UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
ESCOLA DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS

DESCOLORAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS POR *Phanerochaete chrysosporium* POR SISTEMA SUBMERSO

ALANA PEREIRA DE ALMEIDA

RIO DE JANEIRO
2018

Alana Pereira de Almeida

DESCOLORAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS POR *Phanerochaete chrysosporium* POR SISTEMA SUBMERSO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadores: RODRIGO PIRES DO NASCIMENTO, D. Sc.
BERNARDO DIAS RIBEIRO, D. Sc.

RIO DE JANEIRO
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

Ad

Almeida, Alana Pereira de
Descoloração de corantes têxteis por Phanerochaete chrysosporium por sistema submerso / Alana Pereira de Almeida. -- Rio de Janeiro, 2018.
130 f.

Orientador: Rodrigo Pires do Nascimento.
Coorientador: Bernardo Dias Ribeiro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2018.

1. Biorremediação. 2. corantes têxteis. 3. fungos filamentosos. 4. Phanerochaete chrysosporium. I. Nascimento, Rodrigo Pires do, orient. II. Ribeiro, Bernardo Dias, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Alana Pereira de Almeida

DESCOLORAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS POR *Phanerochaete chrysosporium* POR SISTEMA SUBMERSO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovada em 05 de março de 2018

Rodrigo Pires do Nascimento, D. Sc. – EQ/ UFRJ (Orientador)

Bernardo Dias Ribeiro, D. Sc. – EQ/ UFRJ (Coorientador)

Priscilla Filomena Fonseca Amaral, D. Sc. – EQ/ UFRJ

Andrew Macrae, D. Sc. – IMPPG/ UFRJ

Dedico este trabalho à minha família, em especial aos meus pais Alexandre e Neíza, por todo incentivo para que este sonho se tornasse possível. Obrigada por acreditarem em mim!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, dedico os meus sinceros agradecimentos aos meus pais Alexandre e Neíza e à minha irmã Aline por todo amor, incentivo e apoio incondicional para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Sem dúvidas, a presença de vocês significou segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada!

Também não posso esquecer-me de agradecer à minha querida avó Thereza, que nunca mediu esforços para ver o sucesso de seus netos. A senhora me ensinou que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente. Obrigada por acreditar em mim!

Ao meu querido tio Eduardo (*in memoriam*), exemplo de caráter e dignidade. Com certeza, o mundo ficou mais triste com a sua partida!

Agradeço também a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química por dividirem seus preciosos conhecimentos comigo.

Em especial, à professora Maria Alice por ceder o espaço e equipamentos de seu laboratório e aos professores Rodrigo Pires do Nascimento e Bernardo Dias Ribeiro por mais uma vez me orientarem e serem os grandes responsáveis pela realização deste trabalho. Agradeço imensamente por todo apoio e confiança depositada em mim!

Aos meus novos colegas do LEPM: Eduardo Lascasas, Estevão Buzatto, Helvio Jales, João Saback, João Victor, Julia Baruque, Laysa Martins, Lucas Cardoso, Lucas Nascimento, Matheus Uchoa, Norman Heleno, Pedro Henrique, Rafael Rocha, Rafael Rodrigues e Wellington Emanuel. Obrigada por terem me recebido de maneira acolhedora no laboratório, pelo companheirismo e ajuda na realização dos meus experimentos.

Aos meus amigos da UFRJ Ana Carolina, Mariana Figueira e Luiz Felippe por todos esses anos de amizade e pelas ótimas histórias vividas ao longo da faculdade. Desejo um futuro brilhante para cada um de vocês!

São também especiais Andrea Benites, Beatriz Ribeiro, Bruno Martins e João Oliveira por estarem sempre do meu lado, tanto nos momentos de alegrias quanto de tristezas. Obrigada por todo incentivo nos momentos difíceis!

Por fim, muito obrigada a todos aqueles que direta ou indiretamente fizeram parte dessa jornada, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

RESUMO

ALMEIDA, Alana Pereira de. **Descoloração de corantes têxteis por *Phanerochaete chrysosporium* por sistema submerso.** Rio de Janeiro, 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

O setor das indústrias têxteis pode ser considerado como um dos mais poluentes do mundo, gerando um elevado volume de efluentes líquidos que muitas vezes são descartados sem o devido tratamento. Preocupação especial deve ser dada à carga de corante lançada no meio ambiente, não apenas pelo aspecto visual evidente, mas por sua toxicidade e dificuldade de degradação. Atualmente, técnicas físico-químicas são praticadas para a retirada desses compostos do rejeito industrial. Todavia, os processos de biorremediação vêm ganhando cada vez mais destaque por suas vantagens como baixo custo, não utilização de agentes tóxicos e simplicidade na condução. Os fungos apresentam-se como promissores agentes em aplicações nas áreas industrial e ambiental devido à sua ampla carga enzimática. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial do fungo *Phanerochaete chrysosporium* em degradar diferentes corantes têxteis por meio de fermentação submersa. Seis corantes foram testados de forma individualizada, a saber: *Reactive Black* 5, Reactive *Red* 120, *Direct Yellow* 27, Vermelho Remazol BS, Preto Biomax RB e Oliva T Coll nas concentrações de 50ppm e 100ppm. A cultura foi crescida em placas com meio BDA e incubada a 28°C durante 10 dias. Dois slots de crescimento fúngico foram transferidos para Erlenmeyers (em triplicata) contendo meio líquido de Batata Dextrose enriquecido com solução de elementos-traços e o respectivo corante têxtil. Foi utilizado como controle um meio de cultura não inoculado. Os frascos foram incubados em *shaker* no escuro a 28°C e 180rpm por 10 dias. Alíquotas foram retiradas em determinados intervalos de tempo (3, 5, 7 e 10 dias) e usadas para determinação da descoloração do corante através de análises espectrofotométricas. Ao final do experimento, a concentração de biomassa foi determinada na forma de peso seco e a toxicidade do meio foi avaliada em sementes de *Lactuca sativa.* Também se investigou a produção de enzima lacase pelo fugo em questão a partir da oxidação de ABTS. Os melhores resultados de descoloração média foram alcançados para a concentração de 50ppm, sendo 94% para o *Reactive Red* 120 após 7 dias, 88% para o Oliva T Coll, 95% para o Vermelho Remazol BS e 97% para o Preto Biomax RB após 10 dias. A concentração média de biomassa variou de 2,00g.L^{-1} a 3,40g.L^{-1}, indicando um elevado crescimento fúngico. Além disso, em todos os ensaios reparou-se em uma significativa adsorção de corante ao micélio. Não foi detectada atividade para a enzima lacase. A avaliação da toxicidade mostrou que os extratos degradados para os corantes *Reactive Black* 5, *Direct Yellow 27* e Vermelho Remazol BS se mostraram menos tóxicos; enquanto que para os corantes *Reactive Red* 120, Preto Biomax RB e Oliva T Coll as amostras tratadas se mostraram mais tóxicas, não sendo vantajoso. Constatou-se, portanto, que o principal mecanismo envolvido no processo de descoloração ocorreu através da fixação dos corantes à biomassa fúngica, sendo influenciado pela sua concentração e estrutura química. De maneira geral, o desempenho do *P. chrysosporium* reforçou seu potencial em processos de remediação de efluentes têxteis.

