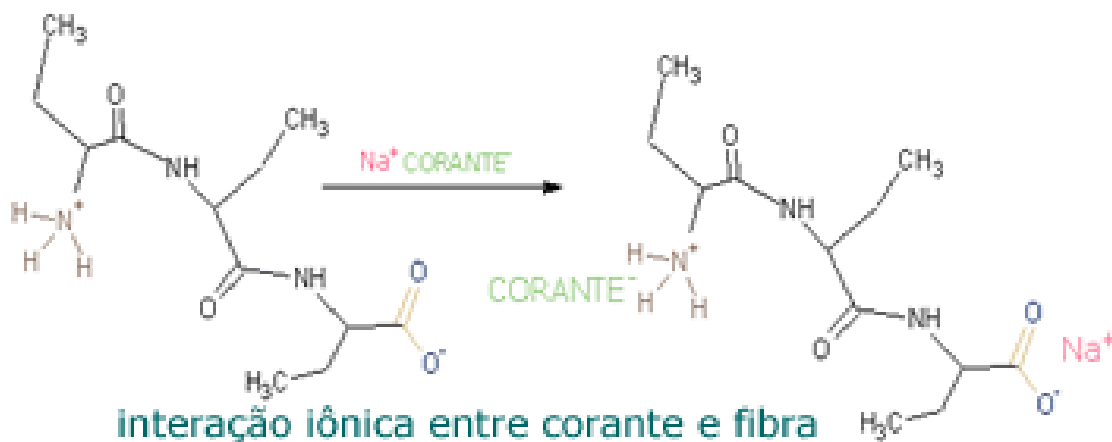


Figura 2.2: Interação Iônica entre uma molécula de corante e uma fibra têxtil.

(fonte: www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/dye/corantes.html)

Interações de van der Waals: As moléculas do corante são “ancoradas” firmemente sobre a fibra por um processo de afinidade, sem formar uma ligação propriamente dita. Esta atração é especialmente efetiva quando a molécula do corante é linear/longa e/ou achatada e pode assim se aproximar o máximo possível da molécula da fibra.

Interações de Hidrogênio: São tinturas provenientes da ligação entre átomos de hidrogênio covalentemente ligados no corante e pares de elétrons livres de átomos doadores em centros presentes na fibra (Figura 2.3).

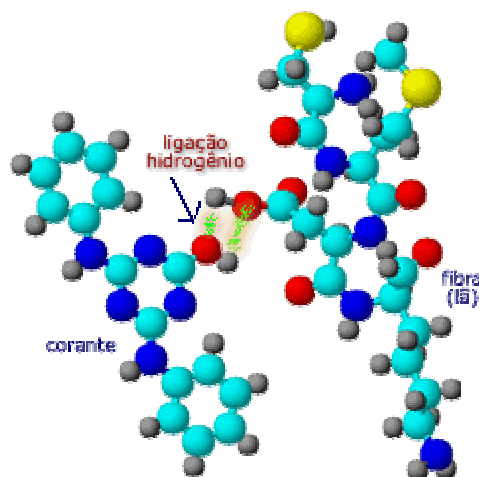


Figura 2.3: Interação de Hidrogênio entre molécula de corante e fibra têxtil
(fonte: www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/dye/corantes.html)

Interações Covalentes: São provenientes da formação de uma ligação covalente entre a molécula do corante contendo um grupo reativo (grupo eletrofilico) e resíduos nucleofílicos da fibra.

2.1.3. Classificação dos Corantes

Os corantes podem ser classificados de acordo com sua estrutura química ou de acordo com o método pelo qual são fixados à fibra têxtil. Para identificar os mesmos corantes, comercializados com diferentes nomes, utiliza-se o *Colour Index* (CI), publicação da *American Association of Textile Chemists and Colorists* e da *British Society of Dyers and Colorists*, que contém uma lista organizada de nomes e números para designar os diversos tipos (www.abiquim.org.br).

Pelo *Colour Index*, os corantes e pigmentos podem ser classificados em 26 tipos, segundo os critérios das classes químicas, e em 20 tipos, além de algumas subdivisões, do ponto de vista das aplicações (www.abiquim.org.br). Os principais grupos de corantes classificados pelo modo de fixação à fibra são mostrados na Tabela 2.1.

2.1.4. O Segmento no Brasil

Desde o descobrimento do Brasil, sua história tem estado relacionada à produção de corantes. A começar pelo nome do país, uma vez que este é proveniente da madeira “Pau-Brasil”, fonte natural de corante avermelhado. Durante grande parte do século XIX, o Brasil também foi fonte principal do índigo natural (extraído da *Indigofera tinctoria*). A produção industrial de corantes sintéticos no país foi introduzida logo após a Primeira Guerra Mundial (GUARATINI & ZANONI, 2000).

A Tabela 2.2 ilustra as principais empresas produtoras de corantes no Brasil. Com pequenas exceções, estas indústrias localizam-se basicamente no eixo Rio-São Paulo e a maioria é dependente de produtos intermediários importados, tais como: derivados de benzeno, naftaleno, tolueno, etc.

Tabela 2.1: Classificação dos corantes segundo o modo de fixação (Fonte: Adaptado de GUARATINI & ZANONI, 2000; UEDA, 2006; KAMMRADT, 2002).

Classe de Corantes	Características	Aplicação
Ácidos	Corantes aniônicos portadores de um a três grupos sulfônicos. São solúveis em água. Fornecem uma ampla faixa de coloração e grau de fixação.	Nylon, seda, couro, lã
Básicos	Corantes catiônicos.	Papel e fibras acrílicas
Reativos	Contêm grupos reativos (eletrofilicos) capazes de formar ligações covalentes com as fibras; altamente solúveis em água.	Algodão, lã, celulose
Diretos	São compostos solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose (algodão, viscose, etc.) através de interações de van der Waals. Esta classe é constituída principalmente por mais de um grupo azo ou pré-transformado em complexos metálicos. A grande vantagem é o alto grau de exaustão durante a aplicação e conseqüente diminuição do conteúdo do corante na águas de rejeito.	Lã e seda, mas também são utilizados em algodão e rayon
Azóicos	São compostos coloridos, insolúveis em água, que são sintetizados sobre a fibra durante o processo de tingimento. O fato de usar um sistema de produção do corante diretamente sobre a fibra, através da combinação de um corante precursor sem grupos sulfônicos e a formação de um composto solúvel, permite um método de tingimento de fibras celulósicas com alto padrão de fixação e alta resistência contra luz e umidade.	Fibras celulósicas
À Cuba	São aplicados praticamente insolúveis em água porém, durante o processo de tintura, são reduzidos com ditonito, em solução alcalina, transformando-se em compostos solúveis. Posteriormente, a subseqüente oxidação pelo ar, peróxido de hidrogênio, etc., regenera a forma original do corante sobre a fibra. Exemplo mais comum: índigo.	Algodão, rayon e linho
Sulfurosos	São altamente insolúveis. São aplicados após pré-redução em banho de ditonito de sódio, que lhes confere a forma solúvel; são oxidados subsequentemente sobre a fibra pelo contato com o ar. Apresentam baixo custo, boas propriedades de fixação e resíduos altamente tóxicos.	Fibras celulósicas
Dispersivos	São insolúveis em água e aplicados na forma de fina dispersão aquosa ou suspensões coloidais às fibras em suspensão.	Acetato, poliéster, nylon e poliacrilonitrila
Pré-Metalizados	São caracterizados pela presença de um grupo hidroxila ou carboxila na posição orto em relação ao grupo cromóforo, permitindo a formação de complexos com íons metálicos.	Lã

Tabela 2.2: Produtores de Corantes e Pigmentos no Brasil.

Empresa	Localização	Tipo de Produto
BANN	SP	Corantes à cuba.
BASF	SP	Corantes ácidos, básicos, diretos, dispersivos, reativos, à cuba, pré-metalizados, pigmentos orgânicos.
BAYER	RJ	Corantes ácidos, dispersivos, pré-metalizados.
BRANCOTEX	SP	Corantes ácidos.
CHIMICAL	SP	Corantes ácidos, básicos, diretos, pré-metalizados.
CIBA	RJ	Corantes ácidos, básicos, diretos, dispersivos, reativos, pré-metalizados.
CLARIANT	SP, RJ	Corantes ácidos, básicos, diretos, dispersivos, reativos, sulfurosos, à cuba, pré-metalizados.
DYSTAR	SP	Corantes ácidos, azóicos, dispersivos, reativos.
ENIA	SP	Corantes ácidos, azóicos, dispersivos, direto, reativos, sulfurosos, à cuba, pré-metalizados, solventes.
HOESCHT (atual Clariant)	SP	Corantes ácidos, pré-metalizados, solventes.

Fonte: GUARATINI & ZANONI, 2000

Para uma análise mais profunda das relações mercadológicas dos corantes, pigmentos e branqueadores ópticos no Brasil, é importante que se compreenda as bases de estrutura

do parque industrial desse setor no País. Para tanto, pode-se afirmar que persistem como suas principais características (www.abiquim.org.br):

- acentuada competitividade;
- produção de vários corantes e pigmentos em unidades fabris que possuem grande flexibilidade de produção;
- grande dependência de matérias-primas e tecnologias importadas.

2.2. Corantes Azo e o Meio-Ambiente

Os corantes sintéticos são extensivamente usados nas indústrias têxtil, gráfica, fotográfica e como aditivos em produtos derivados de petróleo (SELVAN *et al.*, 2003). Noventa e cinco por cento dos corantes reativos são corantes azo. Estes corantes reagem com o substrato, celulose por exemplo, formando uma ligação covalente corante-substrato (KAMMRADT, 2004). A maioria (60-70%) dos corantes utilizados nas indústrias têxteis são compostos azo, isto é, moléculas com uma ou mais ligações azo (-N=N-) ligando estruturas aromáticas (ZEE *et al.*, 2001). A versatilidade desta classe deve-se grandemente à facilidade com que os compostos azo podem ser sintetizados e ao fato de apresentarem boas características de fixação e custo acessível (KAMMRADT, 2004).

Estes corantes são, no entanto, compostos xenobióticos recalcitrantes por possuírem a ligação N=N e, ainda, devido ao fato de poderem conter outros grupos que não são facilmente biodegradáveis como, por exemplo, grupos sulfônicos (SO₃H). Além de serem considerados tóxicos, seu impacto ambiental nocivo é aumentado pela formação de aminas aromáticas (anilinas) consideradas carcinogênicas e/ou mutagênicas, originadas pela quebra redutiva da ligação azo (MARTINS *et al.*, 1999).

As características dos efluentes industriais são bastante variáveis quanto aos tons e concentrações de cor, o que torna mais difícil quantificar a cor de um efluente industrial. Os efluentes têxteis, em particular, apresentam problemas estéticos e ambientais ao absorver luz e interferir nos processos biológicos próprios do corpo hídrico.

A importância da penetração da luz em meios aquáticos é evidente, uma vez que é fator essencial para a ocorrência da fotossíntese e, portanto, pode afetar todo o meio biótico existente num corpo d'água. Existem vários fatores que podem afetar a penetração da luz no meio aquático. Dentre eles se destacam a cor e a turbidez do meio (BRAGA *et al.*, 2002).

A indústria têxtil se encontra entre as indústrias de maior potencial poluidor devido não apenas ao alto consumo de água e, portanto, altos volumes de efluentes (para cada kg de material têxtil produzidos são utilizados de 100 a 300 L de água), mas também à grande variedade de produtos utilizados em cada um dos diferentes processos químicos que se alternam a cada momento, dependendo do tipo de substrato, do tipo de corante e da concentração dos agentes fixadores usados. Devido a isso, efluentes têxteis são considerados de difícil tratamento: apresentam grande variabilidade de compostos químicos orgânicos e inorgânicos, reduzido potencial de biodegradabilidade, presença de metais pesados, alta toxicidade, elevadas vazões e forte coloração. Mas a maior dificuldade enfrentada pelo setor está na remoção da cor, proveniente dos processos de tingimento (BELTRAME, 2000).

Os processos de tingimento e lavagem são as principais fontes de poluição da água nas indústrias têxteis. Estas águas caracterizam-se por possuírem uma cor bastante acentuada, uma vez que cerca de 10-20% do corante inicial não é fixado à fibra durante o processo de tingimento sendo, por isso, liberados para o efluente (CARDOSO & RAMALHO, 2004).

Devido à sua própria natureza, os corantes são altamente detectáveis a olho nu, sendo visíveis em alguns casos, mesmo em concentrações tão baixas quanto 1 ppm (1 mg/L). Este comportamento apresenta vantagens e desvantagens, pois uma pequena quantidade lançada com os efluentes pode causar uma acentuada mudança de coloração dos rios, mas pode também ser facilmente detectada pelo público e autoridades que controlam os assuntos ambientais (GUARATINI & ZANONI, 2000). Além de esteticamente desagradável, essa coloração impede a penetração de luz e a fotossíntese, prejudica a qualidade da água do corpo receptor e pode ser tóxica aos microrganismos utilizados em processos de tratamento biológico, aos organismos da cadeia alimentar e à vida aquática em geral (BELTRAME, 2000).

A moda dita os tipos de tecidos e cores usados e, assim, a natureza do efluente e os tipos de corantes. No entanto, fatores técnicos e econômicos também são importantes ao se determinar os tipos de corantes usados na indústria têxtil. Os corantes mais modernos são desenvolvidos para resistirem à ação do tempo, à exposição à luz solar, água, sabão, alvejantes e à transpiração. Agentes antimicrobianos são frequentemente usados para tornar os tecidos, particularmente as fibras naturais como o algodão, resistentes à degradação biológica. A durabilidade da cor, a estabilidade e a resistência dos corantes à degradação têm dificultado a remoção de cor dos efluentes têxteis, à medida que estes não são degradados sob condições aeróbias prevalentes nas plantas de tratamento biológico (CORREIA *et al.*, 1994).

A cor é uma característica da água que pode fornecer ao observador importantes indícios de fenômenos naturais (como a lavagem do solo pelas enxurradas, por exemplo) e de agressão antrópica (proliferação de algas devido o lançamento de esgotos) ao lago ou reservatório. Dependendo de sua intensidade, pode interferir na medição da transparência e da turbidez, e na absorção de luz, reduzindo a capacidade de reaeração do corpo receptor (CORREIA *et al.*, 1994).

Mesmo não afetando adversamente o ambiente em que são descartados, os corantes alteram as características da água, especialmente quando esta é captada para abastecimento de água potável ou para outros propósitos. Se a água apresenta cor, seu uso pode ser limitado e o efeito antiestético pode conduzir a muitas reclamações e possíveis violações dos limites de descarga (CORREIA *et al.*, 1994).

Deste modo, métodos para remoção da cor das águas residuárias têm recebido enorme atenção nos últimos anos. De um modo geral, a efetividade da remoção da cor pode ser avaliada por um padrão espectrofotométrico, definido na literatura, o qual pode ser usado para controlar a diluição do corante nas águas dos rios.

A maior preocupação com relação aos efluentes têxteis está associada à ampla utilização de corantes sintéticos da família dos azocorantes, os quais possuem caráter carcinogênico e mutagênico, além de elevada resistência à degradação natural (GUARATINI & ZANONI, 2000).

2.3. Processos de Tratamento de Efluentes Têxteis

Os processos têxteis são grandes consumidores de água e de corantes sintéticos, geradores de efluentes volumosos e complexos, com elevada carga orgânica, aliada ao elevado teor de sais inorgânicos. A grande diversidade e complexidade desses efluentes, aliadas a imposições da legislação que exigem tratamentos eficientes, têm levado ao desenvolvimento de novas tecnologias que buscam um tratamento mais eficiente e adequado, considerando custos, tempo e eficiência dos processos existentes na reciclagem e eliminação de toxicidade. A preocupação com a estética e qualidade do ambiente atingido por efluentes coloridos leva à busca de alternativas de descoloração, especialmente de corantes têxteis (KAMIDA *et al.*, 2005). As características típicas dos efluentes têxteis são mostradas na Tabela 2.3 a seguir.

Tabela 2.3: Características Típicas dos Efluentes Têxteis

Parâmetros	Valores
pH	7,0 – 9,0
DBO (mg/L)	80 – 6000
DQO (mg/L)	150 – 12000
SST (mg/L)	15 – 8000
SDT (mg/L)	2900 – 3100
Cloreto (mg/L)	1000 – 1600
Nitrogênio Kjeldahl Total (mg/L)	70 – 80
Cor (Pt-Co)	50 - 2500

Fonte: AL-KDASI *et al.*, 2004

Em geral, na indústria têxtil, os processos de tratamento estão fundamentados na operação de sistemas físico-químicos de coagulação-precipitação, seguidos de tratamento biológico via sistema de lodos ativados. Este sistema de tratamento apresenta uma eficiência relativamente alta, permitindo a remoção de aproximadamente 80% da carga de corantes. Infelizmente, a alta produção de lodo torna-se ainda mais crítica, uma vez que o teor de corantes adsorvido ao lodo é bastante elevado, dificultando o tratamento e descarte adequados deste lodo (KUNZ *et al.*, 2002).

As técnicas de tratamento fundamentadas em processos de coagulação, seguidos de separação por flotação ou sedimentação, apresentam uma elevada eficiência na remoção de material particulado. No entanto, a remoção de cor e compostos orgânicos dissolvidos mostra-se deficiente. É importante enfatizar também que estes processos correspondem a sistemas não destrutivos. Embora o volume dos resíduos possa ser diminuído, a disposição final da fase sólida ainda continua sendo um problema. Em função disto, há uma certa preferência em utilizar processos que degradem a espécie de interesse. Dentre os processos destrutivos, os sistemas biológicos são os mais utilizados, especialmente por terem um custo mais acessível e apresentarem facilidade na implantação.

Os processos biológicos utilizados com maior frequência estão representados pelos sistemas de lodos ativados. Infelizmente, o processo apresenta o grande inconveniente de ser bastante susceptível à composição do efluente (cargas de choque), além de produzir um grande volume de lodo (KUNZ *et al.*, 2002). Além disso, sabe-se que alguns tipos de corantes, especialmente os da classe azo, não são degradados em condições aeróbias.

2.3.1. Processos Disponíveis para o Tratamento de Efluentes Têxteis

2.3.1.1. Processos Físicos

Os métodos físicos têm grande aplicabilidade no tratamento de efluentes têxteis, principalmente através da utilização do carvão ativado como adsorvente. Estudos relacionados a tratamentos físicos são brevemente descritos a seguir (KAMMRADT, 2004).