Palavras-chave: Biorremediação, corantes têxteis, fungos filamentosos, *Phanerochaete chrysosporium*

ABSTRACT

ALMEIDA, Alana Pereira de. **Decolorization of textile dyes by *Phanerochaete chrysosporium* under submerged system.** Rio de Janeiro, 2018. Dissertation (Master in Science in Engineering of Chemical and Biochemical Processes) - School of Chemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

The textile industry segment can be considered as one of the most polluting industrial sectors in the world, generating a high volume of wastewaters which are often discarded without the proper treatment. Particular concern should be given to the dye released into the environment, not only by its evident colorful aspect, but also by its toxicity and difficulty of degradation. Physicochemical techniques are nowadays applied for removing dyes from wastewater. However, bioremediation processes are standing as a promising technic by their advantages as low cost, non-use of toxic agents and ease conduction. The fungi, owners of a significant enzymatic system, show themselves as promising agents for use in industrial and environmental sectors. Thus, this study aimed to evaluate the biodegradation potential of *Phanerochaete chrysosporium* to decolorize different textile dyes under submerged fermentation. Six dyes were tested individually in this process: Reactive Black 5, Reactive Red 120, Direct Yellow 27, Vermelho Remazol BS, Preto Biomax RB e Oliva T Coll, at the concentrations of 50 ppm and 100ppm. The fungal strain was grown on culture plates pre-filled with Potato Dextrose Agar (PDA) and incubated at 28°C for 12 days. Following incubation, two mycelial agar plugs were cut and transferred to Erlenmeyer flasks (in triplicates) containing a liquid Potato Dextrose medium enriched with trace elements solution and the respective textile dye. Non-inoculated culture medium was used as control. The flasks were incubated in the dark at 28°C and 180rpm for 10 days. Aliquots were removed at determined time intervals (3, 5, 7 and 10 days) and used to determine dye decolorization by spectrophotometric analyses. At the end of the experiment, biomass concentration was determined as dry weight and the toxicity of the medium was evaluated in *Lactuca sativa* seeds. The lacase production was also investigated from the oxidation of ABTS. The best results of decolorization were achieved at the concentration of 50ppm, being 94% for Reactive Red 120 after 7 days, 88% for Oliva T Coll, 95% for Remazol Red BS and 97% for Biomax RB Black after 10 days. The biomass concentration varied from 2.00g.L^{-1} to 3.40g.L^{-1}, indicating a high fungal growth. In addition, a significant dye adsorption on the mycelium was observed in all tests. No activity was detected for the laccase enzyme. The toxicity evaluation showed that the degraded extracts for the dyes Reactive Black 5, Direct Yellow 27 and Red Remazol BS were less toxic; while for the dyes Reactive Red 120, Biomax RB Black and Oliva T Coll the treated samples were shown to be more toxic, not being advantageous. It was verified, therefore, that the main mechanism involved in the decolorization process occurred through the fixing of the dyes to the fungal biomass, being influenced by its concentration and chemical structure. In general, the performance of *P. chrysosporium* has reinforced its potential in textile effluent remediation processes.

Keywords: Bioremediation, textile dyes, filamentous fungi, *Phanerochaete chrysosporium*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14
2 OBJETIVOS 17
2.1 OBJETIVO GERAL 17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18
3.1 PANORAMA DA INDÚSTRIA TÊXTIL 18
3.1.1 Panorama Mundial 18
3.1.2 Panorama Brasileiro 20
3.2 PROCESSO PRODUTIVO TÊXTIL 24
3.2.1 Fiação 25
3.2.2 Tecelagem e Malharia 26
3.2.3 Beneficiamento 27
3.3 CORANTES TÊXTEIS 31
3.3.1 Estrutura e Classificação 32
3.4 EFLUENTES TÊXTEIS 38
3.4.1 A Relevância dos Corantes Presentes nos Efluentes Têxteis 41
3.5 TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS 43
3.5.1 Tratamentos Físico-Químicos para Remoção de Corantes 47
3.5.2 Aplicação de Microrganismos na Remoção de Corantes 48
3.5.2.1 Biodegradação de Corantes por Fungos Filamentosos 50
3.5.2.2 Enzimas Envolvidas no Processo de Biodegradação 54
3.6 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL 58
3.7 TESTES DE TOXICIDADE 61
4 MATERIAIS E MÉTODOS 64
4.1 MICRORGANISMO 64
4.2 CORANTES TÊXTEIS 65
4.3 TESTES DE DESCOLORAÇÃO EM SISTEMA SUBMERSO 66
4.4 DETERMINAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE 66
4.5 QUANTIFICAÇÃO DO CRESCIMENTO FÚNGICO 67
4.6 TESTE DE PRODUÇÃO DE LACASE 68
4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LACASE 68
4.8 TESTE DE TOXICIDADE EM *Lactuca sativa* 69

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 71
5.1 OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO DOS CORANTES 71
5.2 AVALIAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DOS CORANTES 75
5.2.1 *Reactive Black* 5 75
5.2.2 *Reactive Red* 120 79
5.2.3 *Direct Yellow* 27 81
5.2.4 Vermelho Remazol BS 84
5.2.5 Preto Biomax RB 86
5.2.6 Oliva T Coll 88
5.3 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO FÚNGICO 91
5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LACASE 93
5.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO 94
5.5.1 *Reactive Black* 5 94
5.5.2 *Reactive Red* 120 96
5.5.3 *Direct Yellow* 27 98
5.5.4 Vermelho Remazol BS 99
5.5.5 Preto Biomax RB 101
5.5.6 Oliva T Coll 103
6 CONCLUSÃO 105
7 PROPOSTAS PARA PESQUISAS FUTURAS 106
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 107
APÊNDICE A 119