2.3.1.1.1. Adsorção

As tecnologias de adsorção têm ganhado espaço ultimamente devido à alta eficiência de remoção de poluentes muito estáveis para serem removidos por métodos convencionais. A remoção de cor é resultado de dois mecanismos: adsorção e troca iônica, e é

influenciada por fatores físico-químicos, tais como interação corante/adsorvente, área superficial do adsorvente, tamanho de partícula, temperatura, pH e tempo de contato (ROBINSON *et al.*, 2001).

As técnicas de adsorção têm se baseado na remoção do corante através da passagem da amostra em carvão ativado, sílica gel, bauxita, resinas de troca iônica, derivados de celulose, entre outros. Em geral, oferecem um método lento, porém efetivo, principalmente para pequenos volumes (GUARATINI & ZANONI, 2000).

Carvão ativado

Dentre todos os materiais adsorventes, o carvão ativado é o mais comumente utilizado para a remoção de poluentes de águas residuais. Devido à sua grande capacidade de adsorção, os carvões ativados comerciais são os adsorventes mais efetivos. Essa capacidade se deve às suas características estruturais e sua textura porosa, a qual é responsável pela grande área superficial; e à sua natureza química, que pode ser modificada por tratamento químico, visando melhores propriedades (CRINI, 2006).

A eficiência de remoção depende do tipo de carvão utilizado e das características da água residuária. As taxas de remoção podem ser melhoradas pelo uso de altas doses, apesar de a regeneração e a reutilização resultarem em uma perda de eficiência de remoção. Assim como outros métodos de remoção de corantes, o carvão ativado pode ser um método apropriado para um tipo de efluente e ineficiente para outro (KAMMRADT, 2004).

Algumas desvantagens são o alto custo de aquisição e regeneração de carvões saturados, sua inefetividade para alguns corantes como os dispersivos, bem como perdas de 10 a 15% durante a regeneração. Outra desvantagem se dá em função da superfície química do carvão ser positiva, assim a adsorção de corantes de caráter catiônico é uma limitação bastante importante (KUNZ *et al.*, 2002; YANG & MCGARRAHAN, 2005).

Sílica

Dentre os materiais inorgânicos, os leitos de sílica merecem atenção particular, considerando a reatividade de sua superfície hidrofílica resultante da presença de grupamentos silanol. Além disso, a textura porosa, grande área superficial e estabilidade mecânica também a tornam atrativa para aplicações de descontaminação. Com o intuito de aumentar a interação com corantes, a superfície da sílica pode ser modificada utilizando-se agentes de acoplamento de “silane” com o grupamento amino (CRINI, 2006). KRYSZTAFKIEWICZ *et al.* (2002) identificaram um aumento significativo no potencial de adsorção de alguns corantes em sílica quando esta foi modificada.

Betaciclodextrina

A betaciclodextrina, uma molécula natural derivada do amido, é um oligossacarídeo cíclico que contém uma cavidade hidrofóbica interna. Sabe-se que esta estrutura é capaz de formar complexos com moléculas orgânicas (CRINI, 2003). CRINI (2003) observou altas taxas de adsorção de diferentes corantes em polímeros de betaciclodextrina com um tempo de contato de apenas 1 hora. Além disso, foi constatado que, quanto maior a concentração de betaciclodextrina no polímero, maior era a capacidade de adsorção. Esse polímero apresenta também a vantagem de ser facilmente regenerado com etanol.

Quitina e Quitosana

A adsorção de corantes em biopolímeros como quitina e quitosana é um dos métodos de remoção de cor emergentes. A quitina, poli- β -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina, é um biopolímero celulósico distribuído na natureza, especialmente em invertebrados marinhos, insetos, fungos e leveduras. Uma vez que a quitina possui um grupamento amina, tem como vantagem uma alta capacidade de adsorção e uma fácil dessorção (ANNADURAI *et al.*, 1999). A quitosana tem chamado atenção como agente complexante devido a seu baixo custo comparado ao carvão ativado e sua grande quantidade de grupamentos amino e hidroxila, demonstrando ter um grande potencial de adsorção de uma ampla faixa de moléculas, incluindo compostos fenólicos, corantes e

íons metálicos. Este biopolímero representa uma alternativa atrativa em relação a outros biomateriais devido às suas características físico-químicas, estabilidade química, alta reatividade e seletividade sobre os poluentes (CRINI, 2006).

Estudos mostram que biosorventes à base de quitosana são materiais eficientes e possuem alta afinidade para muitas classes de corantes, além de serem versáteis, permitindo serem usados de diferentes formas, como flocos, gel, em forma de leite ou fibras (CRINI, 2006).

Outros materiais

O uso de outros adsorventes como argila, cinzas, madeira, resíduos agrícolas (espiga de milho, casca de arroz, casca de banana e laranja, etc) entre outros para a remoção de corantes é vantajoso principalmente devido ao fato de serem facilmente disponíveis e de baixo custo. Estes materiais são economicamente atrativos para a remoção de cor quando comparados com o carvão ativado. Porém, apesar de vários estudos sobre adsorventes de baixo custo terem sido publicados, ainda não há informações suficientes para que possa ser feito um estudo comparativo completo entre eles (ANJANEYULU *et al.*, 2005; CRINI, 2006).

2.3.1.1.2. Resinas de Troca Iônica

A troca iônica não tem sido amplamente utilizada para o tratamento de efluentes contendo corantes, principalmente devido à impossibilidade dos trocadores em remover uma grande variedade de corantes. Entretanto, corantes aniônicos e catiônicos podem ser removidos desta forma. As vantagens deste método incluem a manutenção da resina na regeneração, a recuperação do solvente após o uso e a remoção de corantes solúveis. Por outro lado, a maior desvantagem é o custo (KAMMRADT, 2004).

2.3.1.2. Processos Químicos

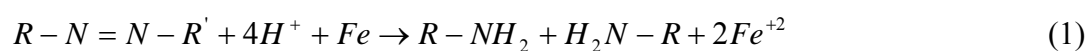
Os processos oxidativos são os mais usados para a descoloração por via química, principalmente devido a sua simplicidade de aplicação. O principal agente oxidante é o peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Alguns métodos de tratamento químico são descritos a seguir (KAMMRADT, 2004).

Ozonização

O ozônio foi utilizado pela primeira vez no início da década de 70, e é um bom agente oxidante (potencial de redução 2,07), comparado com o cloro (1,36) e o H₂O₂ (1,78) (KAMMRADT, 2004). Para o tratamento de efluente têxtil, o ozônio se mostra muito atrativo. Geralmente, os cromóforos encontrados neste tipo de efluente são compostos orgânicos com grande conjugação de ligações duplas. Estas ligações podem ser rompidas por ozônio (direta ou indiretamente) formando moléculas menores, descolorindo assim o efluente (KUNZ *et al.*, 2002).

H₂O₂ – Ferro (Reagente Fenton)

Dentre as várias tecnologias que têm sido desenvolvidas para o tratamento dos efluentes têxteis, destacam-se aquelas fundamentadas na utilização de ferro metálico. Trata-se de um agente de elevado poder redutivo ($E^0 \text{ Fe}^0/\text{Fe}^{2+}$ 0,440V) e baixo custo, que tem sido recentemente relatado em vários estudos relacionados com a redução de compostos orgânicos recalcitrantes. Dentro deste contexto, destacam-se os trabalhos que relatam a redução de compostos nitro, haloaromáticos, além de corantes do tipo azo (SOUZA & ZAMORA, 2005). Nestes processos, o ferro zero-valente reduz substratos orgânicos por transferência de 2 elétrons, com formação concomitante de Fe²⁺ (Reação 1)



Normalmente, o sistema permite uma rápida descoloração de corantes do tipo azo, em razão da rápida redução do grupo cromóforo. Entretanto, o sistema não permite sua mineralização, o que faz com que sub-produtos de redução se acumulem durante o processo (SOUZA & ZAMORA, 2005).

Para tornar este sistema mais eficiente para a degradação de matéria orgânica, aplica-se um processo oxidativo avançado combinado, de maneira a aproveitar a presença de Fe^{2+} decorrente do processo redutivo. O processo oxidativo fundamenta-se na geração do radical hidroxila, por reação entre Fe^{2+} e peróxido de hidrogênio (reação de Fenton, Reação 2) (SOUZA & ZAMORA, 2005).



O uso de processos Fenton em sistemas que contêm ferro metálico e peróxido de hidrogênio tem sido reportado nos últimos anos, com excelentes resultados de degradação de substratos resistentes como metil-terbutil-éter, trinitrotolueno e bifenilas policloradas (SOUZA & ZAMORA, 2005). O reagente Fenton é uma alternativa de tratamento químico para efluentes resistentes ao tratamento biológico ou que sejam tóxicos à biomassa. A maior desvantagem deste método é a geração de lodo pela floculação do reagente e das moléculas do corante. O lodo, que contém as impurezas concentradas, ainda requer disposição final. Pode ser incinerado, pois apresenta poder calorífico, mas são necessários controles para evitar poluição ambiental. O desempenho da remoção de cor depende da formação do floco e de sua capacidade de sedimentação; entretanto, corantes catiônicos não coagulam. Corantes ácidos, diretos, mordentes e reativos normalmente coagulam, mas o floco resultante é de baixa qualidade e não sedimenta bem, dando resultados insatisfatórios (KAMMRADT, 2004).

Hipoclorito de Sódio

Neste método, o cloro ataca os grupos amino da molécula de corante. Isto acelera a quebra de ligações azo. Um aumento da remoção de cor é observado com o aumento da concentração de cloro. O uso de cloro para a remoção de cor está se tornando menos freqüente devido aos efeitos negativos aos corpos receptores à formação de aminas aromáticas, que são carcinogênicas, ou outras substâncias tóxicas (ROBINSON *et al.*, 2001).

PIZZOLATO *et al.* (2002), estudando a descoloração de um efluente, observaram a remoção de cor em poucos minutos usando 1,3 ml/l de NaClO em pH=7.0. Por outro lado, concluíram que a oxidação não foi completa, sendo encontrados muitos compostos de degradação no efluente tratado, incluindo organoclorados.

Processos eletroquímicos

O uso de processos de eletrólise do corante também tem sido empregado como medida alternativa. Neste sistema, a degradação da molécula é realizada eletroquimicamente através de potencial ou corrente controlada, ou através de reagentes secundários gerados por via eletroquímica (GUARATINI & ZANONI, 2000).

Dentre os tratamentos eletroquímicos, a oxidação eletroquímica e a coagulação eletroquímica são os mais efetivos na remoção de cor. Embora alguns processos eletroquímicos envolvam a oxidação direta de poluentes em superfícies anódicas, a maioria dos outros envolve a produção de espécies reativas que reagem com os poluentes alvos. A taxa de oxidação eletroquímica depende do tipo e concentração do eletrólito, da temperatura e densidade.

Outro processo eletroquímico promissor é a coagulação eletroquímica. Placas de alumínio e ferro têm sido utilizadas como anodos para gerar coagulantes que adsorvem e removem corantes orgânicos. Um coagulante de alumínio remove cor por simples adsorção sem envolver reações químicas, enquanto que os coagulantes férricos produzem íons de ferro (Fe^{+2}) para remover os corantes posteriormente. Os processos

que utilizam ferro parecem ser mais efetivos para a remoção de corantes reativos, enquanto que os processos que utilizam alumínio são superiores na remoção de corantes dispersos (YANG & MCGARRAHAN, 2005).

YANG & MCGARRAHAN (2005) estudaram a remoção de cor de corantes reativos, ácidos e dispersivos por coagulação eletroquímica através da formação de coagulantes de alumínio e ferro. Remoções acima de 98% em termos de absorvância foram observadas em condições laboratoriais.

O alto gasto com a energia usada neste processo, além da produção de cloro, radicais hidroxila e outros por reações indesejáveis, tem diminuído a potencialidade deste método. Entretanto, alguns autores têm demonstrado que métodos de degradação via oxidação química ou eletroquímica poderiam ser melhor aproveitados através de investimento em novos estudos visando a geração de metabólitos com características menos tóxicas e diminuição do custo (GUARATINI & ZANONI, 2000).

2.3.1.3. Processos Biológicos

Processos biológicos são freqüentemente utilizados no tratamento de efluentes. Nesses processos ocorre a transformação de compostos orgânicos biodegradáveis em compostos mais simples como CO_2 , H_2O e/ou CH_4 , com custos relativamente baixos. Este tipo de tratamento fundamenta-se na utilização dos compostos presentes no efluente, como substratos para crescimento e manutenção dos microrganismos (FORGIARINI, 2006).

Os processos biológicos podem ser divididos em aeróbios e anaeróbios. Nos processos aeróbios, o aceptor final de elétrons é o oxigênio molecular e os principais produtos finais são CO_2 e H_2O . Nos processos anaeróbios, que degradam os compostos orgânicos principalmente a CO_2 e CH_4 , o oxigênio está ausente, sendo que algumas formas de carbono, enxofre e nitrogênio participam como aceptores de elétrons (FORGIARINI, 2006).

No caso dos corantes azo, como a natureza das ligações azo (-N=N-) obstrui a susceptibilidade das moléculas de corante a reações oxidativas, eles são geralmente resistentes à degradação aeróbia. Por outro lado, a clivagem redutiva das ligações azo pode eventualmente ocorrer sob condições anaeróbias. Esta redução anaeróbia implica na descoloração, ao passo que os corantes azo são convertidos normalmente a aminas aromáticas incolores, mas potencialmente nocivas. Geralmente, estas aminas aromáticas não são degradadas posteriormente sob condições anaeróbias. Contudo, sob condições aeróbias, estas substâncias podem ser removidas. Por esta razão, tratamentos anaeróbio/aeróbio seqüenciais ou integrados são as estratégias mais lógicas para a completa redução de corantes azo em sistemas biológicos (ZEE, 2002).

O acentuado desenvolvimento da biotecnologia tem propiciado muitas alternativas que viabilizam o tratamento biológico de efluentes industriais. Trabalhos recentes destacam que diferentes efluentes são tratados por esses processos. Vários são os processos biológicos que vem sendo estudados para o tratamento dos resíduos da indústria têxtil visando à descoloração destes. Ao longo dos anos inúmeras culturas microbianas têm sido testadas e muitas vêm sendo aplicadas na descoloração de corantes têxteis. A grande motivação dos pesquisadores envolvidos em estudos de biodegradação pode ser expressa pela busca contínua de microrganismos versáteis, capazes de degradar de maneira eficiente um grande número de poluentes a um baixo custo operacional.

Fungos da Podridão Branca

Fungos da podridão branca (ou basidiomicetos) são capazes de degradar corantes utilizando enzimas, tais como ligninaperoxidase (LiP), manganês-peroxidase (MnP) e lacase.

Os caminhos atuais da biotecnologia indicam os fungos basidiomicetos degradadores de lignina como eficientes na degradação de grande variedade de compostos e de corantes, com alto potencial de aplicação na recuperação de ambientes contaminados. O problema da remoção de cor em efluentes industriais tem encorajado a busca de tratamentos biológicos para esta finalidade. Os fungos basidiomicetos têm sido apontados como degradadores e eficientes na descoloração (KAMIDA *et al.*, 2005).

Recentemente, o interesse no versátil fungo da podridão branca *Phanerochaete chrysosporium* tem aumentado por sua habilidade de degradar parcialmente ou completamente poluentes orgânicos recalcitrantes como dioxinas, clorofenóis, nitrotoluenos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Vários corantes azo são decompostos pelas enzimas extracelulares deste fungo, como a ligninaperoxidase (WONG & YU, 1999).

O fungo *P. chrysosporium* demonstra ter capacidade de biodegradar corantes azo através de seus mecanismos oxidativos, o que pode evitar a formação de anilinas e conduzir à completa mineralização do corante (MARTINS *et al.*, 1999), podendo descolorir efluentes têxteis em até 99% em 7 dias (KAMMRADT, 2004).

A utilização de outros fungos como, por exemplo, *Pleurotus ostreatus* e *Trametes versicolor*, para degradação de corantes também vem sendo estudada. Estes fungos caracterizam-se por serem bons produtores de lacase, uma fenoloxidase dependente de cobre. Esta enzima lignolítica tem a capacidade de catalisar reações de desmetilação, que é um passo inicial e importante passo em processos de biodegradação de cadeias poliméricas, com subsequente decomposição de macromoléculas de lignina pelo rompimento de anéis aromáticos e ligações carbono em estruturas fenólicas. Em processos de oxidação de muitos compostos (principalmente de compostos fenólicos) a lacase apresenta especificidade para um grande número de compostos xenobióticos presentes em efluentes industriais (KUNZ *et al.*, 2002).

Comparada à ligninaperoxidase do fungo *P. chrysosporium*, a lacase pode ser produzida por *T. versicolor* sob condições de crescimento associado na presença de carbono e/ou nitrogênio. Além disso, a lacase é uma oxidase com potencial redox de 780 mV e pode catalisar a oxidação de poluentes orgânicos pela redução de oxigênio molecular em água, na ausência de peróxido de hidrogênio (WONG & YU, 1999).

AMARAL *et al.* (2004) estudaram a descoloração de efluentes sintéticos, bem como um efluente industrial, através do fungo *Trametes versicolor*, obtendo 97% de descoloração com os efluentes sintéticos, enquanto que com o efluente real a remoção foi de 92%.

SWAMY & RAMSAY (1999) avaliaram a capacidade de cinco espécies de fungos da podridão branca (*P. chrysosporium* BKM-F-1767, *T. versicolor* ATCC 20869, *Trametes hirsuta*, *Bjerkandera* sp. BOS55 e *Pleurotus ostreatus*) na remoção de alguns corantes. O fungo *T. versicolor* apresentou a maior eficiência e rapidez no processo de descoloração, além de suportar repetidas cargas de diversos corantes e a mistura deles.

Outros fungos, como *Hirschioporus larincinus*, *Inonotus hispidus*, *Phlebia tremellos*, e *Thelephora* sp. também têm sido estudados para o processo de descoloração (ROBINSON *et al.*, 2001; SELVAM *et al.*; 2003).

Bactérias

A habilidade de bactérias em metabolizar corantes azo tem sido estudada por inúmeros pesquisadores. A remoção de cor de corantes azo por bactérias aeróbias nos sistemas de lodos ativados é normalmente baixa (10 - 30%), a qual é associada principalmente a adsorção do corante no lodo ativo. Isso se dá em decorrência da preferência do acceptor final de elétrons, oxigênio, comparada aos corantes azo, pelos elétrons gerados nos processos oxidativos (produção de ATP). Por outro lado sob condições anaeróbias, tais corantes são usualmente os únicos aceptores finais de elétrons, fazendo com que melhores eficiências de remoção sejam alcançadas (60 - 80%) (SANTOS, 2005). O processo redutivo se dá através da atividade de enzimas citoplasmáticas de baixa especificidade presentes nas bactérias, conhecidas como azo redutases. Tais substâncias foram descobertas em organismos do tipo *Pseudomonas* K22 e KF46 e *Pagmentiphaga kullae* K24. Essas enzimas dão origem a amins aromáticas incolores, que são recalcitrantes sob condições anaeróbias e tóxicas aos seres vivos (ROBINSON *et al.*, 2001; PEARCE *et al.*, 2003). Antes de qualquer emissão, pós-tratamentos devem ser incluídos de forma a remover as amins aromáticas.