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Balança comercial brasileira do setor têxtil e de confecção em US$ milhões – sem fibra de algodão. 21
Figura 2: Distribuição da indústria nas principais regiões. 22
Figura 3: A estrutura da cadeia produtiva têxtil. 24
Figura 4: Ilustração dos fios de urdume e dos fios de trama. 26
Figura 5: Estruturas moleculares de alguns corantes utilizados no presente trabalho..... 32
Figura 6: Exemplo da interação iônica entre o corante (D) e os grupos amino da fibra de lã..... 36
Figura 7: Exemplo da interação covalente entre um corante contendo um grupo reativo (clorotriazina) e grupos hidroxilas presentes na celulose da fibra de algodão. 36
Figura 8: Exemplo da interação de hidrogênio entre o corante sulfonado e os grupos carboxilas da fibra de lã..... 37
Figura 9: Fluxograma do processo da indústria têxtil de algodão. 39
Figura 10: Clivagem da ligação azo e geração de aminas aromáticas. 42
Figura 11: Fluxograma de uma ETE de uma indústria de beneficiamento têxtil. 44
Figura 12: Comparação entre as estruturas de um segmento da molécula de lignina e alguns poluentes. 51
Figura 13: Caminhos metabólicos utilizados por fungos na degradação de compostos aromáticos. 55
Figura 14: Ativação da cultura de *P. chrysosporium.* 64
Figura 15: Estrutura química do álcool cinamílico. 68
Figura 16: Esquema do teste de fitotoxicidade com *Lactuca sativa.* 69
Figura 17: Demonstração da medição radícula + hipocótilo. 70
Figura 18: Perfil da varredura do corante *Reactive Black* 5 para diferentes concentrações. 71
Figura 19: Perfil da varredura do corante *Reactive Red* 120 para diferentes concentrações. 71
Figura 20: Perfil da varredura do corante *Direct Yellow*27 para diferentes concentrações. 72
Figura 21: Perfil da varredura do corante Vermelho Remazol BS para diferentes concentrações. 72
Figura 22: Perfil da varredura do corante Preto Biomax RB para diferentes concentrações. 73
Figura 23: Perfil da varredura do corante Oliva T Coll para diferentes concentrações. 73
Figura 24: Relação entre absorbância e concentração de corante para o comprimento de onda máximo. 74
Figura 25: Percentagem de descoloração média do corante *Reactive Black* 5 ao longo do período de fermentação. 75
Figura 26: Descoloração do *Reactive Black* 5 a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 76
Figura 27: Descoloração do *Reactive Black* 5 a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 76
Figura 28: Percentagem de descoloração média do corante *Reactive Red* 120 ao longo do período de fermentação. 79
Figura 29: Descoloração do *Reactive Red* 120 a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 80
Figura 30: Descoloração do *Reactive Red* 120 a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 80
Figura 31: Percentagem de descoloração média do corante *Direct Yellow* 27 ao longo do período de fermentação. 82

Figura 32: Descoloração do *Direct Yellow* 27 a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 83
Figura 33: Descoloração do *Direct Yellow* 27 a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 83
Figura 34: Percentagem de descoloração média do corante Vermelho Remazol BS ao longo do período de fermentação. 84
Figura 35: Descoloração do Vermelho Remazol BS a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 85
Figura 36: Descoloração do Vermelho Remazol BS a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 86
Figura 37: Percentagem de descoloração média do corante Preto Biomax RB ao longo do período de fermentação. 86
Figura 38: Descoloração do Preto Biomax RB a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 87
Figura 39: Descoloração do Preto Biomax RB a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 87
Figura 40: Percentagem de descoloração média do corante Oliva T Coll ao longo do período de fermentação. 89
Figura 41: Descoloração do Oliva T Coll a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 89
Figura 42: Descoloração do Oliva T Coll a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias. 90
Figura 43: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante *Reactive Black* 5. 94
Figura 44: Crescimento vegetal médio para o corante *Reactive Black* 5. 95
Figura 45: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante *Reactive Red* 120. 96
Figura 46: Crescimento vegetal médio para o corante *Reactive Red* 120. 97
Figura 47: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante *Direct Yellow* 27. 98
Figura 48: Crescimento vegetal médio para o corante *Direct Yellow* 27. 99
Figura 49: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante Vermelho Remazol BS. ... 100
Figura 50: Crescimento vegetal médio para o corante Vermelho Remazol BS. 101
Figura 51: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante Preto Biomax RB. 101
Figura 52: Crescimento vegetal médio para o corante Preto Biomax RB. 102
Figura 53: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante Oliva T Coll. 103
Figura 54: Crescimento vegetal médio para o corante Oliva T Coll. 104

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Relação dos dez países com maior produção têxtil no mundo. 18
Tabela 2: Principais países exportadores e importadores de produtos têxteis em 2016. 19
Tabela 3: Exportações e importações brasileiras de produtos têxteis e confeccionados por país em 2016 – sem fibra de algodão 22
Tabela 4: Principais engomantes utilizados pela indústria têxtil. 27
Tabela 5: Processos envolvidos na etapa de beneficiamento de uma indústria têxtil. 28
Tabela 6: Aditivos utilizados no processo de tingimento. 30
Tabela 7: Classificação dos corantes de acordo com a estrutura química e seus respectivos grupos cromóforos. 34
Tabela 8: Classificação dos corantes de acordo com o método de aplicação e o substrato. 35
Tabela 9: Consumo de água devido ao tingimento na indústria têxtil. 38
Tabela 10: Composição média do efluente têxtil encontrada por alguns autores. 40
Tabela 11: Estimativa do grau de fixação para diferentes corantes nas fibras e sua perda para efluente. 41
Tabela 12: Processos convencionais de tratamento de efluente. 43
Tabela 13: Microrganismos usados na degradação de corantes, segundo diferentes pesquisadores..... 49
Tabela 14: Classificação dos fungos segundo a podridão da madeira. 52
Tabela 15: Relação de alguns fungos da podridão branca capazes de descolorir corantes sintéticos. .. 54
Tabela 16: Reações catalisadas pelas enzimas extracelulares envolvidas no processo de degradação de corantes. 56
Tabela 17: Comparação das propriedades entre as enzimas manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase. 57
Tabela 18: Comparativo entre os padrões para lançamento de efluentes líquidos. 59
Tabela 19: Aplicações das sementes de *Lactuca sativa* em testes de fitotoxicidade. 63
Tabela 20: Estrutura e classificação dos corantes têxteis utilizados. 65
Tabela 21: Comprimento de onda referente à máxima absorção de cada corante. 74
Tabela 22: Biomassa produzida e remoção de cor após dez dias de tratamento. 91

LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES

Abit	Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção
ABIQUIM	Associação Brasileira da Indústria Química
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)
AOX	Organo-Halogenados Adsorvíveis
BDA	Batata Dextrose Ágar
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
IEMI	Instituto de Estudos e Marketing Industrial
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
Lac	Lacase
LiP	Lignina Peroxidase
MnP	Manganês Peroxidase
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
POA	Processos Oxidativos Avançados
ppm	Parte por milhão
pH	Potencial hidrogeniônico
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
UNEP	Programa Ambiental das Nações Unidas
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
UV	Ultravioleta
WTO	World Trade Organization

1 INTRODUÇÃO

A indústria têxtil foi primordial para o crescimento industrial da maioria dos países ao redor do planeta por conta de uma necessidade básica do ser humano: o ato de vestir-se (FUJITA & JORENTE, 2015). O setor tem um importante significado social, cultural e econômico dentro das sociedades, pois não se pode viver sem a utilização de seu produto - o tecido - seja na forma de confeccionados, acessórios, artigos de cama, mesa e banho, dentre outros (LEITE, 2015).

Apesar de ser um dos maiores e mais tradicionais setores industriais do mundo, a indústria têxtil encontra-se também entre as maiores poluidoras. Segundo dados do relatório *The World's Worst Pollution Problems: Assessing Health Risks At Hazardous Waste Sites* elaborado pelo *Blacksmith Institute* em 2012, uma organização internacional sem fins lucrativos que se dedica à despoluição nos países em desenvolvimento, estima-se que até 20% da poluição global de águas seja proveniente do tratamento e tintura de tecidos.

É notório que os processos têxteis demandam grande quantidade de água, seja para o transporte dos produtos químicos, bem como para a remoção do excesso daqueles considerados indesejáveis (MELO, 2008). Em seu estudo, Sanin (1997) destaca que o setor têxtil é responsável por consumir 15% de toda água usada pelas indústrias. Em concordância, Toledo (2004) salienta que o consumo médio de água do setor é de aproximadamente 117 litros por quilograma de tecido.

Além da questão do elevado consumo de água, as indústrias têxteis são caracterizadas pela variedade dos compostos químicos utilizados, com destaque para os corantes sintéticos, gerando efluentes volumosos e de complexa composição (DUENSER, 1992). Calcula-se que pelo menos 20% desses seja descartado nos efluentes em função das perdas ocorridas durante o processo de fixação da tintura às fibras (ZANONI & CARNEIRO, 2001).

Desenvolvidos quimicamente para possuírem características como resistência à água e incidência de luz ultravioleta, os corantes sintéticos são de difícil degradação em ambiente natural, apresentando, por vezes, estruturas muito complexas e elevada toxicidade, mesmo que presentes em pequenas quantidades (ZANONI & CARNEIRO, 2001).

Além do aspecto visual, a poluição dos corpos hídricos com esses compostos afeta, principalmente, os processos de fotossíntese uma vez que a presença de cor interfere na transmissão da luz solar através da água, provocando alterações nos ciclos biológicos (YESILADA *et al*., 2003). Somado a isso, a oxidação biológica desse material consome o oxigênio dissolvido existente, prejudicando a atividade respiratória dos organismos vivos e, como consequência, causa o aumento da demanda bioquímica de oxigênio (SILVEIRA & SANTANNA, 1990).

Em relação à saúde humana, estudos têm revelado que algumas classes de corantes podem ser carcinogênicas e/ou mutagênicas, principalmente aquelas que contêm a função azo como cromófora (BROWN & DEVITO, 1993; KUNZ *et al.*, 2002). A biotransformação desses compostos no corpo humano pode ser responsável pela formação de intermediários como, por exemplo, aminas aromáticas que apresentam potencial carcinogênico por interagirem com moléculas de DNA (OLIVEIRA & VON SPERLING, 2007).

Diante das problemáticas expostas, a remoção desses componentes dos rejeitos industriais é um dos grandes problemas ambientais enfrentados pelo setor têxtil. Sendo assim, o desenvolvimento de tecnologias para o seu adequado tratamento tem sido objeto de grande interesse nos últimos anos.

Uma área muito promissora no que se refere a tratamento de efluentes se baseia no emprego de técnicas de biodegradação, principalmente porque permitem a retirada definitiva dos agentes poluidores da fase líquida. Dentre essas, o emprego de microrganismos na remoção de corantes é visto como um método eficaz e de baixo custo, podendo ser adotado como um pré-tratamento combinado com o sistema de tratamento convencional (BANAT *et al.*, 1996).

Os fungos são agentes microbianos muito cotados devido às suas características como ampla carga de enzimas extracelulares, alta capacidade de adaptação e fácil manuseio para fins tecnológicos. Essa capacidade de descoloração pode estar associada tanto à produção de enzimas extracelulares envolvidas na degradação de moléculas com estruturas químicas complexas quanto à capacidade de adsorção dos corantes pela biomassa celular (KUMARAN & DHARANI, 2011).

Desta maneira, este projeto buscou endossar o estudo de fungos filamentosos, mais especificadamente da espécie *Phanerochaete chrysosporium*, em processos de biodegradação de corantes. O objetivo da pesquisa consistiu em avaliar o seu potencial de descoloração de diferentes corantes e, inclusive, inferir sobre o aspecto toxicológico deste procedimento.