Algas

A degradação de corantes azo por algas tem sido relatada em poucos estudos. Acredita-se que a degradação envolve a clivagem redutiva das ligações azo, seguida pela

mineralização das aminas aromáticas. As algas têm demonstrado ser capazes de degradar diversas aminas aromáticas, incluindo as sulfonadas. Algumas espécies como *Chlorella pyrenoidosa*, *C. vulgaris* e *Oscillatoria tenuis* têm sido estudadas (ZEE, 2002; FORGACS *et al.*, 2004).

Biossorção

A biossorção pode ser definida como o seqüestro de espécies orgânicas e inorgânicas, incluindo metais, corantes e substâncias causadoras de odor, utilizando-se biomassa viva ou morta. Ao ser aplicada em um processo industrial, a biossorção através de biomassa morta é mais atrativa, pois a natureza tóxica de íons ou poluentes não tem nenhum efeito no processo de sorção neste caso, além de não requerer nutrientes ou manutenção de um ambiente de crescimento (SAFARIKOVÁ *et al.*, 2005).

Os corantes têxteis apresentam uma grande variedade de composição e, portanto, suas interações com os microrganismos dependem da composição de um corante em particular e da composição da biomassa microbiana (ROBINSON *et al.*, 2001). Uma grande variedade de microrganismos, incluindo algas, leveduras, bactérias e fungos, são capazes de atuar como biossorventes na remoção de uma ampla faixa de corantes com elevada eficiência. A remoção de corantes com *Aspergillus niger* e *Rhizopus arrhizus* tem sido estudada recentemente, sendo observado que a biomassa morta de *Aspergillus niger* é um biossorvente promissor (CRINI, 2006). As leveduras também se mostram como fontes potenciais, uma vez que são usadas extensivamente em processos de fermentação em grande escala, podendo ser reaproveitadas para o tratamento em questão.

2.3.2. Processos Emergentes de Remoção de Cor e de Tratamento de Efluentes Têxteis

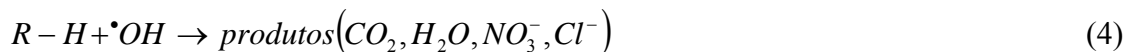
Pesquisas mais recentes têm sido concentradas na busca por alternativas mais eficientes e adequadas para remover cor e compostos recalcitrantes. A seguir serão apresentadas algumas tecnologias emergentes para o tratamento de efluentes têxteis.

2.3.2.1. Processos Oxidativos Avançados (POA's)

A oxidação avançada pode ser definida como a oxidação por compostos com potencial de oxidação (E_0) maior do que o do oxigênio (1,23 V), isto é, peróxido de hidrogênio ($E_0 = 2,07$ V) e radicais hidroxila ($E_0 = 2,28$ V). O peróxido de hidrogênio sozinho, entretanto, normalmente não é muito efetivo. Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) são em sua maioria baseados na geração de radicais altamente reativos (especialmente o radical hidroxila $\bullet\text{OH}$) que podem reagir com uma vasta faixa de compostos, incluindo aqueles de difícil degradação como as moléculas de corante. Os POAs mais amplamente estudados nos últimos anos são: ozonização, reagente Fenton ($\text{Fe}^{+2} / \text{H}_2\text{O}_2$), ambos descritos anteriormente, UV/ H_2O_2 e UV/ TiO_2 , descritos a seguir (ZEE, 2002).

Sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$

Este método degrada as moléculas de corantes em CO_2 e H_2O pelo tratamento com UV na presença de H_2O_2 . A fotólise do H_2O_2 pela radiação UV gera dois radicais hidroxila (reação 3), que agem degradando a matéria orgânica e formando compostos mais simples (reação 4). Quando o H_2O_2 está em excesso pode ocorrer uma reação paralela, que diminui a eficiência de degradação da matéria orgânica (reação 5). Isso ocorre porque o H_2O_2 em excesso age capturando radicais hidroxila (ARAUJO *et al.*, 2006).



A eficiência de remoção é influenciada pela intensidade da radiação, pH, estrutura do corante e composição da tintura. Dependendo do material inicial e da extensão do tratamento, subprodutos adicionais, tais como haletos, metais, ácidos inorgânicos, ácidos e aldeídos orgânicos podem ser produzidos. As principais vantagens do tratamento fotoquímico são a não geração de lodos e redução de maus odores (KAMMRADT, 2004).

ARAUJO *et al.* (2006), estudando a degradação de dois corantes reativos pelo sistema H_2O_2/UV , observaram a remoção completa de cor de soluções contendo estes corantes após 40 a 50 minutos de irradiação.

Sistema TiO_2/UV

A luz ultravioleta tem sido estudada juntamente com H_2O_2 ou catalisadores sólidos como o TiO_2 para a descoloração de efluentes industriais. Enquanto os processos UV/H_2O_2 são lentos, de alto custo e pouco efetivos para aplicações em larga escala, a combinação de UV/TiO_2 é mais promissora (ANJANEYULU *et al.*, 2005).

Quando um semicondutor é exposto à luz ultravioleta, este é promovido a um estado eletronicamente excitado que se caracteriza pela geração de um par elétron-lacuna (e^- , h^+). As características oxidantes do radical hidroxila durante o processo e o caráter fortemente oxidante da própria lacuna, fazem com que as moléculas orgânicas adsorvidas na superfície da partícula do catalisador possam ser oxidadas até completa mineralização, através de um processo bastante viável (KUNZ *et al.*, 2002).

Embora a elevada eficiência da fotocatalise heterogênea permita uma rápida mineralização de inúmeras espécies químicas de relevância ambiental, existem vários inconvenientes de ordem prática que têm dificultado bastante a sua consolidação como alternativa de tratamento em grande escala. Dentre as mais importantes limitações contam-se: 1) necessidade de fontes artificiais de radiação, uma vez que grande parte dos fotocatalisadores apresenta um “band gap” correspondente à região ultravioleta; 2) dificuldade na penetração da radiação no meio de reação e na separação dos fotocatalisadores, uma vez que estes são utilizados na forma de finas suspensões; e 3) dificuldade na implementação de sistemas contínuos em grande escala, principalmente em função dos inconvenientes anteriores (KUNZ *et al.*, 2002).

Muitos estudos visando contornar os inconvenientes acima citados estão sendo realizados no momento. Dentre as várias alternativas estudadas destacam-se: 1) desenvolvimento de fotocatalisadores de maior eficiência (dopagem); 2) implementação de sistemas que operem com fotocatalisadores imobilizados; e 3) utilização de

fotocatalisadores passíveis de ativação por luz solar ou de sistemas assistidos por agentes sensibilizadores (KUNZ *et al.*, 2002).

2.3.2.2. Membranas

Atualmente muitos trabalhos estão sendo desenvolvidos utilizando técnicas com membranas para o tratamento dos efluentes gerados pela indústria têxtil, que têm por objetivo clarificar, concentrar e, o mais importante, separar o corante do efluente. A utilização de tecnologias de membranas, como osmose inversa (OI), microfiltração (MF), nanofiltração (NF) e ultrafiltração (UF), tem se tornado muito atrativa devido ao fato de possibilitarem o reuso da água no processo industrial (KUNZ *et al.*, 2002). Nesta técnica, a metodologia consiste na separação efetiva de moléculas de corantes com dimensão suficientemente grande para serem separadas do efluente. A técnica permite o tratamento de grandes volumes, de modo rápido e satisfatório, porém o custo é alto e a limpeza das membranas é problemática (GUARATINI & ZANONI, 2000).

2.3.2.3. Mediadores Redox

Foi recentemente descoberto que a aplicação conjunta do tratamento anaeróbio com mediadores redox aumentava a redução de corantes azo em até 1 ordem de magnitude, na qual os mediadores redox aceleravam a taxa de transferência de elétrons do doador primário ao acceptor final de elétrons. Tal transferência de elétrons é usualmente limitante do processo de redução. Vitaminas como riboflavina (Vitamina B2), e outras substâncias como as quinonas presentes em húmus e carvão ativado, podem funcionar como mediadores redox. A remoção de cor na presença dessas substâncias se dá em duas fases: a primeira fase consiste na redução enzimática do mediador redox através dos elétrons gerados nos processos oxidativos; e a segunda fase consiste na transferência química desses elétrons para os corantes azo, com a conseqüente regeneração dos mediadores redox (Figura 2.6) (SANTOS, 2005).

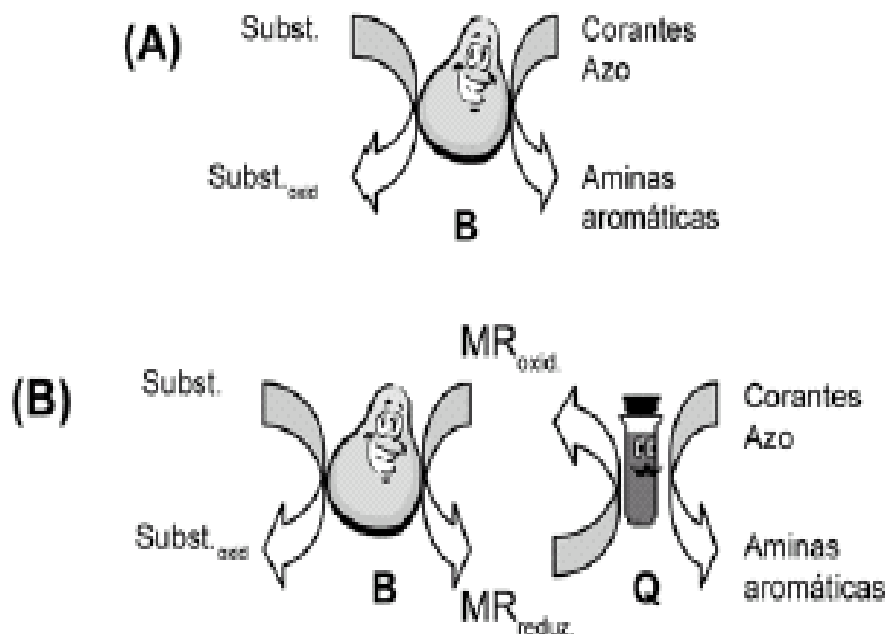


Figura 2.4: Redução anaeróbia de corantes azo por bactéria, na ausência (A) e presença (B) de mediadores redox. (As letras B e Q correspondem às reações biológicas e químicas, respectivamente)

Uma pequena concentração de mediador redox é suficiente para que a transferência de elétrons ocorra. Os mediadores redox são caracterizados por um potencial redox compreendido na faixa de 200 a 350 mV. Fatores determinantes para a reação de redução do corante incluem o potencial redox do mediador em relação ao corante azo e a especificidade das enzimas redutoras em relação ao mediador (PEARCE *et al.*, 2003).

2.3.2.4. Tratamento Enzimático

As enzimas são catalisadores biológicos com grande potencial de aplicação no tratamento de resíduos. O uso de enzimas no tratamento de resíduos foi proposto pela primeira vez em meados de 1930. Contudo, o conceito do uso de enzimas para remover poluentes industriais em misturas de resíduos só foi desenvolvido a partir de 1970 (KAMEDA, 2003).

Em função das desvantagens dos sistemas biológicos tradicionais, muitos estudos tendem a verificar o potencial de novas propostas que estão sendo pesquisadas no

momento. Dentre estas pode-se destacar os estudos envolvendo enzimas ligninolíticas, produzidas a partir do cultivo de fungos da podridão branca. Estima-se que grande parte dos problemas apresentados pelos processos biológicos convencionais poderiam ser contornados com a utilização de reatores enzimáticos (FORGIARINI, 2006).

A crescente utilização de enzimas no tratamento de poluentes específicos e recentes avanços biotecnológicos têm possibilitado a produção de enzimas de menor custo e facilmente disponíveis através de melhores procedimentos de isolamento e purificação. As potenciais vantagens do tratamento enzimático quando comparado a tratamentos convencionais incluem: aplicação em materiais recalcitrantes, atuação em concentrações altas e baixas dos contaminantes, atuação em amplo espectro de pH, temperatura e salinidade, sem necessidade de adaptação da biomassa e o fácil controle do processo, entre outros (FORGIARINI, 2006).

Um grande número de enzimas, provenientes de uma variedade de vegetais e microrganismos, vêm sendo apresentadas como capazes de desempenhar importantes papéis em diferentes aplicações para tratamento de resíduos. No tratamento de efluentes têxteis e de corantes têm-se utilizado enzimas produzidas por fungos. A ligninaperoxidase (LiP) e manganês-peroxidase (MnP) são heme (ferro-porfirina) enzimas, que atuam na presença de peróxido de hidrogênio. A lacase é uma enzima pertencente ao grupo das oxidases que complexam o cobre e é ativada pelo oxigênio. A ligação azo é susceptível à redução, o que gera aminas aromáticas potencialmente carcinogênicas. A oxidação da lacase pode desintoxicar os corantes azóicos porque sua reação libera as ligações azo sob a forma de nitrogênio molecular, o qual não permite a formação de aminas aromáticas (FORGIARINI, 2006).

O emprego de extratos enzimáticos apresenta benefícios consideráveis em relação ao uso direto de microrganismos. Comercialmente, os extratos enzimáticos podem ser facilmente padronizados, permitindo a dosagem precisa. A aplicação é simples e pode ser rapidamente modificada de acordo com as características dos corantes a serem removidos (FORGACS *et al.*, 2004).

Dois grupos de enzimas oxidoredutases têm sido intensamente estudados para aplicação no tratamento de efluentes, que são as peroxidases e as polifenoloxidasas.

2.3.2.4.1. Peroxidases

As peroxidases são hemoproteínas que catalisam reações na presença de peróxido de hidrogênio (DURÁN & ESPOSITO, 2000). São produzidas por inúmeras plantas (raiz-forte, batatas, tomates, soja) e microrganismos (*Phanerochaete chrysosporium*, *Caldariomyces fumago*) (BEVILAQUA, 2000). As peroxidases que mais vêm sendo estudadas no tratamento de efluentes contendo contaminantes aromáticos são: peroxidase de raiz-forte (“horseradish peroxidase” – HRP), ligninaperoxidase (LiP) e manganês-peroxidase (MnP) (BEVILAQUA, 2000).

A HRP é capaz de catalisar a oxidação de uma infinidade de compostos aromáticos como fenóis, bifenóis, anilinas e benzinas, atuando em uma ampla faixa de pH e temperatura (DURÁN & ESPOSITO, 2000). MADDHINNI *et al.* (2006) estudaram a remoção de cor do corante *direct yellow* 12 pelo extrato enzimático de HRP na presença de H₂O₂. Foram obtidas remoções de cor de 70% utilizando a enzima solúvel. Em contrapartida, foram atingidas remoções de 78 e 54% para a enzima imobilizada em leitos de acrilamida e alginato, respectivamente.

As LiP são fortes oxidantes, capazes de catalisar a oxidação de fenóis, aminas aromáticas, éteres aromáticos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (BREEN & SINGLETON, 1999). O álcool veratrílico é o redutor preferido pela LiP e, aparentemente, protege a enzima contra inativação pelo excesso de peróxido de hidrogênio. Na presença de peróxido de hidrogênio, a LiP oxida o álcool a veratraldeído, reação esta comum em ensaios de atividade da LiP. Diversos estudos relatam a remoção de cor de corantes através da LiP extraída do fungo da podridão branca *P. chrysosporium*. OLLIKKA *et al.* (1993) estudaram a remoção de cor de diferentes corantes através de isoenzimas LiP extraídas de *P. chrysosporium* e obtiveram remoções superiores a 75% para a maioria deles. Por outro lado, VERMA & MADAMWAR (2002) obtiveram remoções entre 61 e 83% para outros corantes.

A MnP é encontrada na maioria dos fungos da podridão branca (BREEN & SINGLETON, 1999). Ela é muito semelhante à LiP, entretanto, além do peróxido de hidrogênio requer íons Mn⁺² e oxida Mn(II) a Mn(III).

Enquanto as peroxidases têm potencial de tratamento de uma grande variedade de compostos fenólicos sob amplas faixas de pH e temperatura, a maior preocupação neste tipo de tratamento é o elevado custo com o peróxido de hidrogênio (IKEHATA & NICELL, 2000).

2.3.2.4.2. Polifenol Oxidases (fenoloxidas)

As polifenoloxidas são oxidoreduases capazes de catalisar a oxidação de compostos fenólicos. São subdivididas em duas subclasses, tirosinases e lacases, que reagem com o oxigênio, não necessitando de co-substratos (DURÁN & ESPOSITO, 2000).

As lacases são amplamente encontradas na natureza. Podem ser encontradas em fungos como *Trametes versicolor*, *Rhizoctonia praticola*, em espécies do gênero *Aspergillus* e *Neurospora*, e em plantas (KAMEDA, 2003; BREEN & SINGLETON, 1999). A lacase é uma enzima que promove a oxidação de vários substratos aromáticos com a simultânea redução do oxigênio (O₂) em duas moléculas de água. Apesar desta habilidade catalítica, esta enzima é frequentemente inativada durante a reação devido a uma variedade de condições ambientais que caracterizam os efluentes (pH, concentrações iônicas, inibidores) (KAMEDA, 2003).

Suas propriedades catalíticas e ampla especificidade fazem com que as lacases tenham grande potencial em indústrias variadas e em aplicações ambientais como remoção de cor de efluentes têxteis e degradação de compostos xenobióticos (ZHANG *et al.*, 2006). A atividade da lacase é normalmente limitada a substratos fenólicos ou aminas aromáticas. Entretanto, na presença de um mediador redox (co-substrato) apropriado, pode oxidar compostos não fenólicos que não são substratos específicos (NAGAI *et al.*, 2002).

ZHANG *et al.* (2006) analisaram a remoção de cor com lacase extraída de diferentes fungos e observaram remoções de cor por volta de 70% para o corante Acid Green 27 (antraquinona) sem a utilização de mediadores, e remoção de 81% e 47% para os

corantes Acid Blue 74 e Acid Violet 7 (índigo e azo) utilizando o mediador ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzenotiazoline-6-ácido sulfônico)).

2.3.2.5. Tirosinase

A tirosinase é uma polifenoloxidase que utiliza oxigênio molecular para oxidar fenóis. É capaz de catalisar duas reações distintas: a hidroxilação de monofenóis a catecóis e a oxidação de catecóis a orto-quinonas, ambas utilizando oxigênio molecular, conforme apresentado na Figura 2.7 (SÁNCHEZ-FERRER *et al.*, 1995; DURÁN & ESPOSITO, 2000). As quinonas produzidas são reativas e podem passar por reações não enzimáticas nucleofílicas, formando biopolímeros (HAOULI *et al.*, 2006). O produto desta polimerização possui coloração escura e, dependendo do substrato empregado na reação, precipita após algumas horas (BEVILAQUA, 2000).

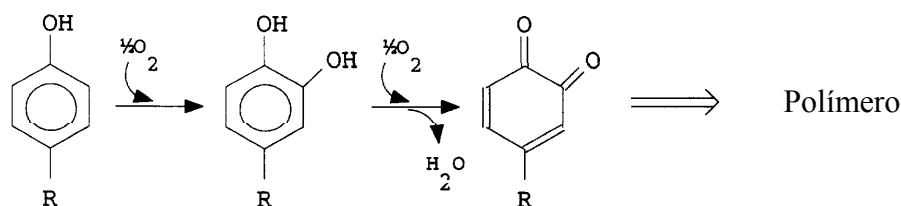


Figura 2.5: Esquema da Reação da Tirosinase (VAN GELDER *et al.*, 1997).

A tirosinase pode ser encontrada em diferentes fontes como cogumelos, batatas, feijões, *Neurospora crassa* e tumores do tipo melanoma em mamíferos (DUCKWORTH & COLEMAN, 1970) e está envolvida na formação de pigmentos como as melaninas e outros compostos polifenólicos (VAN GELDER *et al.*, 1997). A função fisiológica da tirosinase em fungos e plantas ainda não é conhecida (GANDÍA-HERRERO *et al.*, 2005). Nas plantas superiores, a enzima as protege contra insetos e microrganismos, catalisando a formação de uma casca de melanina contra novos ataques. Em insetos, a tirosinase está envolvida na esclerotização do exoesqueleto e na proteção contra outros organismos, encapsulando-os em melanina. Nos mamíferos, é responsável pela pigmentação da pele (VAN GELDER *et al.*, 1997).

O sítio ativo da enzima possui estrutura semelhante ao da hemocianina, contendo dois átomos de cobre e sendo composto por dois sítios de ligação para aromáticos e um sítio de ligação para o oxigênio que está relacionado aos átomos metálicos (BEVILAQUA, 2000).

O mecanismo de atuação da tirosinase é bastante incomum, não só por ela possuir dois tipos de atividade catalítica (catecolase e cresolase), mas também pela existência de uma fase lag na reação de monofenóis. Vários fatores afetam o período da fase lag: concentração de substrato, concentração de enzima, pH e a fonte da enzima (KAMEDA, 2003; BEVILAQUA, 2000; COOKSEY *et al.*, 1997).

Durante a reação de oxidação de catecóis a orto-quinonas ocorre a inativação irreversível da tirosinase, descrita por alguns autores como inativação suicida. Este fenômeno é característico de várias enzimas e se dá quando o produto da transformação catalisada por esta enzima reage com a mesma e resulta na sua inativação irreversível (BEVILAQUA, 2000; KAMEDA, 2003). Esta inativação foi assunto de muitos estudos, porém seu mecanismo permanece desconhecido. Para resolver a questão da inativação, estudos sugerem a imobilização da tirosinase na presença de coagulantes catiônicos como, por exemplo, a quitosana, que reagem com as quinonas geradas na oxidação de fenóis (DURÁN & ESPOSITO, 2000; HAOULI *et al.*, 2006).

Muitas tirosinases de plantas, fungos e invertebrados existem na forma latente, tendo que ser ativadas. No caso da tirosinase proveniente de cogumelos, 99% do total de enzima está presente na forma latente (VAN GELDER *et al.*, 1997).

Diversos estudos avaliam a capacidade da tirosinase em remover fenóis de efluentes. KAMEDA (2003) obteve uma remoção de fenol de 90% em um meio com concentração de 100 ppm de fenol e 200 U/mL de tirosinase extraída de *Agaricus bispora*. A adição de quitosana no meio resultou em um aumento de apenas 5% na remoção de fenol. Da mesma forma, foi observada uma remoção de 90%, utilizando a matriz fúngica (pedaços de cogumelo) ao invés do extrato enzimático.

IKEHATA & NICELL (2000) obtiveram de 95 a 100% de remoção de fenol em 3 horas de reação em um meio com concentração inicial de fenol de 47 mg/L e atividade tirosinase comercial de aproximadamente 7 U/mL.

Com relação a remoção de corantes têxteis utilizando tirosinase, foram encontrados poucos estudos na literatura. SHANMUGAM *et al.* (2005) compararam a remoção de cor de um efluente têxtil por *Pleurotus florida* na ausência e na presença de extrato de tirosinase proveniente de *Agaricus bispora* (proporções iguais). *Pleurotus florida* utilizado individualmente ou combinado com tirosinase removeram mais de 90% da cor do efluente em 24 horas, porém a combinação do fungo com o extrato enzimático proporcionou uma remoção mais rápida.

2.4. Processos Combinados

Para o tratamento de um dado efluente muitas vezes uma solução bastante inteligente é a utilização de processos combinados para uma melhor eficiência do sistema. Estes métodos podem ser utilizados de maneira complementar, de tal forma que possam suprir deficiências apresentadas pelos processos quando aplicados isoladamente.

Para o tratamento de efluentes têxteis, a combinação de métodos mostra-se mais adequada, devido à presença de corantes que normalmente são resistentes à degradação nos sistemas convencionais de tratamento. Em geral, maior ênfase tem sido dada ao estabelecimento de metodologias que combinam os processos biológicos com outras alternativas físicas ou fisico-químicas, tais como floculação, adsorção ou oxidação eletroquímica.

A combinação de processos oxidativos avançados (POAs) utilizando-se peróxido de hidrogênio, ozônio e luz ultravioleta têm sido testada recentemente como alternativa aos processos de tratamento estabelecidos, com resultados promissores. Processos físicos utilizando tecnologias de membranas combinadas principalmente com ozônio também receberam especial atenção no final da década de 90 devido a possibilidade de reuso da água, conforme já discutido anteriormente. A combinação de processos biológicos (anaeróbios-aeróbios) também é útil, pois permite a efetiva descoloração do efluente, principalmente quando azocorantes estiverem presentes no efluente. Fungos,

principalmente os da podridão branca, em combinação com métodos biológicos e químicos também têm sido testados e se mostraram bastante eficientes na descoloração de efluentes e corantes têxteis (KUNZ *et al.*, 2002).

2.5. Análise Comparativa

As vantagens e limitações dos vários métodos de tratamento, além das tecnologias emergentes, são apresentadas na Tabela 2.4.

Tabela 2.4: Quadro Comparativo das Tecnologias de Tratamento (Fonte: ANJANEYULU *et al.*, 2005).

Tecnologia de Tratamento	Vantagens	Limitações
Adsorção com Carvão ativado	Boa eficiência de remoção	Alto custo e perda no processo de regeneração
Adsorção com Sílica	Adsorção frequentemente irreversível e não específica	Baixa resistência a soluções alcalinas (uso limitado a pH abaixo de 8)
Adsorção com Betaciclodextrina	Abundante. Boa remoção de poluentes. Fácil regeneração	Baixa área superficial
Adsorção com Quitina e Quitosana	Grande potencial de adsorção	Superfície não porosa. Eficiência dependente da acessibilidade dos sítios de adsorção e do pH
Adsorção com Madeira	Boa adsorção	Alto tempo de contato e grandes quantidades requeridas
Troca Iônica	Regeneração com baixa perda de adsorvente	Não efetiva para todos os tipos de corantes. Dependente do pH
Ozonização	Efetivo para remoção de corantes azo	Alto custo. Geração de aminas aromáticas. Não é adequado para corantes dispersivos
Oxidação com Fenton	Capaz de descolorir uma ampla variedade de resíduos.	Alto custo
Oxidação com Hipoclorito de Sódio	Requer baixas temperaturas	Alto custo
Processos eletroquímicos	Boa eficiência de remoção de corantes	Alto gasto com energia. Possibilidade de reações indesejáveis.

Tabela 2.4: Quadro Comparativo das Tecnologias de Tratamento (cont.).

Tecnologia de Tratamento	Vantagens	Limitações
Processos Biológicos Anaeróbios	Efetivos para uma grande variedade de corantes. O biogás produzido pode ser usado para geração de energia	Geração de aminas aromáticas nocivas
Processos Biológicos Aeróbios	Efetivos na degradação de aminas aromáticas	Baixa remoção de compostos recalcitrantes
Culturas específicas (fungos, bactérias e algas)	Boa eficiência de remoção para baixos volumes e concentrações de efluentes	Alto custo de manutenção da cultura. Não suporta grandes cargas de efluentes corados
Processos Oxidativos Avançados (POAs)	Mineralização completa garantida	Alto custo
Membranas	Recuperação e reuso de água. Ampla aplicação para resíduos complexos	Os sólidos dissolvidos não são separados neste processo
Mediadores Redox	Fácil disponibilidade. Melhora do processo através do aumento da eficiência de transferência de elétrons	A concentração do mediador pode gerar efeitos antagônicos. Depende da atividade biológica do sistema
Tratamento Enzimático	Atuação em altas e baixas concentrações de contaminantes, em ampla faixa de pH, temperatura e salinidade. Fácil controle	Processo de isolamento e purificação das enzimas lento. Eficiência restringida pela presença de interferentes. Alto custo.

Pode-se concluir que os efluentes têxteis são altamente coloridos devido aos corantes que não aderem às fibras nas operações de acabamento, cuja eficiência de fixação varia com a classe do corante utilizado. Para algumas classes de corantes utilizados nas operações de tingimento, como por exemplo a dos corantes reativos (aplicados aos tecidos de algodão), cerca de 50% dos corantes aplicados são descartados nas águas residuárias, aumentando a concentração da Demanda Química de Oxigênio (DQO) não biodegradável e a cor. Tais efluentes são tóxicos à vida aquática, diminuem a concentração de oxigênio dissolvido e modificam as propriedades e características físicas dos cursos d'água. Além disso, os corantes são altamente detectáveis a olho nu, podendo causar mudanças de coloração dos rios. Ultimamente, a preocupação com a ampla utilização dos azocorantes, altamente carcinogênicos e mutagênicos cresce cada vez mais. O grande consumo de água por parte dos processos têxteis, aliado à grande diversidade e complexidade destes efluentes, fez com que o estudo por métodos de tratamento mais eficientes ganhassem atenção nos últimos anos.

Assim, os efluentes têxteis normalmente são tratados por processos físico-químicos e biológicos convencionais (coagulação química e lodos ativados), os quais apresentam bons resultados na redução de matéria carbonácea, mas têm como inconveniente baixas eficiências de remoção de cor, alta produção de lodo e a necessidade de disponibilização de grandes áreas para implantação do processo de tratamento e de aterros controlados industriais para disposição do lodo gerado.

Processos alternativos para remoção biológica de cor têm recebido especial atenção, como a aplicação de culturas puras de fungos da podridão branca com capacidade para atuar na degradação de corantes através do sistema enzimático ligninaperoxidase, assim como a aplicação de lacases e peroxidases.

Considerando que a estrutura molecular de corantes reativos apresenta quase sempre grupos hidroxil ligados, uma alternativa aos processos de remoção de cor seria a aplicação de enzimas polifenoloxidasas, que catalisam a reação de o-hidroxilação de fenóis a catecóis e a desidrogenação destes catecóis a quinonas, que são instáveis em meio aquoso, polimerizam e precipitam.

Na literatura são encontrados alguns trabalhos sobre a remoção de cor de soluções aquosas com polifenoloxidasas, especialmente com lacases. No entanto, não há relatos na literatura acerca da aplicação da tirosinase ou do cogumelo *Agaricus bispora* na remoção de cor.

Diante deste contexto, avaliou-se neste trabalho o emprego de cogumelos *Agaricus bispora* para a remoção de cor de uma mistura sintética de corantes reativos, tendo como meta o aproveitamento de restos da produção do cogumelo, eliminando-se o processo de extração da enzima e reduzindo os custos do tratamento.

3. Materiais e Métodos

3.1. Materiais

A Tabela 3.1 abaixo apresenta os materiais utilizados e seus respectivos fornecedores.

Tabela 3.1. Relação de materiais e seus fornecedores.

Materiais	Fornecedor
Acetona	VETEC
Albumina de soro bovino (BSA)	SIGMA
Corante Reactive Yellow 37	DYSTAR
Corante Reactive Black 5	DYSTAR
Corante Reactive Red	DYSTAR
K_2HPO_4	NUCLEAR
NaOH	QUIMEX
Na_2SO_3	GRUPO QUÍMICA
Reativo de Folin	QEEL
L-tirosina	SIGMA
Membranas de éster de celulose (0,45 μ m)	MILLIPORE

3.2. Equipamentos

Os seguintes equipamentos foram utilizados no desenvolvimento do trabalho:

- Agitador orbital Tecnal TE-420
- Compressor de ar Chiaperini CJ 10 BPV 200
- Espectrofotômetro Hach DR/4000UV
- Espectrofotômetro Hach DR/2000
- Bomba à vácuo Motores Elétricos Brasil S.A. M 25-5
- pHmetro Actron DL-14
- Medidor de oxigênio dissolvido Digimed modelo DM-4

3.3. Métodos

3.3.1. Origem dos Cogumelos

Os cogumelos do tipo champignon paris (*Agaricus bispora*) utilizados neste trabalho foram adquiridos em um mercado local. Como estes eram usados logo após a aquisição (em 24 horas no máximo), para cada ensaio conduzido era feita uma aquisição. Assim, não foi possível utilizar cogumelos de um mesmo revendedor, sendo utilizadas as marcas Fiori di Zucca, Cogumelos Online, Cogumelos Yuri *in natura* e Ludolf. No entanto, todos os lotes utilizados apresentavam aparência similar, com coloração branca a levemente amarronzada. Os cogumelos eram conservados sob refrigeração (4°C) até o momento de seu processamento e utilização.

3.3.2. Obtenção do Efluente Sintético

O efluente sintético testado neste trabalho foi simulado através de uma mistura dos corantes reativos Reactive Yellow 37, Reactive Red e Reactive Black 5 (com 333,3 mg/L de cada corante). Os corantes eram diluídos em solução tampão fosfato 0,1 mol/l, pH 7,0, sendo esta solução estoque mantida à temperatura ambiente e usada para simular o efluente sintético através de diluição apropriada no mesmo tampão fosfato.

As estruturas dos corantes, fornecidos pelo SENAI/CETIQT, são apresentadas na Figura 3.1. Estes corantes foram selecionados por serem normalmente utilizados em operações de tingimento da indústria têxtil e por apresentarem grupos fenólicos em sua estrutura.

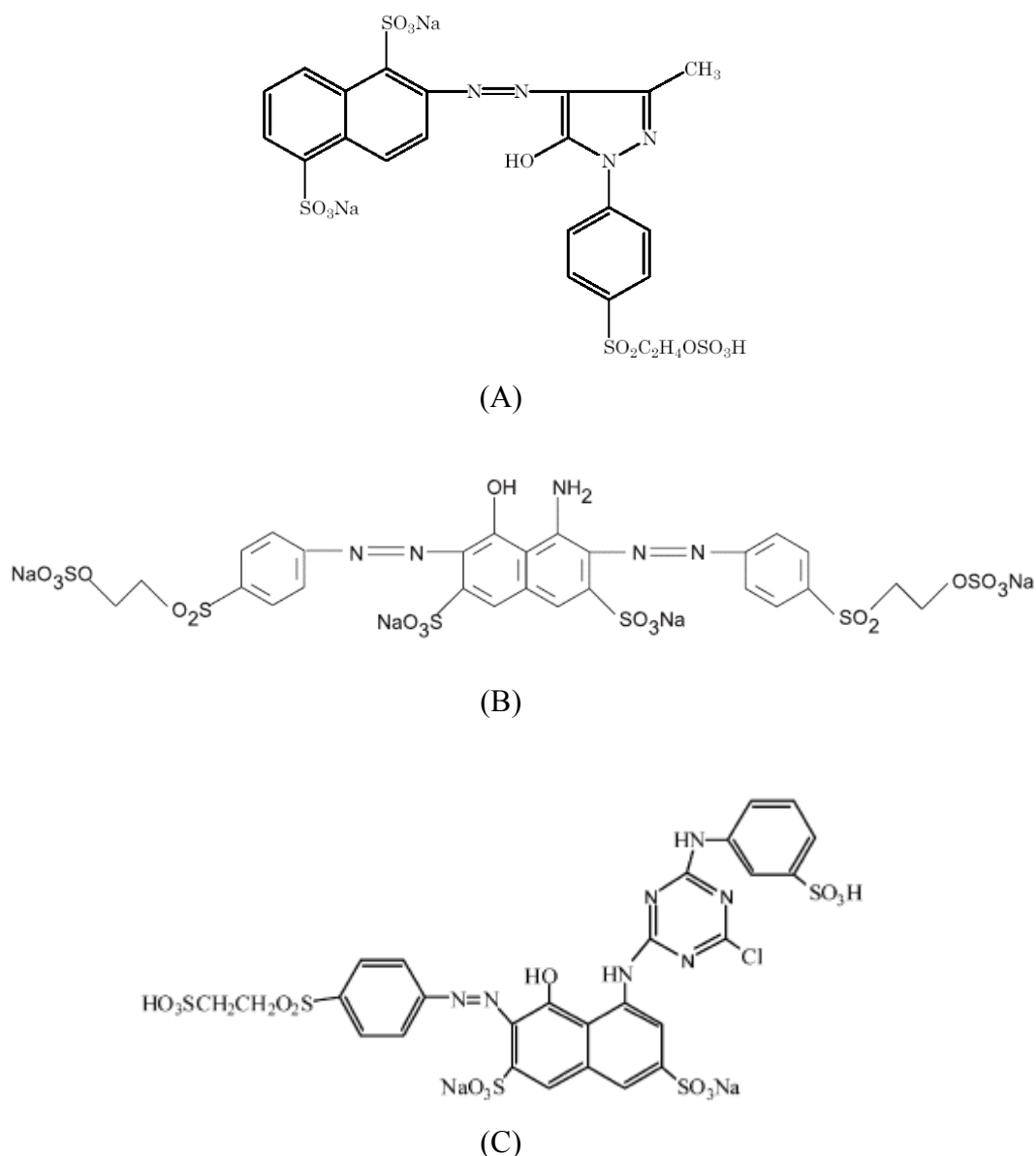


Figura 3.1. Estruturas dos corantes Reactive Yellow 37 (A) (YASUKAWA *et al.*, 2006), Reactive Black 5 (B) (PEREIRA & FREIRE, 2006) e Reactive Red (C) (JANUS & MORAWSKI, 2007).