A presente dissertação encontra-se estruturada em sete capítulos. O primeiro, dado pela introdução aqui lida, busca contextualizar o leitor sobre a relevância do tema a ser abordado. O segundo capítulo apresenta pontualmente os objetivos gerais e específicos pretendidos com a pesquisa. No Capítulo 3 realiza-se uma revisão bibliográfica para que se tenha uma total compreensão do texto, abordando os principais tópicos inerentes à degradação de corantes por fungos filamentosos. O Capítulo 4 traz os materiais e métodos aplicados em cada etapa do projeto e o Capítulo 5 apresenta e discute os resultados encontrados. Por fim, os Capítulos 6 e 7 elucidam as conclusões e sugestões para estudos futuros, respectivamente. As obras consultadas para a elaboração desse trabalho são mencionadas em Referências Bibliográficas e os documentos complementares nos Apêndices.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal deste trabalho foi analisar a capacidade de degradação de diferentes corantes têxteis pela ação do fungo basidiomiceto *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 por fermentação submersa, avaliando seu potencial biotecnológico quanto à possibilidade de tratamento de efluentes têxteis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Foram estabelecidos como objetivos específicos:

- Avaliar comparativamente a biodegradação de diferentes corantes têxteis pelo fungo *P. chrysosporium* ME-446 utilizando como base o percentual de descoloração obtido via espectrofotometria;

- Verificar a influência do aumento da concentração do corante na biodegradação pelo fungo *P. chrysosporium* ME-446;

- Determinar a biomassa fúngica ao fim do processo fermentativo;

- Avaliar a produção de enzimas oxido-redutases, em especial a lacase, pelo fungo *P. chrysosporium* ME-446*;*

- Inferir sobre o principal mecanismo envolvido na degradação dos corantes;

- Avaliar a toxicidade dos extratos fermentados em semente de *Lactuca sativa*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PANORAMA DA INDÚSTRIA TÊXTIL

3.1.1 Panorama Mundial

A indústria têxtil é uma das maiores e mais antigas indústrias do mundo. A rápida globalização ocorrida na década de 80/90 implicou na migração de uma grande parcela da produção de artigos têxteis e confeccionados dos Estados Unidos, Europa e Japão para países emergentes da Ásia, alterando o mapa da produção mundial (BARBOSA, 2013).

O continente asiático concentra os principais produtores têxteis do mundo, com destaque para China, Índia, Paquistão, Indonésia, Taiwan, Coréia do Sul e Tailândia. Segundo dados do Instituto de Estudos e Marketing Industrial (IEMI), estes países estão entre os dez primeiros colocados no ranking dos maiores produtores têxteis, sendo responsáveis por quase 70% da produção têxtil.

Neste cenário, a China ocupa uma posição de liderança, sendo responsável por mais de 50% da produção mundial de têxteis. O único país da América do Sul com relevância é o Brasil, aparecendo na quinta posição do ranking mundial com 2,4% da produção mundial, vide Tabela 1.

Tabela 1: Relação dos dez países com maior produção têxtil no mundo.

País	Produção Têxtil (%)
China	50,20
Índia	6,90
Estados Unidos	5,30
Paquistão	3,60
Brasil	2,40
Indonésia	2,40
Taiwan	2,30
Turquia	1,90
Coréia do Sul	1,80
Tailândia	1,10

Fonte: GOTEX SHOW, 2017

De acordo com o *World Trade Statistical Review 2017*, documento elaborado pela *World Trade Organization* (WTO), as exportações têxteis mundiais totalizaram US$ 284 bilhões em 2016. Nesse contexto, a China aparece como líder em função dos seus produtos apresentem preços mais competitivos quando comparados com outros países. Suas exportações foram avaliadas em US$ 106 bilhões, o que corresponde a 37,2% do total exportado mundialmente. A segunda posição é ocupada pela União Europeia com US$ 65 bilhões, representando 23% do total das exportações.

Por outro lado, as importações mundiais têxteis em 2016 somaram um valor de aproximadamente US$ 300 bilhões. O maior importador é a União Europeia, com importação aproximada de US$ 69 bilhões, o equivalente a 22,9% das importações mundiais. Já os Estados Unidos aparecem em segundo lugar com movimentação de US$ 29 bilhões, representando 9,7% do total importado, seguido da China com US$ 17 bilhões, 5,5% das importações totais (WTO, 2017).

A Tabela 2 apresenta uma lista dos principais países exportadores e importadores de produtos têxteis em 2016, bem como a movimentação financeira correspondente.

Tabela 2: Principais países exportadores e importadores de produtos têxteis em 2016.

EXPORTAÇÕES		**IMPORTAÇÕES**	
País	**Valor em bilhões (US$)**	**País**	**Valor em bilhões (US$)**
China	106	União Européia	69
União Européia	65	Estados Unidos	29
Índia	16	China	17
Estados Unidos	13	Vietnã	13
Turquia	11	Japão	8
Coreia do Sul	10	Hong Kong	7
Paquistão	9	Bangladesh	7
Taiwan	9	México	6
Hong Kong	8	Turquia	6
Vietnã	7	Indonésia	6

Fonte: Adaptado deWTO, 2017

3.1.2 Panorama Brasileiro

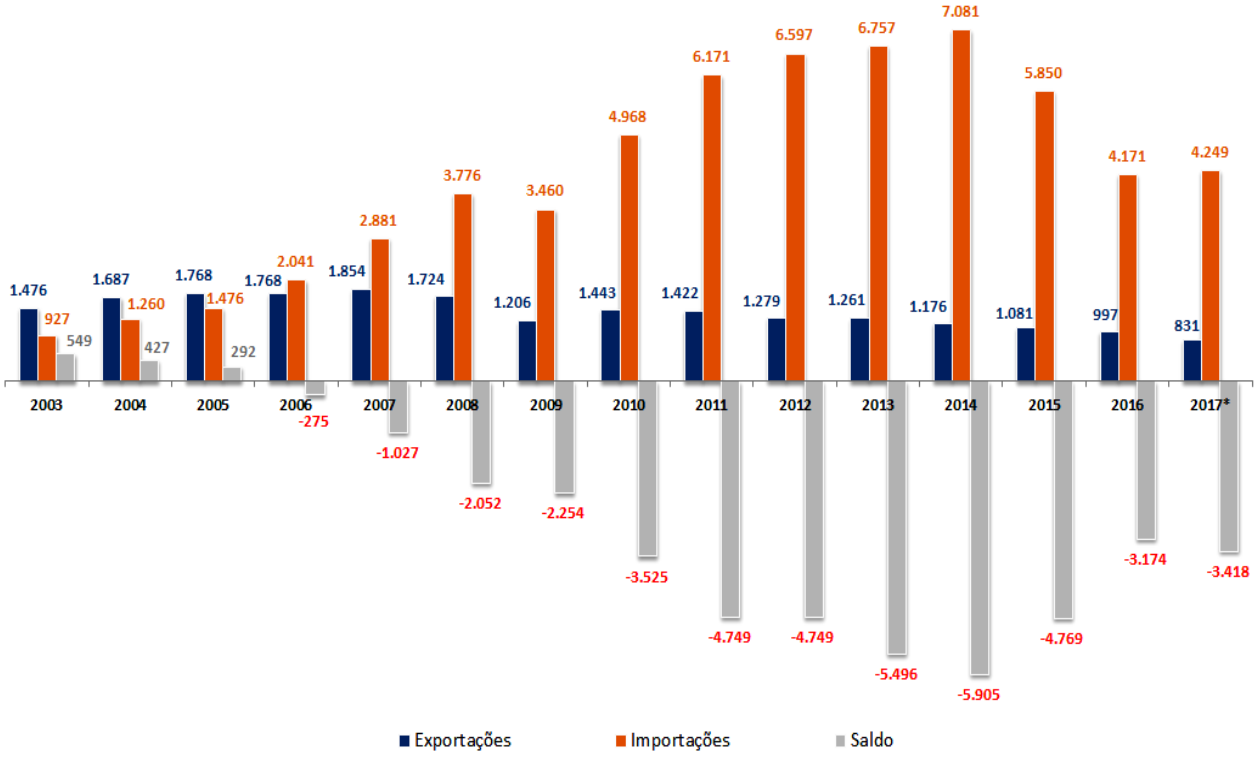
A indústria têxtil desempenhou um papel de grande relevância no processo de desenvolvimento e industrialização do Brasil. Implantada após a independência do país, principalmente no período que vai de 1844 até o final da I Guerra Mundial, as primeiras fábricas foram inauguradas no Nordeste, uma vez que esta região dispunha de uma razoável cultura algodoeira, matéria-prima básica da indústria têxtil, mão de obra abundante, principalmente escrava, e um mercado consumidor em crescimento (HASSEMER, 2006).