3.3.3. Seleção do Melhor Comprimento de Onda para Medida da Remoção de Cor

Realizou-se uma varredura de espectro de absorção na faixa de 200 a 650 nm com a mistura de corantes utilizada como efluente sintético, diluída em tampão fosfato de potássio 0,1 mol/l, pH 7,0, na proporção de 1:100. Tal procedimento teve como objetivo a seleção do melhor comprimento de onda para o acompanhamento dos experimentos de remoção de cor conduzidos ao longo do trabalho.

3.3.4. Ensaios Preliminares

Os experimentos preliminares foram conduzidos à temperatura ambiente ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$), sob agitação de 150 rpm, em erlenmeyer de 500 ml tampado com bucha de algodão, com 250 ml de solução de corantes diluída na proporção de 1:5 e 40 g de cogumelos cortados em cubos de 1 cm. Foram realizados experimentos em triplicata sem aeração e com aeração inicial de 5 minutos da solução de corantes diluída. A aeração inicial era feita através de borbulhamento de ar comprimido por 5 minutos, antes do início do experimento, empregando-se um difusor poroso imerso no seio da solução. A remoção de cor foi acompanhada ao longo do tempo.

Outros experimentos com solução de corantes diluída a 1:25 e 40 g de cogumelos cortados em cubos de 0,5 cm foram feitos a fim de confirmar a importância da aeração. Para isso, foram feitos experimentos com aeração inicial de 5 minutos e aeração contínua em erlenmeyer com agitação. A remoção de cor também foi acompanhada ao longo do tempo.

3.3.5. Condução dos Ensaios

Os experimentos foram conduzidos, em triplicata, em provetas de 1000 ml contendo 250 ml de efluente sintético diluído na proporção de 1:25, à temperatura ambiente ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$), onde eram adicionados os cogumelos, e sob aeração contínua com ar comprimido através de difusores porosos. O ar introduzido nas provetas era gerado em um compressor, passava por filtros para retenção de partículas e óleo e por rotâmetro. O maior fator de diluição se deve aos altos valores de absorvância obtidos nos ensaios preliminares, havendo a necessidade de diluir as amostras no ato da leitura de absorvância, o que poderia gerar interferência nos resultados. Todos os experimentos descritos nos subitens abaixo basearam-se neste procedimento.

O aparato experimental utilizado para a condução dos ensaios pode ser visto na Figura 3.2 a seguir.

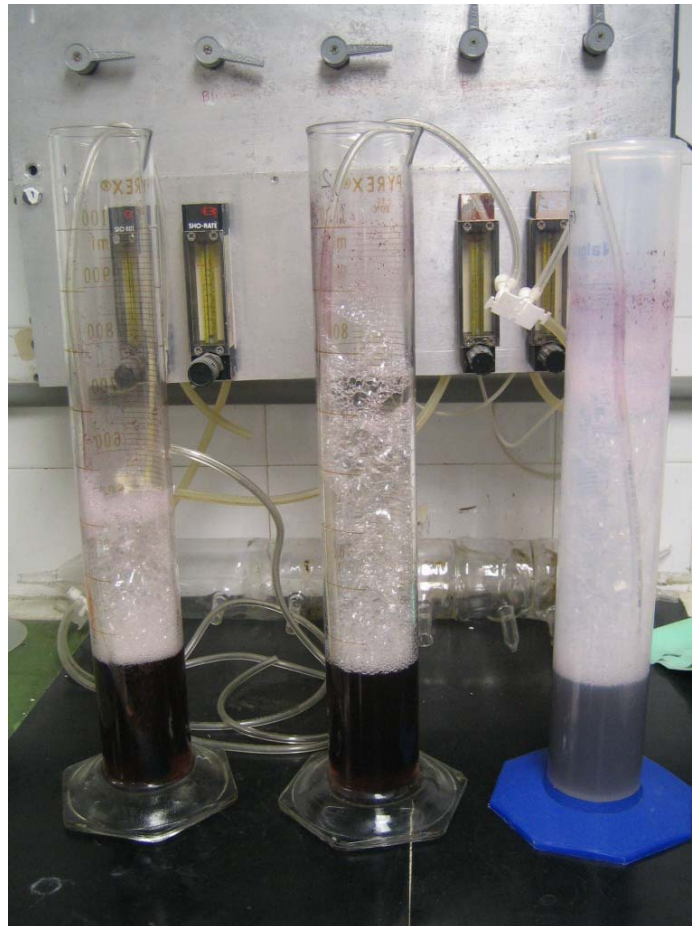


Figura 3.2: Esquema Experimental Empregado nos Ensaio de Remoção de Cor.

3.3.5.1. Efeito da Granulometria dos Cogumelos

A fim de avaliar o efeito da granulometria dos cogumelos na remoção de cor, 40 g de cogumelos do tipo champignon paris (*Agaricus bispora*) cortados em cubos de 0,5 ou 1,0 cm ou moídos foram acrescentados ao efluente sintético e mantidos em suspensão devido à aeração. A remoção de cor foi acompanhada ao longo do tempo

3.3.5.2. Processamento dos Cogumelos

Com base no procedimento proposto por ATLOW *et al.* (1984) e BEVILAQUA (2000) para extração da enzima dos cogumelos, foram testados três modos de processamento dos cogumelos, a fim de facilitar o contato da enzima com os corantes, os quais são descritos a seguir:

- a) Os cogumelos foram lavados e moídos com água destilada gelada (1 g cogumelo:1 ml água) em liquidificador na potência máxima por 2 minutos, sendo em seguida filtrados em tecido de algodão;
- b) Os cogumelos foram lavados com água destilada e moídos com acetona gelada (1 g cogumelo:1 ml acetona), lavados novamente por três vezes com água destilada gelada e filtrados;
- c) Os cogumelos foram lavados com água destilada e moídos com acetona gelada (1 g cogumelo:1 ml acetona), lavados três vezes com água destilada gelada, filtrados e congelados por 12 horas.

A remoção de cor obtida usando os cogumelos processados de acordo com os itens a, b e c acima descritos foi acompanhada de acordo com o procedimento detalhado no item 3.3.5. A duração dos experimentos foi de 6 horas.

A Figura 3.3 abaixo mostra o aspecto da massa de cogumelo após o processamento pelo modo c.



Figura 3.3: Cogumelos processados.

3.3.5.3. Avaliação de Diferentes Marcas e Lotes de Cogumelos

Após selecionado o procedimento mais adequado para processamento dos cogumelos, diferentes lotes e marcas de cogumelo foram avaliados quanto à atividade enzimática e remoção de cor após 6 h de reação com solução de corante diluída a 1:25 e sob aeração contínua. Este menor tempo de experimento foi selecionado tendo em vista que, nos diversos experimentos realizados, a cor se estabilizava após cerca de 4 h de reação. A atividade enzimática foi determinada em extratos obtidos conforme descrito no item 3.3.7.1., sendo reportada em relação à massa seca de cogumelos processados.

3.3.5.4. Efeito da Massa de Cogumelo Utilizada

Tendo em vista a baixa disponibilidade dos sítios ativos enzimáticos nos cogumelos, procurou-se avaliar o efeito da massa de cogumelo sobre a remoção de cor. Para tal, diferentes massas (10, 20, 40, 60 ou 80 g) de cogumelos processados foram avaliadas em ensaios de remoção de cor, sendo os experimentos conduzidos de acordo com o item 3.3.5.

3.3.5.5. Controles

A fim de verificar que parcela de remoção de cor poderia ser atribuída somente à ação enzimática, foram realizados ensaios controle conduzidos de forma análoga ao descrito no item 3.3.5 com 20 g de cogumelo e 6 horas de duração. Estes controles tiveram como objetivo analisar a remoção de cor por adsorção, oxidação química ou ainda verificar a interferência de possíveis produtos liberados pelos cogumelos.

3.3.5.5.1. Remoção de Cor por Adsorção

Para detectar a adsorção dos corantes no efluente sintético ao cogumelo moído, experimentos controle foram conduzidos com borbulhamento de N₂ ao invés de ar e estes foram comparados com os experimentos com aeração contínua, conduzida com diferentes massas de cogumelo.

Outro controle foi feito através da adição de um sequestrante de oxigênio (sulfito de sódio) juntamente com borbulhamento de N_2 , a fim de garantir a ausência completa de O_2 no meio reacional. A quantidade necessária de sulfito de sódio foi calculada estequiometricamente com base na concentração inicial de oxigênio dissolvido, sendo adicionado um excesso para garantir a ausência completa de oxigênio dissolvido durante todo o experimento controle. Em todos os ensaios, a remoção de cor foi acompanhada ao longo do tempo.

3.3.5.5.2. Remoção de Cor por Oxidação Química

Ensaio controle foram feitos com aeração contínua e ausência de cogumelos, para se avaliar a remoção de cor por oxidação química ao longo de 6 horas.

3.3.5.5.3. Efeito da Liberação de Produtos pelos Cogumelos

Levando-se em conta a possibilidade de que os cogumelos pudessem estar liberando produtos que influenciariam negativamente a remoção de cor por ação enzimática, foram realizados experimentos com 20 g de cogumelos e aeração contínua, os quais foram comparados a controles com solução tampão na presença de cogumelos com aeração ou borbulhamento de N_2 .

3.3.6. Ensaio com Reutilização do Cogumelo

De forma a se avaliar a remoção de cor frente ao saturamento dos sítios ativos dos cogumelos com os corantes e para que se pudesse verificar a remoção pela ação enzimática e não somente por adsorção, foram feitos experimentos com a reutilização dos mesmos de um ensaio para o seguinte. Para tal, foram conduzidos experimentos consecutivos de 4 horas de duração, conforme descrito no item 3.3.5, reutilizando o cogumelo de um ensaio para o outro. Cabe ressaltar que entre cada ensaio foi feita uma rápida lavagem superficial dos cogumelos processados com o objetivo de eliminar o excesso de corante aderido na superfície dos mesmos, os quais passaram de uma coloração escura para mais clara.

3.3.7. Avaliação da Remoção de Cor por Extrato Enzimático

3.3.7.1. Obtenção do Extrato Enzimático

A obtenção do extrato enzimático baseou-se no processo utilizado por ATLOW *et al.* (1984) e BEVILAQUA (2000) utilizando os cogumelos *Agaricus bispora* para a extração de tirosinase. Este método consiste em ressuspender os cogumelos processados anteriormente (modo c), em água destilada (340 g cogumelo:150 ml água destilada) durante 24 horas a 4°C e em seguida filtrar em tecido. O extrato é o filtrado desta última etapa.

A seguir, a Figura 3.4 mostra o aspecto do extrato enzimático obtido.



Figura 3.4: Extrato Enzimático.

3.3.7.2. Experimentos com Extrato Enzimático

Para efeito de comparação, foram realizados ensaios de remoção de cor usando o extrato enzimático obtido a partir dos cogumelos. Para isso, foram feitos experimentos em triplicata em provetas de 1000 ml contendo ao todo 250 ml de solução formada por

efluente sintético, extrato enzimático e solução tampão. A proporção de cada um foi dependente da atividade enzimática encontrada no extrato, sendo que esta influenciou na quantidade de extrato adicionado para se obter 100 U de atividade nos 250 ml de solução final. A proporção da solução de corantes foi calculada de maneira a ter um fator de diluição de 1:25 e os experimentos também foram conduzidos sob aeração contínua.

3.3.8. Métodos Analíticos

3.3.8.1. Cor

A cor do efluente sintético e das amostras obtidas nos experimentos foi quantificada por leitura de absorvância no comprimento de onda de 520 nm determinado experimentalmente, sempre no mesmo valor de pH (7,0), em cubetas de 1cm de comprimento ótico em espectrofotômetro Hach DR2000.

3.3.8.2. Atividade Enzimática

A atividade tirosinásica foi medida segundo CAMPOS *et al.* (1996). Em um tubo de ensaio contendo 5,5 ml de solução tampão fosfato de sódio 0,5 mol/l, pH 6,0, e 1,5 ml de solução de L-tirosina 0,2 mol/l, foi adicionado 1 ml do extrato enzimático previamente diluído a 1:10 no mesmo tampão. A variação de absorvância foi lida a 280 nm em intervalos de 30 s durante 999 s. A unidade de atividade tirosinásica é definida como a quantidade de enzima que provoca o incremento de 0,001 na absorvância a 280 nm por minuto, sendo calculada da seguinte forma:

$$A = \frac{(Abs_2 - Abs_1) \times 1000 \times D_E}{(t_2 - t_1) \times V_E} \text{ (U/mL) (eq 1)}$$

onde:

Abs_1 e Abs_2 = absorvâncias nos tempos t_1 e t_2 na fase de aumento linear da curva Abs x t

t_1 e t_2 = tempo em minutos

V_E = volume da solução enzimática (1 ml)

D_E = diluição do extrato enzimático

3.3.8.3. pH

O pH foi determinado em pHmetro Actron DL-14 previamente calibrado com soluções tampão a pH 4,0 e 7,0.

3.3.8.4. Dosagem de Proteínas

A dosagem de proteínas foi feita de acordo com o método de Lowry (LOWRY *et al.*, 1951). Os seguintes reagentes foram preparados:

- Reagente A: solução de Na_2CO_3 2% (m/v) em NaOH (0,1 mo/L)
- Reagente B: solução de CuSO_4 1% (m/v)
- Reagente C: solução de tartarato de sódio e potássio 2% (m/v)
- Solução padrão de proteína: Preparou-se inicialmente uma solução de 0,1 mg/mL de BSA (albumina do soro bovino) e realizaram-se diluições de forma a obter soluções padrões com concentrações de 0,0 a 0,1 mg/mL.

Inicialmente, fez-se uma mistura dos reagentes A, B e C na proporção de 100:1:1 em volume. A 1 mL de amostra ou solução padrão, adicionou-se 4 mL da mistura e deixou-se por 10 minutos em repouso no escuro à temperatura ambiente. Adicionou-se 0,4 mL do reagente de Folin, previamente diluído em água (1:2) e deixou-se reagir por 30 minutos no escuro à temperatura ambiente. Ao fim destes 30 minutos, realizou-se a leitura de absorvância a 660 nm. A concentração de proteína foi calculada a partir da equação obtida pela curva padrão.

4. Resultados e Discussão

4.1. Seleção do Melhor Comprimento de Onda para Medida da Remoção de Cor

A Figura 4.1 abaixo mostra o resultado obtido para a varredura do espectro de absorção na faixa de comprimento de onda de 200 a 650 nm realizado para selecionar os comprimentos de onda mais adequados ao acompanhamento da variação de cor nos experimentos.

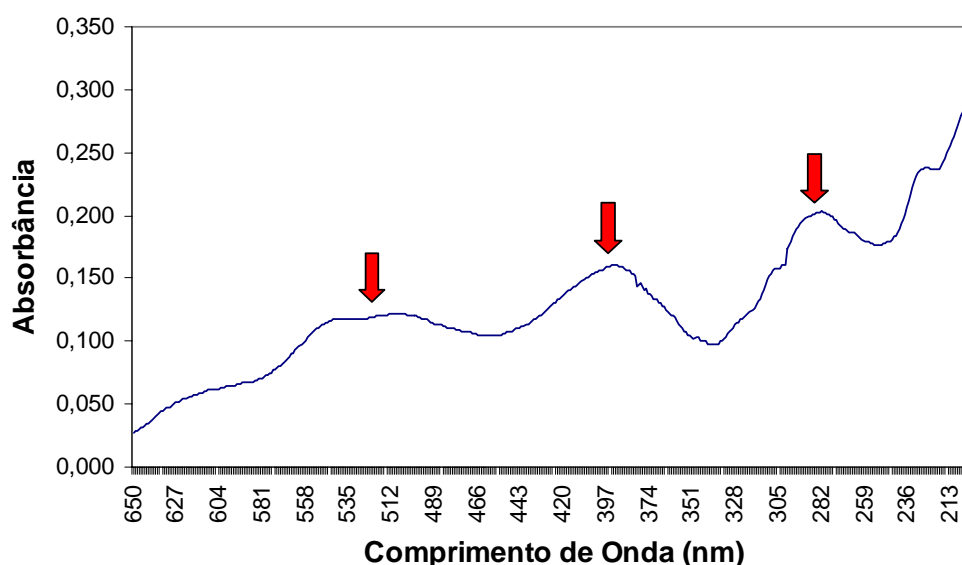


Figura 4.1: Varredura do Espectro de Absorção da Solução de Corantes Diluída a 1:100 em Tampão Fosfato 0,1 mol/l, pH 7,0.

As setas vermelhas apontam os comprimentos de onda de máxima absorbância, por volta de 520, 400 e 280 nm. Para a análise da remoção de cor nos experimentos a serem realizados posteriormente, foram escolhidos os comprimentos de onda de 400 e 520 nm, uma vez que o de 280 nm não está compreendido na faixa do visível, além de ser usualmente empregado na monitoração de proteínas, que eventualmente poderão estar presentes no sistema, mascarando a análise de cor. No entanto, os primeiros ensaios apresentaram sensibilidades muito reduzidas a 400 nm, sendo selecionado somente o comprimento de onda de 520 nm para medida da remoção de cor nos demais ensaios.

4.2. Ensaios Preliminares

A Figura 4.2 apresenta os resultados preliminares obtidos nos experimentos com solução de corantes diluída a 1:5 e cogumelos cortados em cubos de 1 cm com aeração inicial de 5 minutos e sem aeração.