No final do século XIX, as fábricas passaram a se concentrar na região sudeste, principalmente no Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais, cujo crescimento demonstrava a importância econômica e política da região. A construção da estrada de ferro ligando esses três estados contribuiu decisivamente para esse deslocamento (FUJITA & JORENTE, 2015).

Segundo dados referentes ao ano de 2016 da Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (Abit), esse setor contou com uma produção média de 1,7 milhão de toneladas, movimentando cerca de US$ 37 bilhões. Ao todo, 29 mil empresas formais estavam instaladas no país, empregando mais de 1,5 milhão de trabalhadores diretos. Esses números representam 16,7% dos empregos e 5,7% do faturamento das indústrias de transformação, enfatizando a importância econômica e social desse setor para a economia brasileira ao gerar divisas e absorver expressiva quantidade de mão de obra.

Apesar de o Brasil ser um dos grandes produtores mundiais do setor, o país ainda tem uma participação pequena no comércio internacional, ocupando o 33º no ranking de exportação de produtos têxteis e de vestuário, reflexo de uma economia voltada ao mercado interno (GOTEX SHOW, 2017).

Nos últimos anos, o país vem se consolidando como um país importador de produtos têxteis e confeccionados. Como consequência, a balança comercial da cadeia têxtil veio, ano a ano, ampliando seu déficit, chegando ao valor máximo de US$ 5,9 bilhões em 2014. Após alguns sinais de recuperação nos anos de 2015 e 2016, o déficit voltou a aumentar no ano de 2017, conforme pode ser observado na Figura 1 (Abit, 2017).



*Em 2017, somente foram considerados os meses de janeiro a outubro.

Figura 1: Balança comercial brasileira do setor têxtil e de confecção em US$ milhões – sem fibra de algodão.

Fonte: Adaptado de Abit, 2017

Apesar das exportações brasileiras (sem fibra de algodão) apresentarem um decaimento ao longo dos anos, o país ainda se configura como o grande exportador do Ocidente. Em 2016, essas alcançaram o valor de US$ 997 milhões, dos quais 23% foram destinados à Argentina e 11% para os Estados Unidos (Abit, 2017). Todavia, diversos outros países do continente americano entram nessa lista, como Paraguai, Uruguai, México, Peru, Colômbia, Chile e Bolívia.

Já em relação às importações, essas atingiram o valor de US$ 4,2 bilhões em 2016, contra US$ 5,85 bilhões no ano anterior (Abit, 2017). Desse valor, mais da metade (aproximadamente 51%) é proveniente da China, ressaltando a hegemonia desse país no contexto mundial. Outros países do continente asiático também merecem destaque, como a Índia e Indonésia.

As informações referentes às exportações e importações brasileiras no ano de 2016 podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3: Exportações e importações brasileiras de produtos têxteis e confeccionados por país em 2016 – sem fibra de algodão

EXPORTAÇÕES		IMPORTAÇÕES	
País	**Valor em milhões (US$)**	**País**	**Valor em milhões (US$)**
Argentina	234,1	China	2.121,0
Estados Unidos	113,1	Índia	308,6
Paraguai	89,5	Indonésia	228,4
Uruguai	72,5	Estados Unidos	138,3
México	49,2	Vietnã	119,7
Peru	43,7	Bangladesh	118,5
Colômbia	38,9	Taiwan	97,9
Chile	37,9	Turquia	84,9
Bolívia	30,9	Paraguai	82,9
China	26,4	Coreia do Sul	78,4

Fonte: Adaptado de Abit, 2017

Em relação à distribuição geográfica, a região Sudeste concentra a maioria dessas indústrias, se destacando por possuir o maior mercado consumidor e ser o centro de distribuição de atacado e varejo do país. Outras regiões importantes são Sul e Nordeste (LEÃO, 2002). Essas regiões são as três principais macrozonas de produção do país, que podem ser visualizadas na Figura 2.

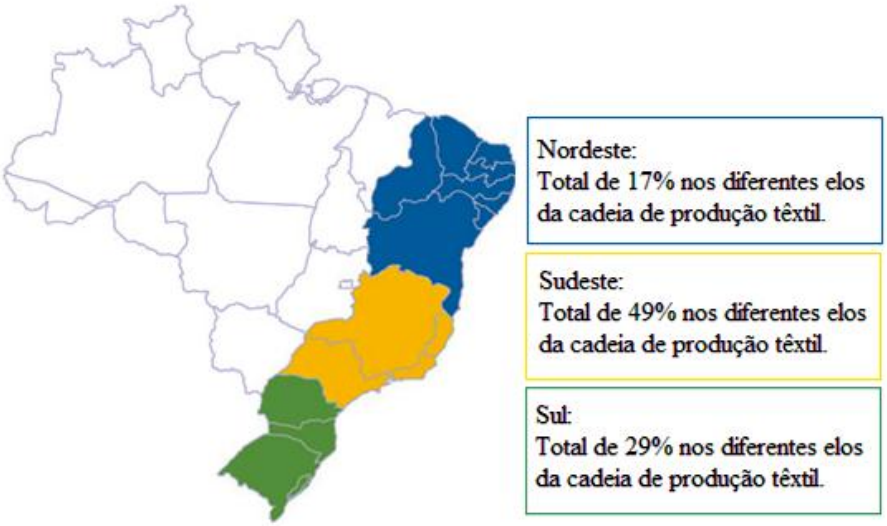


Figura 2: Distribuição da indústria nas principais regiões.

Fonte: Adaptado de GOTEX SHOW, 2017

Dentro dessas macrozonas, destacam-se os estados de Santa Catarina (17,1%), Paraná (8,8%) e Rio Grande do Sul (3,2%), no Sul; São Paulo (29,0%), Minas Gerais (11,5%) e Rio de Janeiro (6,4%), no Sudeste; e Ceará (7,0%), Rio Grande do Norte (2,9%), Pernambuco (2,6%) e Bahia (2,2%), no Nordeste.

Os principais polos de produção encontrados são:

- **Polo de Americana (SP):** compreende os municípios de Americana, Nova Odessa, Santa Bárbara D'Oeste e Sumaré. É considerado o maior centro de tecidos planos de fibras artificiais e sintéticas da América Latina e responde por 85% da produção nacional desse segmento;

- **Nova Friburgo (RJ):** polo de moda íntima que compreende seis municípios. A região produz cerca de 30% da produção brasileira de moda íntima. São mais de 1,2 mil empresas com 20 mil trabalhadores que possuem, na maioria, atacados próprios, onde vendem seus produtos para sacoleiras e pequenos varejistas;

- **Monte Sião (MG):** concentra cerca de duas mil empresas que produzem malha retilínea (tricô) nos quatro municípios do polo;

- **Vale do Itajaí (SC):** destacam-se as cidades de Blumenau, Joinville, Brusque e Jaraguá do Sul. Segundo maior polo têxtil da América Latina, o polo de Itajaí é bastante competitivo no mercado internacional, exportando aproximadamente 20% da produção local da linha lar;

- **Polo de Fortaleza (CE):** é o maior polo do Ceará, responsável por fabricar produtos bastante diversificados como roupa íntima, moda praia, infantil, feminina e masculina.

3.2 PROCESSO PRODUTIVO TÊXTIL

A indústria têxtil propriamente dita constitui um dos elos mais importantes da cadeia produtiva do setor. A montante tem-se o fornecimento de matérias-primas, compostas de fibras têxteis tanto naturais quanto sintéticas e artificiais; enquanto as atividades da indústria de confecção, que compreende a fabricação de vestuário e diversos outros artigos, e a comercialização do produto acabado encontram-se a jusante (BEZERRA, 2014). A configuração da cadeia produtiva têxtil está demonstrada na Figura 3.

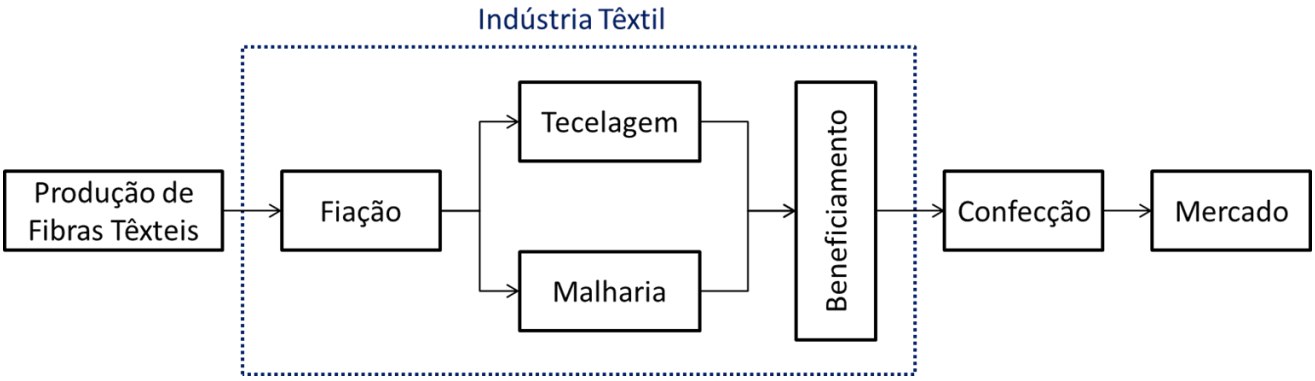


Figura 3: A estrutura da cadeia produtiva têxtil.

Fonte: Autor, 2017

Cada uma dessas etapas é interdependente, de forma que uma elabora um produto final que constitui o insumo principal da etapa seguinte. Todavia, a descontinuidade das operações, resultado de uma relativa independência entre elas, possibilita flexibilidade na organização da produção e a existência de empresas com portes e níveis tecnológicos diferentes, bem como a coexistência de empresas totalmente especializadas frente aos processos de verticalização, que são características marcantes no setor (BEZERRA, 2014).

Em relação ao processo produtivo da indústria têxtil, esse se inicia com a fiação. Nessa etapa, as fibras são transformadas em fios, os quais ficam armazenados até se iniciar o processo seguinte que pode ser a tecelagem, onde os fios crus são tramados de forma a constituírem tecidos, ou a malharia, onde os fios são tramados em malha. Essas etapas ocorrem a seco e, em função disso, não apresentam geração de efluentes líquidos (BRAILE & CAVALCANTI, 1993).

Posteriormente, os tecidos e malhas seguem para o beneficiamento. Segundo Bastian & Rocco (2009), nesta etapa ocorre a preparação do material para seu uso final, adquirindo características como cor, toque e estabilidade dimensional. Essa é a fase mais crítica em termos de poluição ambiental, uma vez que envolvem tecnologias que empregam um grande volume de água e uma variedade de substâncias químicas com risco ambiental.

Após seu acabamento, o material é levado para a confecção, onde será transformado nos mais variados produtos, e então é distribuído ao mercado para ser comercializado (BRAILE & CAVALCANTI, 1993). A seguir será apresentada de forma mais detalhada cada etapa de produção.

3.2.1 Fiação

O processo de fiação consiste, essencialmente, em transformar a matéria-prima fibrosa previamente tratada em um fio com determinada relação de massa por unidade de comprimento (título). Em geral, o fio pode ser definido como um agrupamento de fibras lineares que formam uma linha contínua com características têxteis como, por exemplo, boa resistência e a alta flexibilidade.