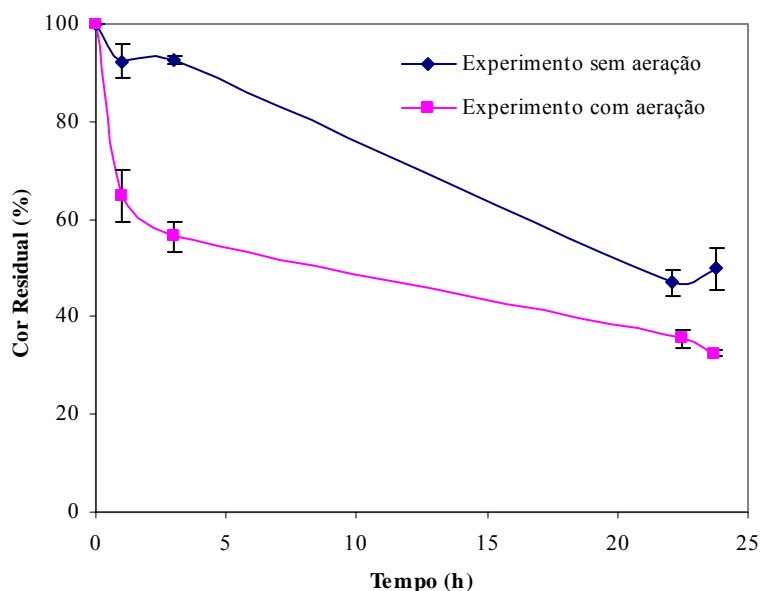


Figura 4.2: Cor Residual nos Ensaios Preliminares com 40 g de cogumelos em cubos de 1 cm.

Após 24 horas de agitação, foram obtidas remoções de cor de $51,3 \pm 0,1\%$ nos experimentos sem aeração e $69,1 \pm 0,0\%$ nos experimentos com aeração inicial de 5 minutos. Sendo assim, percebe-se que a aeração é um fator importante para a remoção de cor. De fato, conforme apresentado anteriormente (item 2.2.4.2), as reações catalisadas pela enzima polifenoloxidase necessitam de oxigênio como cofator.

Além de contribuir para uma maior remoção final de cor, a presença de maior concentração de oxigênio dissolvido no meio reacional acelerou a taxa de reação, obtendo-se em 4 horas de reação remoções de $7,4 \pm 0,8\%$ e $43,6 \pm 3,2\%$ sem aeração e com aeração inicial de 5 minutos, respectivamente. Assim, os experimentos seguintes foram conduzidos com fornecimento contínuo de ar.

Devido a necessidade de uma diluição elevada das amostras no ato da leitura de absorbância a 520 nm para medida da cor residual, que poderia interferir no resultado

final, nos experimentos seguintes adotou-se uma diluição da solução de corantes de 1:25 para simular o efluente sintético. Esta diluição apresentava uma absorbância a 520 nm de 0,600, ainda considerada equivalente à cor apresentada por efluentes têxteis.

Na Figura 4.3 pode-se observar que a aeração contínua, comparada à aeração inicial, resultava em maior remoção de cor ao final de 22 h de ensaio. Enquanto a aeração inicial resultou em $31,6 \pm 0,6\%$ de remoção de cor, a aeração contínua resultou em $42,7 \pm 2,9\%$, confirmando a importância da presença de níveis adequados de oxigênio dissolvido no meio reacional.

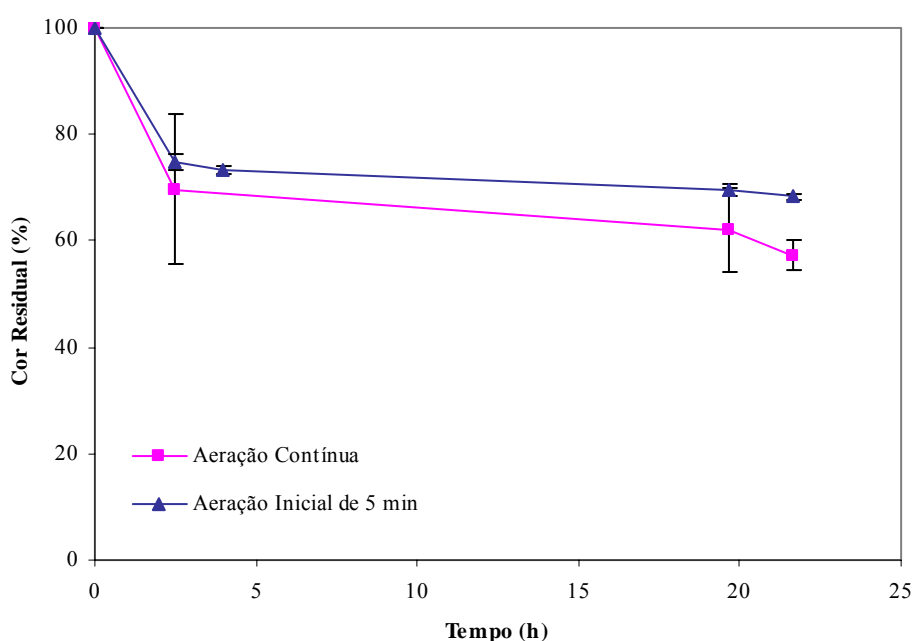


Figura 4.3. Cor Residual nos Ensaio Preliminares com 40 g de cogumelos em cubos de 0,5 cm.

4.3. Efeito da Granulometria dos Cogumelos

A fim de avaliar a remoção de cor mediante diferentes tamanhos de partículas do cogumelo, foram conduzidos experimentos com 40 g de cogumelos cortados em cubos de 1 cm e 0,5 cm ou moídos. A cor foi acompanhada durante 22 h em cada um dos ensaios. A Figura 4.4 a seguir apresenta a remoção de cor ao longo do tempo.

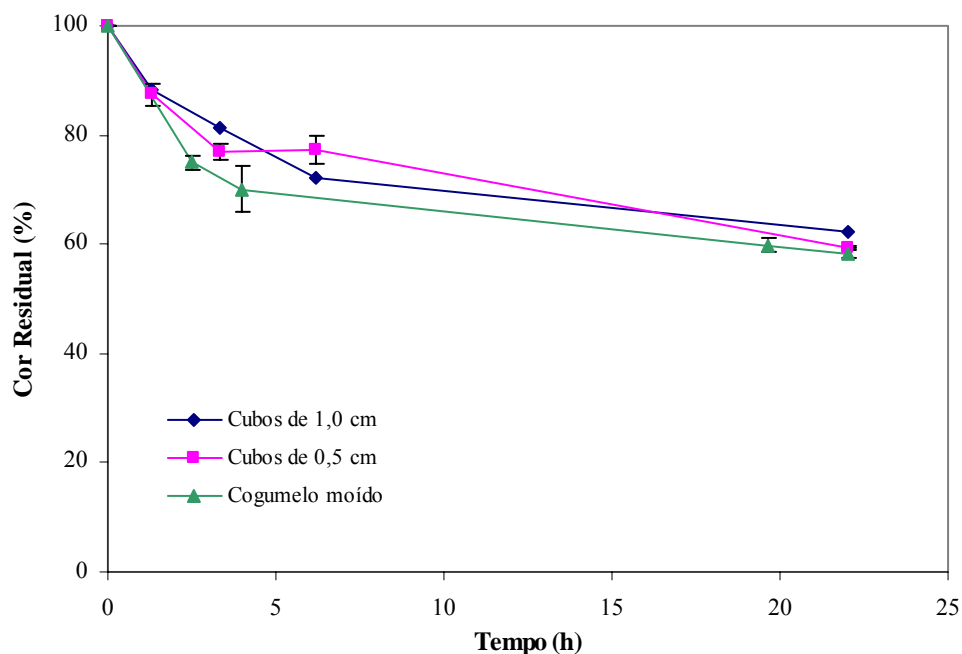


Figura 4.4: Cor Residual em Experimentos com 40 g de cogumelos em Cubos de 1,0 cm e 0,5 cm e moídos, sob aeração contínua.

Foram obtidas remoções de cor de $37,7 \pm 0,0\%$, $40,5 \pm 0,0\%$ e $41,8 \pm 0,7\%$ após 22 h, para os cogumelos em cubos de 1 cm e 0,5 cm e moídos, respectivamente. Estes resultados comprovam que o aumento da área superficial de contato entre cogumelo/enzima e efluente/corantes contribui para uma maior remoção de cor. Considerando que a moagem dos cogumelos é uma operação mais fácil e rápida que o corte em cubos e que as remoções de cor obtidas foram muito próximas, ao se avaliar diferentes meios de processamento dos cogumelos, passou-se a empregar os cogumelos moídos em água destilada ou acetona.

4.4. Processamento dos Cogumelos

A Figura 4.5 a seguir apresenta os resultados obtidos na seleção do processamento dos cogumelos.

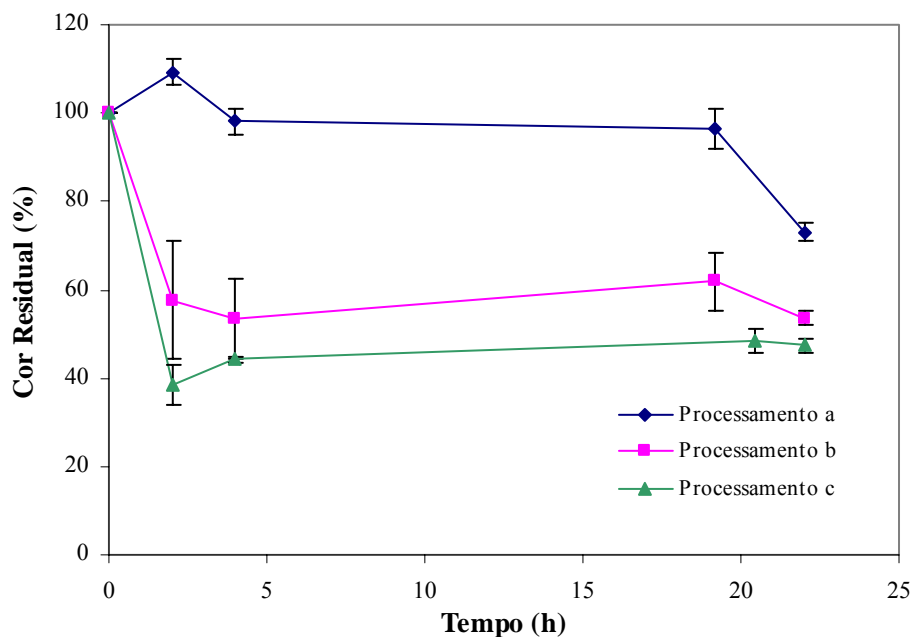


Figura 4.5: Cor Residual em Experimentos com Cogumelos Processados de acordo com os Modos a (cogumelos moídos com água destilada e filtrados), b (cogumelos moídos com acetona, lavados com água destilada e filtrados) e c (cogumelos moídos com acetona, lavados com água destilada, filtrados e congelados).

Para os processamentos a, b e c (descritos no item 3.3.5.2), conduzidos com 40 g de cogumelos, foram obtidas remoções de cor de $26,9 \pm 2,1\%$, $46,5 \pm 1,6\%$ e $52,6 \pm 1,6\%$, respectivamente, após 22 horas de ensaio. Portanto, verifica-se que o procedimento de moagem do cogumelo com acetona, seguida de congelamento, contribui para uma maior remoção de cor, sendo este procedimento adotado nos demais experimentos.

A acetona aparece na literatura como um dos principais agentes nas etapas iniciais de diferentes metodologias de extração enzimática, mas estas publicações não apresentam qualquer explicação sobre o motivo de sua utilização. Aparentemente, a acetona é um solvente eficiente no processo de rompimento da parede celular do fungo, permitindo, desta forma, a extração das enzimas intracelulares (KAMEDA, 2003). O mesmo acontece com o congelamento, que auxilia ainda mais o processo de rompimento da parede celular. No caso do procedimento adotado neste trabalho, tanto a acetona como o congelamento auxiliariam na exposição da enzima e, conseqüentemente, dos sítios ativos na superfície dos cogumelos, facilitando o contato entre estes e os grupos reativos presentes na estrutura dos corantes.

Cabe ressaltar que o processamento que apresentou melhores resultados implicaria em custos elevados com reagente (acetona) e energia. No entanto, o solvente poderia ser reciclado, tornando o processo mais econômico. Ainda assim, a continuidade dos estudos para viabilização do uso dos cogumelos se faz necessária.

4.5. Avaliação de Diferentes Marcas e Lotes de Cogumelos

Utilizando-se o processamento do cogumelo que resultou em maiores remoções de cor (moagem com acetona e congelamento), foram avaliadas as remoções de cor durante 6 h de experimento, bem como as atividades enzimáticas, empregando-se cogumelos de diferentes lotes e marcas. Pode-se observar, na Tabela 4.1, que os percentuais de remoção de cor variam muito pouco para os lotes e marcas testados. Ao contrário do esperado, observa-se também que não há uma relação direta entre a remoção de cor e a atividade enzimática nos extratos obtidos para cada lote. Com isso, pode-se supor que a atividade enzimática quantificada no extrato não corresponde necessariamente à atividade a qual o efluente é exposto. Ou seja, apesar dos cogumelos apresentarem extratos enzimáticos com boas atividades, não são obtidas remoções de cor compatíveis ao se empregá-los diretamente nos experimentos.

Tabela 4.1 – Atividade enzimática em diferentes lotes e marcas e remoção de cor após 6 h em experimentos com 40 g cogumelo moído (modo c de processamento)/250 ml de efluente (solução de corante diluída a 1:25) sob aeração contínua.

Lote	Marca	Atividade (U/g)	Remoção de cor (%)
19/10	Fiori di Zucca	654	62,5±2,0
22/10	Ludolf	972	63,8±0,6
18/11	Cogumelos Online	1920	55,3±0,9
19/11	Ludolf	2274	61,7±0,3
14/02	Fiori di Zucca	9130	61,2±7,1

4.6. Efeito da Massa de Cogumelo Utilizada

Os resultados obtidos em 6 horas de ensaios com 10 a 80 g de cogumelos de um mesmo lote são apresentados na Figura 4.6 a seguir.

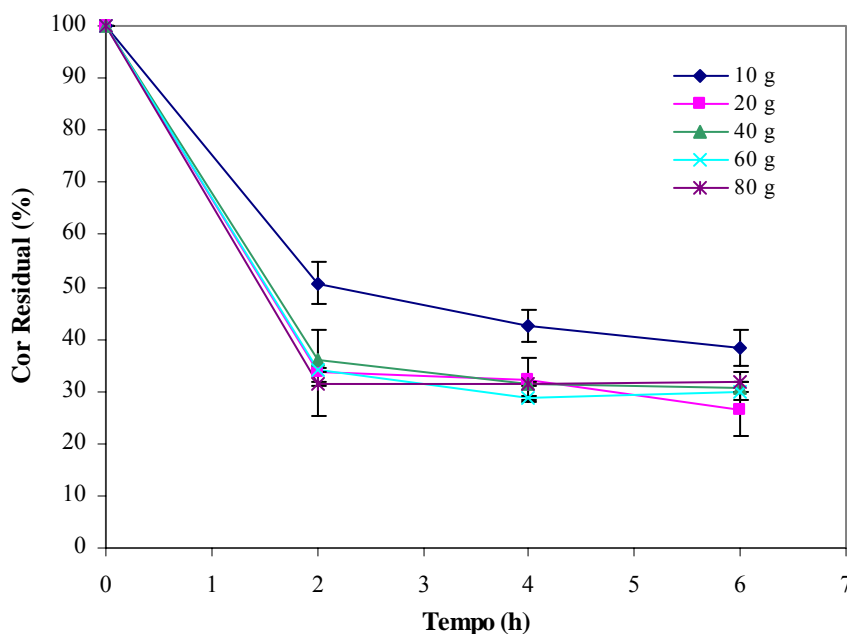


Figura 4.6: Cor Residual para Experimentos com 10, 20, 40, 60 e 80 g de Cogumelos.

Observa-se que a remoção de cor aumentou com o aumento da massa de 10 para 20 g de cogumelos, conforme esperado. No entanto, ao contrário do esperado, a partir de 20 g o aumento da massa resulta em valores de remoção de cor bem próximos. Além disso, percebe-se que a maior parte da remoção de cor ocorria nas primeiras duas horas de experimento, com uma taxa menor para 10 g de cogumelos e uma taxa maior e similar para as demais massas avaliadas.

Dois hipóteses foram levantadas para tentar explicar os resultados obtidos. Uma delas seria a possibilidade de liberação de algum produto dos cogumelos durante os ensaios, mais acentuada a partir de 20 g de cogumelos, provocando um aumento de cor, e mascarando assim o que de fato teria sido removido pelo processo enzimático. Outra hipótese seria a formação de produtos insolúveis formados pela reação enzimática, que ficariam aderidos na superfície do cogumelo, impossibilitando o contato do efluente com o interior deste. Mais uma possibilidade deve-se à dificuldade em estabelecer

contato entre uma massa muito grande de biocatalisador e o efluente, devido a dificuldades no processo de mistura pelo aumento do teor de sólidos.

4.7. Controles

4.7.1. Remoção de Cor por Adsorção

A Figura 4.7 apresenta uma comparação entre os valores de remoção obtidos em experimentos com aeração contínua e diferentes massas de cogumelo e os obtidos para os respectivos controles realizados com borbulhamento de N_2 . A Figura 4.8 apresenta a cor residual do efluente sintético durante as 6 horas de experimento para os experimentos com 10, 20, 40, 60 e 80 g de cogumelo, bem como seus respectivos controles com borbulhamento de N_2 .

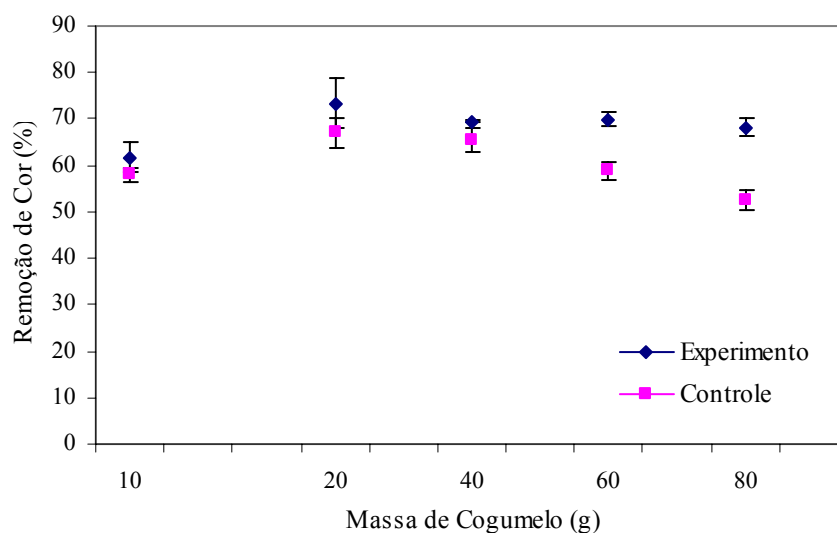
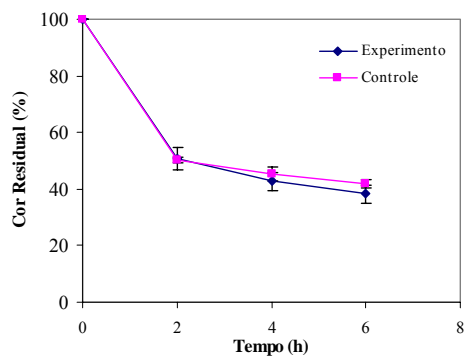
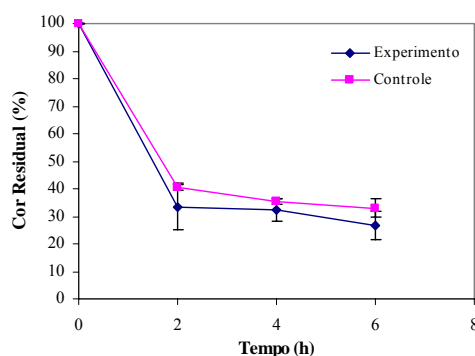


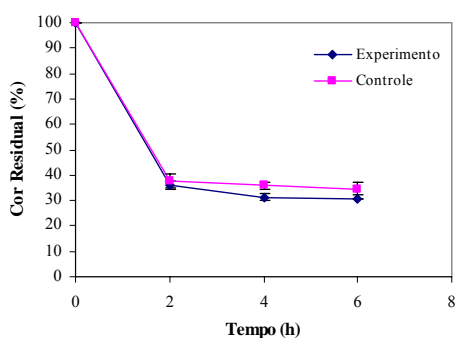
Figura 4.7 – Remoção de cor após 6 h de reação com diferentes massas de cogumelos com aeração contínua (experimento) e com borbulhamento de N_2 (controle).



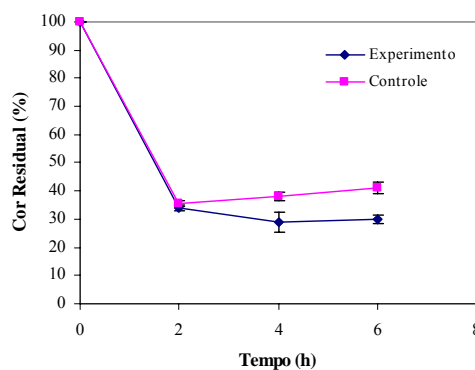
(a)



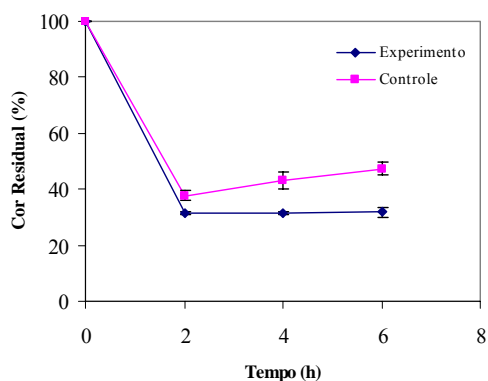
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 4.8: Cor Residual ao Longo do Tempo em Experimentos com 10 g (a), 20 g (b), 40 g (c), 60 g (d) e 80 g (e) de cogumelos com aeração contínua (experimento) e com borbulhamento de N_2 (controle).

O controle, realizado com borbulhamento de N_2 , ou seja, ausência de O_2 , representa a parcela da remoção de cor atribuída à adsorção de corante à superfície do cogumelo. Por outro lado, a curva do experimento com aeração contínua mostra a remoção total

obtida no ensaio (adsorção + ação da enzima). Como as duas curvas estão bem próximas para todos os casos mostrados, verifica-se que a parcela de remoção vinculada à atividade enzimática é bem pequena.

A quantidade de proteína e a atividade enzimática no meio reacional foram acompanhadas ao longo do tempo para o experimento com aeração contínua e o controle com borbulhamento de N_2 , ambos com 20 g de cogumelo. Foram obtidos resultados nulos, mostrando que o aumento de cor atribuído a possíveis produtos liberados pelo cogumelo não está relacionado à enzima propriamente dita.

Sabendo-se que o oxigênio é imprescindível para que a reação enzimática ocorra, identificou-se a necessidade de avaliar se uma concentração residual de oxigênio dissolvido nos experimentos realizados com borbulhamento de N_2 poderia ser suficiente para uma pequena remoção de cor por ação enzimática. Para tal, o experimento com 20 g de cogumelo e aeração contínua foi comparado com um controle com N_2 juntamente com adição de sulfito de sódio a fim de eliminar qualquer resquício de O_2 que pudesse desencadear a reação enzimática. O resultado pode ser visto na Figura 4.9 a seguir.

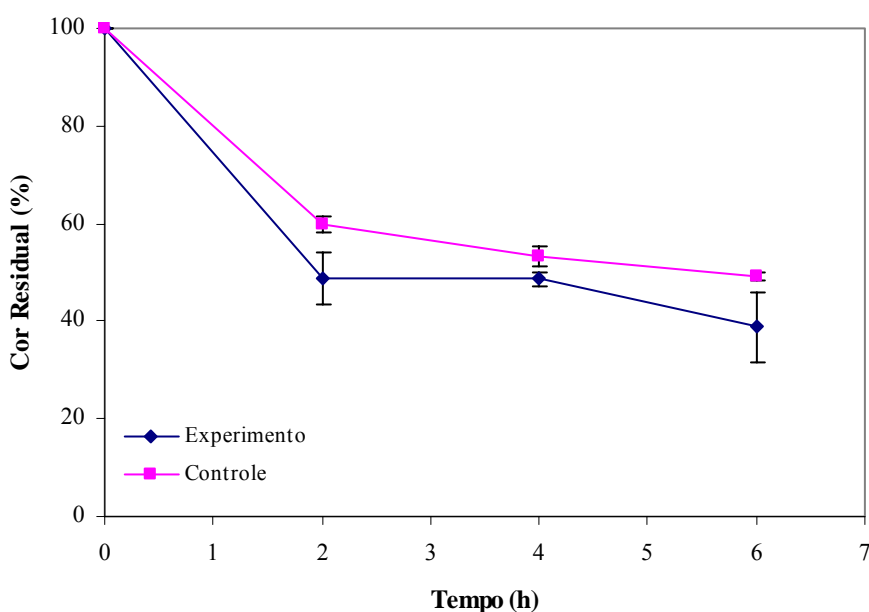


Figura 4.9: Cor Residual em Experimentos com 20 g de Cogumelo com aeração contínua e Controle (N_2 e Na_2SO_3).

As remoções obtidas ao fim de 6 horas foram de $61,2 \pm 7,1\%$ para o experimento e $50,8 \pm 0,8\%$ para o controle. Estes resultados comprovam o fato de que a maior parcela de remoção de cor se dá por adsorção e não pela ação enzimática, ou ainda que a aeração do meio reacional durante os experimentos realizados não foi suficiente para promover altos percentuais de remoção.

4.7.2. Remoção de Cor por Oxidação Química

Para avaliar uma possível remoção de cor por oxidação química, resultados com 20 g de cogumelo foram comparados com resultados obtidos em controles com aeração, mas na ausência de cogumelos, em experimentos de 6 horas de duração. Os resultados são apresentados na Figura 4.10.

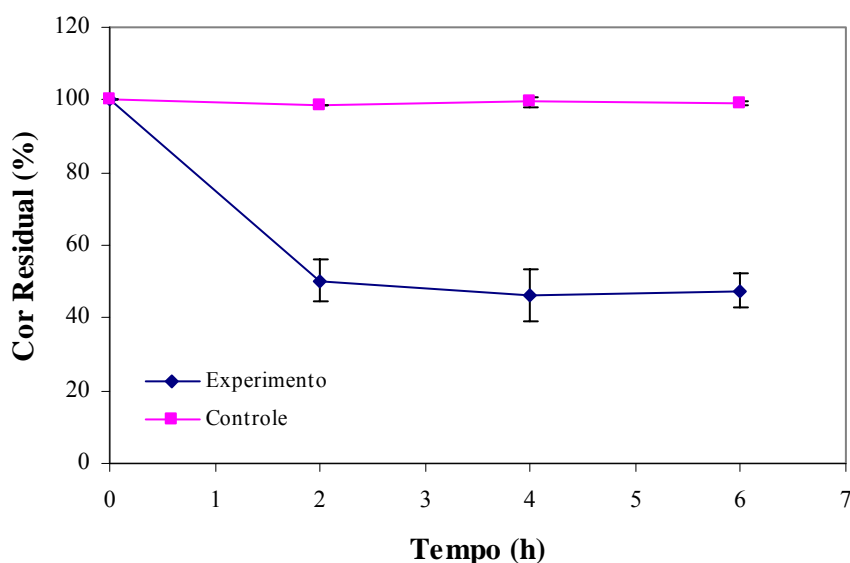


Figura 4.10: Cor Residual em Experimentos com 20 g de Cogumelo e Controle (aeração sem cogumelos).

A remoção de cor no experimento com cogumelos foi de $52,5 \pm 4,7\%$, valor menor que o obtido em experimento anterior sob as mesmas condições ($73,4\%$). Este resultado pode ser atribuído ao fato deste último experimento ter sido conduzido com um lote diferente de cogumelo, com um maior tempo de coleta e/ou de estocagem (BEVILAQUA, 2000). Pelo que é mostrado no gráfico, a remoção de cor no ensaio

controle foi praticamente nula ($0,8 \pm 0,4$ %), uma vez que os valores de cor residual mantiveram-se praticamente constantes ao longo do experimento. Portanto, pode-se dizer que a remoção de cor por oxidação química é desprezível.

4.7.3. Efeito da Liberação de Produtos pelos Cogumelos

Para que se pudesse verificar se havia a liberação de produtos pelos cogumelos que estivessem influenciando a remoção de cor pela atividade enzimática, experimentos com 20 g de cogumelos e aeração contínua foram comparados com ensaios controle com borbulhamento de N_2 e outro com aeração, ambos os controles em solução tampão na presença de cogumelos. A Figura 4.11 apresenta os resultados obtidos.

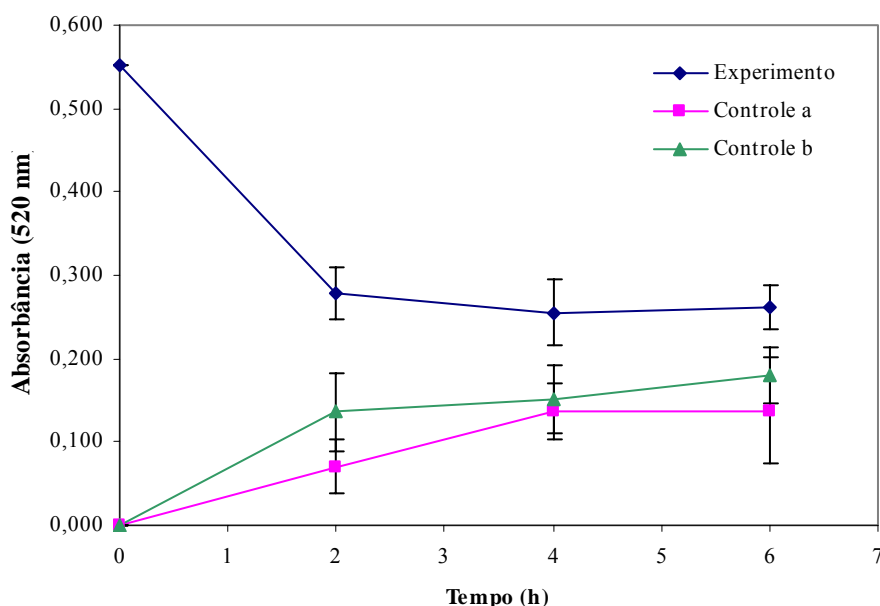


Figura 4.11: Variação da Absorbância a 520 nm em experimentos com aeração contínua, controle a (tampão + cogumelo + aeração) e controle b (tampão + cogumelo + borbulhamento de N_2).

Observa-se um aumento da absorbância nos controles a e b (de 0,138 e 0,180 unidades de absorbância para os controles a e b, respectivamente), o que pode ter interferido nos resultados de remoção de cor. Caso esta absorbância fosse descontada no experimento com solução de corantes, a eficiência de remoção de cor aumentaria de 53% para 77%

Portanto, em todos os experimentos realizados, pode-se considerar que uma maior fração da remoção de cor pode ser atribuída à ação enzimática.

4.8. Ensaios com Reutilização do Cogumelo

Uma vez detectado que a adsorção é o fenômeno de maior contribuição na remoção de cor, fez-se necessária a realização de experimentos que pudessem avaliar o efeito da saturação dos sítios ativos da superfície do cogumelo sobre a remoção contínua de cor. Para isso foram feitos ensaios com a reutilização dos cogumelos, sendo os resultados apresentados na Figura 4.12.

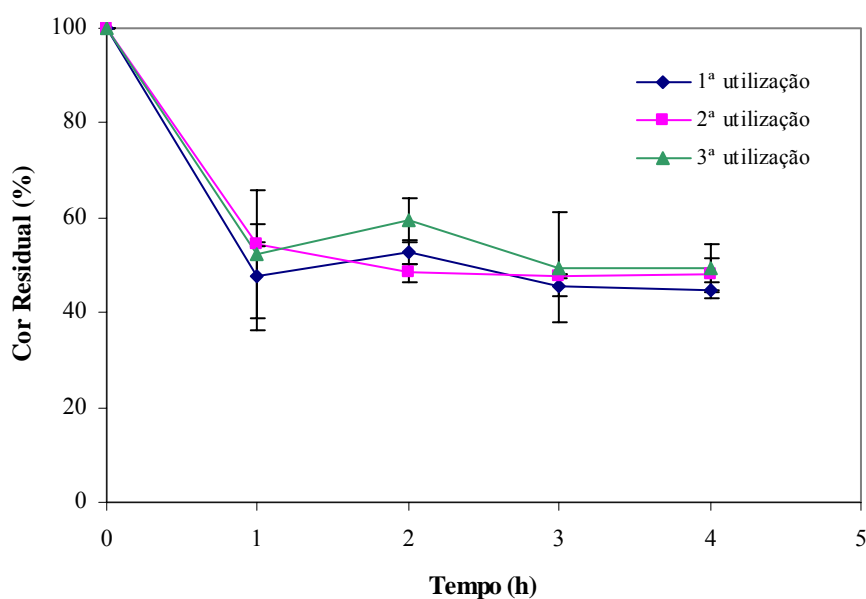


Figura 4.12: Remoção de Cor com Reutilização dos Cogumelos.

As remoções obtidas foram de $55,2 \pm 1,6\%$ (1ª utilização), $51,9 \pm 3,3\%$ (2ª utilização) e $50,7 \pm 5,2\%$ (3ª utilização). Ao contrário do que se esperava, os percentuais de remoção foram bastante próximos uns dos outros. Desta forma, considerando a lavagem dos cogumelos e a similaridade das taxas de remoção de cor adquiridas, pode-se constatar que os corantes adsorvidos, assim como os produtos gerados pela reação enzimática na superfície do cogumelo, foram eliminados pela rápida lavagem.

De acordo com KAMEDA (2003) em seu estudo sobre a remoção de fenol em efluente sintético pela matriz fúngica do cogumelo *Agaricus bispora*, as eficiências de remoção de fenol nas primeiras três horas de reação foram de 91%, 95%, 90% e 68% para a 1ª, 2ª, 3ª e 4ª utilizações da massa de cogumelo, respectivamente. Desta forma, estes resultados parecem ser similares aos obtidos no presente estudo, uma vez que foram obtidas eficiências de remoção equivalentes nas três primeiras utilizações do cogumelo. Entretanto, as eficiências de remoção obtidas por KAMEDA (2003) foram maiores devido à simplicidade da molécula de fenol quando comparada às moléculas dos corantes estudados.

4.9. Remoção de Cor por Extrato Enzimático

Para efeito de comparação, foram realizados ensaios de remoção de cor através do extrato enzimático obtido a partir dos cogumelos. Este extrato apresentou valor de atividade de 760 U/mL (volume de extrato) e a análise foi feita para 100 U de atividade no meio reacional (250 mL). O valor de atividade obtido no extrato é similar ao obtido por KAMEDA (2003) e menor que o obtido por BEVILAQUA (2000). Enquanto KAMEDA (2003) obteve atividades entre 500 e 3500 U/mL, BEVILAQUA (2000) alcançou atividades na faixa de 2200 a 8900 U/mL. Conforme constatou-se anteriormente (item 4.5), as atividades variam muito de acordo com o lote e com a marca de cogumelos utilizada. BEVILAQUA (2000) observou uma variação de até 300% entre as atividades dosadas.

A remoção de cor verificada neste caso foi de $80,5 \pm 8,2\%$, apresentando melhor resultado em relação aos ensaios de remoção pelo cogumelo propriamente dito. Este fato já era esperado, uma vez que, conforme visto anteriormente para os experimentos com cogumelo, acredita-se que neste caso o efluente não é exposto a toda atividade enzimática esperada, comprovando mais uma vez a hipótese de que produtos insolúveis formados pela reação enzimática ou os próprios corantes adsorvidos formam uma “barreira” na superfície do cogumelo, impedindo que o efluente consiga atingir seu interior.

4.10. Considerações Finais

De maneira geral, podemos considerar a utilização do cogumelo *Agaricus bispora* no tratamento de efluentes têxteis como um método eficiente. Entretanto, deve-se salientar que a remoção de cor ocorre em sua maior parte por um processo físico, e não pela ação enzimática. A maior remoção de cor obtida foi de 73,4%, resultado próximo a outros estudos que utilizaram tratamento enzimático. ZHANG *et al.* (2006) analisaram a remoção de cor com lacase extraída de diferentes fungos e observaram remoções de cor por volta de 70% para o corante Acid Green 27 (antraquinona) sem a utilização de mediadores, conforme visto no item 2.3.2.4.2. Por outro lado, estudos sobre a utilização do fungo *Trametes versicolor*, produtor de lacase, levaram a melhores resultados: 97% de remoção de cor em efluente sintético e 92% em efluente real (AMARAL *et al.*, 2004); e quase 100 % de remoção de cor de um efluente sintético (PINTO *et al.*, 2002), ambos com adição de glicose ao meio.

A Tabela 4.2 a seguir mostra um resumo dos experimentos e controles realizados neste trabalho.

Tabela 4.2: Resumo dos Experimentos Realizados neste Trabalho.

Experimento/ Controle	Quantidade de Cogumelo (g)	Granulometria	Diluição do Efluente	Tempo (h)	Remoção de Cor (%)
<i>Ensaio Preliminares</i>					
Sem aeração	40	Cubos de 1 cm	1:5	24	51,3 ± 0,1
Aeração inicial de 5 minutos	40	Cubos de 1 cm	1:5	24	69,1 ± 0,0
Aeração inicial de 5 minutos	40	Cubos de 0,5 cm	1:25	22	31,6 ± 0,6
Aeração Contínua	40	Cubos de 0,5 cm	1:25	22	40,5 ± 0,0
<i>Efeito da Granulometria dos Cogumelos</i>					
Aeração Contínua	40	Cubos de 1,0 cm	1:25	22	37,7 ± 0,0
Aeração Contínua	40	Cubos de 0,5 cm	1:25	22	40,5 ± 0,0
Aeração Contínua	40	Cogumelo moído	1:25	22	41,8 ± 0,7
<i>Processamento dos Cogumelos</i>					
Aeração Contínua	40	Cogumelo Moído (Processamento a)	1:25	22	26,9 ± 2,1
Aeração Contínua	40	Cogumelo Moído (Processamento b)	1:25	22	46,5 ± 1,6
Aeração Contínua	40	Cogumelo Moído (Processamento c)	1:25	22	52,6 ± 1,6

Tabela 4.2: Resumo dos Experimentos Realizados neste Trabalho (cont.)

Experimento/ Controle	Quantidade de Cogumelo (g)	Granulometria	Diluição do Efluente	Tempo (h)	Remoção de Cor (%)
<i>Efeito da Massa dos Cogumelos/ Controle (Remoção de Cor por Adsorção)</i>					
Aeração Contínua	10	Cogumelo Processado	1:25	6	61,8 ± 3,4
Borbulhamento de N ₂	10	Cogumelo Processado	1:25	6	57,9 ± 1,5
Aeração Contínua	20	Cogumelo Processado	1:25	6	73,4 ± 5,2
Borbulhamento de N ₂	20	Cogumelo Processado	1:25	6	67,1 ± 3,3
Aeração Contínua	40	Cogumelo Processado	1:25	6	69,5 ± 0,1
Borbulhamento de N ₂	40	Cogumelo Processado	1:25	6	65,5 ± 2,6
Aeração Contínua	60	Cogumelo Processado	1:25	6	70,0 ± 1,5
Borbulhamento de N ₂	60	Cogumelo Processado	1:25	6	58,8 ± 2,1
Aeração Contínua	80	Cogumelo Processado	1:25	6	68,2 ± 1,9
Borbulhamento de N ₂	80	Cogumelo Processado	1:25	6	52,6 ± 2,2
<i>Controle (Remoção de Cor por Adsorção – com Na₂SO₃)</i>					
Aeração Contínua	20	Cogumelo Processado	1:25	6	61,2 ± 7,1
Borbulhamento de N ₂ e Adição de Na ₂ SO ₃	20	Cogumelo Processado	1:25	6	50,8 ± 0,8

Tabela 4.2: Resumo dos Experimentos Realizados neste Trabalho (cont.)

Experimento/ Controle	Quantidade de Cogumelo (g)	Granulometria	Diluição do Efluente	Tempo (h)	Remoção de Cor (%)
<i>Controle (Remoção de Cor por Oxidação Química)</i>					
Aeração Contínua	20	Cogumelo Processado	1:25	6	61,2 ± 7,1
Aeração Contínua	-	-	1:25	6	50,8 ± 0,8
<i>Ensaio com Reutilização dos Cogumelos</i>					
Aeração Contínua	20	Cogumelo Processado (1ª utilização)	1:25	4	55,2 ± 1,6
Aeração Contínua	20	Cogumelo Processado (2ª utilização)	1:25	4	51,9 ± 3,3
Aeração Contínua	20	Cogumelo Processado (3ª utilização)	1:25	4	50,7 ± 5,2
<i>Remoção de Cor por Extrato Enzimático</i>					
Aeração Contínua	Extrato Enzimático	-	1:25	6	80,5 ± 8,2

5. Conclusões e Sugestões

5.1. Conclusões

Confirmou-se que a aeração é um fator importante para a remoção de cor. Além de contribuir para uma maior remoção de cor do efluente sintético, a presença de maior concentração de oxigênio dissolvido no meio acelerou a taxa de reação.

O aumento da área superficial de contato entre cogumelo/enzima e efluente/corantes contribuiu para uma maior remoção de cor, porém, entre as granulometrias estudadas, a diferença entre as remoções encontradas foi pequena. A moagem dos cogumelos, por ser uma operação mais fácil e rápida do que o corte em cubos, parece ser a melhor alternativa.

O tipo de processamento dos cogumelos influenciou significativamente no percentual de remoção de cor. O que envolvia a moagem com acetona e congelamento após filtração foi o que proporcionou melhor resultado ($52,6 \pm 1,6\%$ de remoção de cor após 22 h), por facilitar o rompimento da parede celular do fungo, permitindo maior exposição das enzimas intracelulares.

Observou-se que não há uma relação direta entre a remoção de cor e a atividade enzimática nos extratos obtidos. Assim, pode-se supor que a atividade enzimática quantificada não corresponde necessariamente à atividade a qual o efluente é exposto.

Melhores resultados de remoção de cor (73% após 6 h) foram obtidos com 20 g de cogumelo para 250 mL de efluente (contendo 13,32 mg/L de cada corante).

De acordo com os controles empregados, verificou-se que a maior parcela de remoção de cor seria obtida por adsorção do corante à superfície do cogumelo, e não pela ação enzimática.

Os ensaios com reutilização dos cogumelos por três vezes consecutivas resultaram em remoções bem próximas (cerca de 50%).

Os experimentos baseados na remoção de cor por extrato enzimático obtido do cogumelo mostraram melhores resultados (cerca de 80% de remoção de cor após 6 h) que os apresentados nos ensaios com cogumelo sob as melhores condições (73% após 6 h) .

Por fim, conclui-se que a substituição do extrato enzimático pela matriz fúngica do cogumelo *Agaricus bispora* resultou em menor remoção de cor. No entanto, a utilização da matriz fúngica não deve ser descartada pois houve remoção de cor, sendo a maior parte obtida através de adsorção do corante ao cogumelo e não por atividade enzimática.

5.2. Sugestões

Como sugestões para estudos futuros, pode-se citar:

- Obter dados de remoção de cor em intervalos menores de tempo e por um período maior (mais de 24 horas) para um aprofundamento da cinética de remoção de cor;
- Avaliar outros procedimentos de preparo da matriz fúngica visando a liberação da enzima;
- Realizar maior número de utilizações da matriz fúngica em experimentos consecutivos até a completa saturação dos sítios ativos;
- Avaliar a reutilização da matriz fúngica sem a realização de lavagens entre as utilizações consecutivas;
- Estudar a viabilidade econômica do processo, já que melhores resultados de remoção de cor implicariam em custos elevados com reagentes e aeração;
- Testar o uso da matriz fúngica e do extrato enzimático em efluente real;
- Realizar experimentos utilizando a matriz fúngica em reator contínuo;
- Caracterizar o efluente tratado, i.e. após a reação enzimática;
- Estudar modelos de adsorção;
- Avaliar o processo com as aparas do cogumelo;
- Realizar testes em coluna, avaliando a perda de carga.

6. Referências Bibliográficas

Anônimo, extraído de www.abiquim.org.br, 2006.

Anônimo, extraído de www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/dye/corantes.html, 2006.

AKSU, Z.; DONMEZ, G. A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. *Chemosphere* 50, pp. 1075-1083, 2003.

AL-KDASI, A.; IDRIS, A.; SAED, K.; GUAN, C. T. Treatment of textile wastewater by advanced oxidation processes – a review. *Global Nest: the International Journal*, v. 6, nº 3, pp 222-230, 2004.

ANJANEYULU, Y.; CHARY, N.S.; RAJ, D.S.S. Decolorization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. *Environmental Science and Biotechnology*, v.4, p. 245-273, 2005.

ATLOW, S. C.; BONADONNA-APARO, L.; KLIBANOV, A.M. Dephenolization of industrial wastewater catalysed by polyphenol oxidase. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 26, pp. 599-603, 1984.

AMARAL, P.F.F.; FERNANDES, D.L.A.; TAVARES, A.P.M.; XAVIER, A.B.M.R.; CAMMAROTA, M.C.; COUTINHO, J.A.P.; COELHO, M.A.Z. Decolorization of dyes from textile wastewater by *Trametes versicolor*. *Environmental Technology*, v. 25, pp. 1313-1320, 2004.

ANNADURAI, G.; CHELLAPANDIAN, M.; KRISHNAN, M.R.V. Adsorption of reactive dye on chitin. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 59, p. 111-119, 1999.

ARAÚJO, F.V.F.; YOKOYAMA, L.; TEIXEIRA, L.A.C. Remoção de cor em soluções de corantes reativos por oxidação H₂O₂/UV. *Química Nova*, v. 29, nº 1, p. 11-14, 2006.

BELTRAME, L. T. C. Caracterização de Efluente Têxtil e Proposta de Tratamento. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2000.

BEVILAQUA, J. V. Utilização de Tirosinase de *Agaricus bispora* no Tratamento de Efluente Sintético Contendo Fenóis. Dissertação de Mestrado, COPPE – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

BIZANI, E.; FYTIANOS, K.; POULIOS, I.; TSIRIDIS, V. Photocatalytic decolorization and degradation of dye solutions and wastewaters in the presence of titanium dioxide. *Journal of Hazardous Materials*, v. 136, p. 85-94, 2006.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. Introdução à Engenharia Ambiental. São Paulo: Prentice Hall, 2002. p. 75.

BREEN, A.; SINGLETON, F. L. Fungi in lignocellulose breakdown and biopulping. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 10, pp. 252-258, 1999.

CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, J. V. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 20, pp. 487-500, 1996.

CARDOSO, M.H.; RAMALHO, P. Biodegradação de corantes de efluentes têxteis por leveduras. FW-Science, Universidade do Minho, Portugal, 2004.

COOKSEY, C. J.; GARRAT, P. J.; LAND, E.J.; PAVEL, S.; RAMSDEN C. A.; RILEY, P. A.; SMIT, N. P. M. Evidence of the Indirect Formation of the Catecholic Intermediate Substrate Responsible for the Autoactivation Kinetics of Tyrosinase. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 272, n. 42, pp. 26226-26235, 1997.

CORREIA, V.M.; STEPHENSON, T.; JUDD, J.S. Characterisation of textile wastewaters – a review. *Environmental Technology*, v. 15, pp. 917, 1994.

CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology*, v. 97, p. 1061-1085, 2006.

CRINI, G. Studies on adsorption of dyes on beta-cyclodextrin polymer. *Bioresource Technology*, v. 90, p. 193-198, 2003.

DUCKWORTH, H. W.; COLEMAN, J. E. Physicochemical and Kinetic Properties of Mushroom Tyrosinase. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 245, n. 7, pp. 1613-1625, 1970.

DURÁN, N.; ESPOSITO, E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 28, pp. 83-99, 2000.

FORGACS, E.; CSERHÁTI, T.; OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment International*, v. 30, p. 953-971, 2004.

FORGIARINI, E. Degradação de Corantes e Efluentes Têxteis Pela Enzima Horseradish Peroxidase (HRP). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

GANDÍA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCÍA-CARMONA, F. Betaxanthins as Substrates for Tyrosinase. Na Approach to the Role of Tyrosinase in the Biosynthetic Pathway of Betalains. *Plant Physiology*, v. 138, n. 1, pp. 421-432, 2005.

GUARATINI, C.C.I.; ZANONI, M.V.B. Corantes Têxteis. *Química Nova*, v. 23, nº 1, p. 71-78, 2000.

HAOULI, S.; ASTHER, M.; SIGOILLOT, J. –C.; HAMDI, M.; LOMASCOLO, A. Fungal tyrosinases: new prospects in molecular characteristics, bioengineering and biotechnological applications. *Journal of Applied Microbiology*, v. 100, pp. 219-232, 2006.

IKEHATA, K.; NICELL, J. A. Characterization of tyrosinase for the treatment of aqueous phenols. *Bioresource Technology*, v. 74, pp. 191-199, 2000.

JANUS, M.; MORAWSKI, A. W. New method of improving photocatalytic activity of commercial Degussa P25 for azo dyes decomposition. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 75, pp. 118-123, 2007.

KAMIDA, H.M.; DURRANT, L.R.; MONTEIRO, R.T.R.; ARMAS, E.D. Biodegradação de Efluente Têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. *Química Nova*, v. 28, nº 4, p. 629-632, 2005.

KAMEDA, E. Estudo do processo de obtenção de extrato enzimático de *Agaricus bisporus* para remoção de fenol em efluente sintético. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

KAMMRADT, P.B. Remoção de Cor de Efluentes de Tinturarias Industriais através de Processo de Oxidação Avançada. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

KRYSZTAFKIEWICZ, A.; BINKOWSKI, S.; JESIONOWSKI, T. Adsorption of dyes on a silica surface. *Applied Surface Science*, v. 199, p. 31-39, 2002.

KUNZ, A.; ZAMORA, P.P.; MORAES, S.G.; DURÁN, N. Novas Tendências no Tratamento de Efluentes Têxteis. *Química Nova*, v. 25, nº 1, p. 78-82, 2002.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A.L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v. 193, pp. 265-275, 1951.

MADDHINI, V. L.; VURIMINDI, H. B.; YERRAMILI, A. Degradation of azo dye with horse radish peroxidase (HRP). *Journal of the Indian Institute of Science*, v. 86, pp. 507-514, 2006.

MARTINS, M.A.; FERREIRA, I.C., SANTOS, I.M.; QUEIROZ, M.J.; LIMA, N. Estudos de Biodegradabilidade de Corantes Azo de Aplicação Têxtil por *Phanerochaete chrysosporium*. In: 6.^a Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente. Lisboa : Universidade Nova de Lisboa, 1999. vol. 3, p. 211-220.

NAGAI, M.; SATO, T.; WATANABE, H.; SAITO, K.; KAWATA, M.; ENEI, H. Purification and characterization of an extracellular laccase from edible mushroom *Lentinula edodes*, and decolorization of chemically different dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 60, pp. 327-335, 2002.

OLLIKKA, P.; ALHONMAKI, K.; LEPPANEN, V. M.; GLUMOFF, T.; RAIJOLA, T.; SUOMINEN, I. Decolorization of Azo, Triphenyl Methane, Heterocyclic, and polymeric Dyes by Lignin Peroxidase Isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 59, n. 12, pp. 4010-4016, 1993.

PEARCE, C.I.; LLOYD, J.R.; GUTHRIE, J.T. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. *Dyes and Pigments*, v. 58, p. 179-196, 2003.

PEREIRA, W.S.; FREIRE, R.S., Azo Dye Degradation by Recycled Waste Zero-Valent Iron Powder, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.. 17, n. 5, pp. 832-838, 2006.

PINTO, F. V.; AMARAL, P. F. F.; COELHO, M. A. Z.; CAMMAROTA, M. C. Remoção de cor de efluentes da indústria têxtil: comparação de diferentes processos. Projeto Final de Curso, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

PIZZOLATO, T.M.; CARISSIMI, E.; MACHADO, E.L.; SCHNEIDER, I.A.H. Colour removal with NaClO of dye wastewater from an agate-processing plant in Rio Grande do Sul, Brazil. *International Journal of Mineral Processing*, v. 65, p. 203-211, 2002.

RAMALHO, P.A.; SCHOLZE, H.; CARDOSO, M.H.; RAMALHO, M.T.; CAMPOS, A.M.O. Improved conditions for the aerobic reductive decolorization of azo dyes by *Candida zeylanoides*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 31, p. 848-854, 2002.

ROBINSON, T.; MCMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, v. 77, p. 247-255, 2001.

SAFARIKOVÁ, M.; PTÁCKOVA, L.; KIBRIKOVÁ, I.; SAFARIK, I. Biosorption of water-soluble dyes on magnetically modified *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* cells. *Chemosphere*, v. 59, p. 831-835, 2005.

SÁNCHEZ-FERRER, A.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, J. N.; GÁRCIA-CÁNOVAS, F.; GÁRCIA-CARMONA, F. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1247, pp. 1-11, 1995.

SANTOS, A.B. Aplicação conjunta de tratamento anaeróbico termofílico por lodo granular e de mediadores redox na remoção de cor de águas residuárias têxteis. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 10, nº 3, p. 253-259, 2005.

SELVAN, K.; SWAMINATHAN, K.; CHAE, K.S. Decolorization of azo dyes and a dye industry effluent by a white hot fungus *Thelephora* sp. *Bioresource Technology*, v. 88, p. 115-119, 2003.

SHANMUGAM, S.; PALVANNAN, T.; KUMAR, T. S.; MICHAEL, A. Biological decolourization os textile and paper effluents by *Pleurotus florida* and *Agaricus bisporus* (White-rot basidiomycetes). *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 21, pp. 1149-1151, 2005.

SOUZA, C.R.L.; ZAMORA, P.P. Degradação de corantes reativos pelo sistema ferro metálico/peróxido de hidrogênio. *Química Nova*, v. 28, nº 2, p. 226-228, 2005.

SWAMY, J.; RAMSAY, J.A. The evaluation of white hot fungi in the decolorization of textile dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 24, p. 130-137, 1999.

UEDA, A. C. Aplicação de Micelas Reversas na Remoção de Corantes Têxteis Catiônicos. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

VAN GELDER, C. W. G.; FLURKEY, W. H.; WICHERS, H. J. Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. *Phytochemistry*, v. 45, n. 7, pp. 1309-1323, 1997.

VERMA, P.; MADAMWAR, D. Decolorization of Synthetic Textile Dyes by Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Folia Microbiologica*, v. 47, n. 3, pp. 283-286, 2002.

WONG, Y.; YU, J. Laccase-catalysed decolorization of synthetic dyes. *Water Research*, v. 33, n° 16, p. 3512-3520, 1999.

YANG, C.L.; MCGARRAHAN, J. Electrochemical coagulation for textile effluent decolorization. *Journal of Hazardous Materials*, B127, p. 40-47, 2005.

YASUKAWA, R.; YASUNAGA, H.; URAKAWA, H. Attempt of Contact-Type Dry Heat Fixation Method for Ink-Jet Printing. *Sen'I Gakkaishi*, v. 62, n. 11, pp. 263-266, 2006.

ZANG, M.; WU, F.; WEI, Z.; XIAO, Y.; GONG, W. Characterization and decolorization ability of a laccase from *Panus rudis*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 39, pp. 92-97, 2006.

ZEE, F.P. Anaerobic azo dye reduction. Tese de Doutorado, Universidade de Wageningen, Wageningen, Holanda, 2002.

ZEE, F.P.; LETTINGA, G.; FIELD, J.A. Azo dye decolorization by anaerobic granular sludge. *Chemosphere*, v. 44, p. 1169-1176, 2001.