Segundo o Guia Técnico Ambiental da Indústria Têxtil do Estado de Minas Gerais, as propriedades físicas da matéria-prima fibrosa condicionam e definem o processo de fiação a ser utilizado. Essa etapa compreende diversas operações por meio das quais as fibras são abertas, limpas e orientadas em uma mesma direção, paralelizadas e torcidas de modo a se prenderem umas às outras por atrito.

Na pré-história o processo de fiação era realizado manualmente, onde um chumaço de fibras era estirado e depois torcido. Já nas antigas Grécia e Roma, passou a ser realizada em um aparelho denominado roca. Com a Revolução Industrial, automatizou-se esse processo com a invenção dos filatórios, máquinas utilizadas até os dias de hoje (PEREIRA, 2009).

3.2.2 Tecelagem e Malharia

Segundo Bastian & Rocco (2009), os fios passam por uma série de operações de preparação antes de serem tecidos, constituídas principalmente pelos processos de urdição e engomagem.

A urdição consiste na construção de um sistema de fios paralelos dispostos longitudinalmente, denominado de urdume, através dos quais a trama é tecida, conforme demonstrado na Figura 4. Esse sistema é enrolado num eixo, podendo ser posteriormente montado na parte posterior dos teares ou levado para o processo seguinte de preparação, conhecido como engomagem.

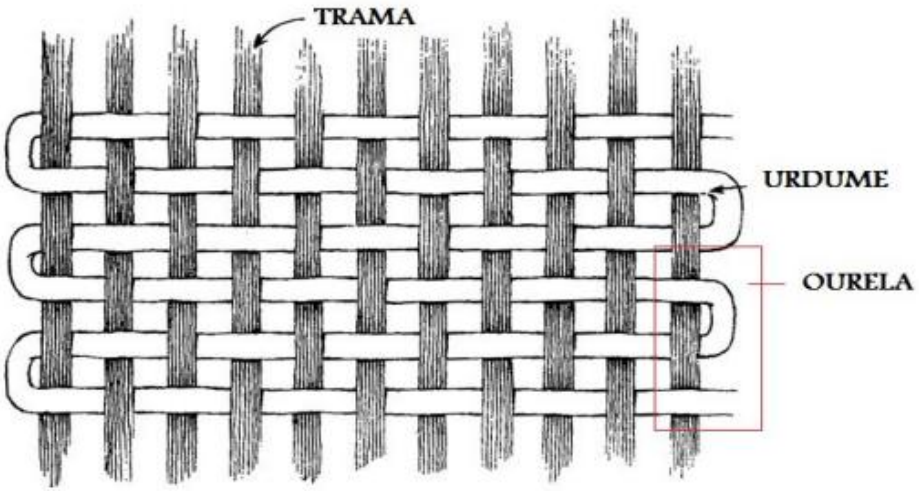


Figura 4: Ilustração dos fios de urdume e dos fios de trama.

Fonte: RIBEIRO, 2005

A etapa de engomagem se resume em aplicar uma película de goma (natural ou sintética) nos fios de urdume para posterior tecimento. Essa operação tem como objetivo revestir os fios para protegê-los da tensão e atrito com as peças componentes do tear. A Tabela 4 apresenta os principais tipos de engomantes utilizados pela indústria têxtil, bem como sua aplicação nos diferentes tipos de fibras.

Tabela 4: Principais engomantes utilizados pela indústria têxtil.

Engomante principal	Algodão	Lã	Mistura de poliéster (1)	Acrílico	Acetato e Nylon	Poliéster
Amido (2)	X	X	X	X		
CMC (3)	X	X	X			
PVA (4)	X	X	X	X		X
PVAc(5)	X	X	X	X		X
Poliacrilatos	X	X	X	X	X	X
Poliésteres						X

NOTA: (1) Misturas de poliéster com algodão, lã e/ou viscose; (2) Amido e seus derivados: CMA (carboximetilamido), amido etoxilado e amido hidroxilado; (3) Carboximetilcelulose; (4) Álcool polivinílico; (5) Acetato de polivinila

Fonte: ALCÂNTARA & DALTIN, 1996

Uma vez preparados, os fios seguem para o tecimento, onde serão entrelaçados nos teares de forma a confeccionar tecidos planos ou tecidos de malhas. As principais diferenças entre esses tecidos estão relacionadas com a estrutura e a geometria particulares de cada um dos artigos, conferindo diferentes características ao produto final como, por exemplo, a maior flexibilidade e elasticidade da malha se comparada a maior resistência dos tecidos planos.

3.2.3 Beneficiamento

De maneira geral, pode-se dizer que a etapa de beneficiamento visa o melhoramento de algumas características do material têxtil referentes à sua aparência, resistência, toque, capacidade de absorção de água e etc. Para isso, variadas operações podem estar envolvidas já que cada substrato requer uma preparação específica dependendo da necessidade do seu aproveitamento. A Tabela 5 apresenta alguns desses processos, bem como suas finalidades.

Tabela 5: Processos envolvidos na etapa de beneficiamento de uma indústria têxtil.

Processos	Finalidade básica
Chamuscagem	Eliminar fibrilas da superfície do material têxtil por meio de queima.
Desengomagem	Remover a goma aplicada ao fio de urdume para favorecer o tecimento durante o processo de engomagem
Purga / Limpeza	Remover materiais oleosos e impurezas através de reações de saponificação, emulsão e solvência.
Alvejamento	Remover coloração amarelada (natural) do material têxtil.
Mercerização e Caustificação	Tratamentos alcalinos do material têxtil com objetivo de melhorar propriedades físico-químicas da fibra (brilho, aumento da afinidade por corante, estabilidade dimensional etc.).
Efeito "seda"	Tratamento alcalino do material têxtil de poliéster com objetivo de conferir toque sedoso.
Tingimento	Conferir coloração ao material têxtil.
Estamparia	Conferir coloração de forma localizada ao material têxtil.
Secagem	Retirar umidade do material através de energia térmica.
Compactação	Proporcionar encolhimento do material atração de mecanismos físicos com objetivo de evitar encolhimento posterior da peça confeccionada quando submetida à lavagem. Processo usado em malhas.
Sanfonização	Tem a mesma função da compactação, porém é utilizada em tecidos planos.
Calandragem	Eliminar vincos e conferir brilho. Processo mais utilizado em malhas.
Felpagem	Conferir aspecto de felpa à superfície do material, podendo atuar como isolante térmico (utilizado em moletons, malhas *softs* etc.) ou apenas alterar o aspecto felpado.
Navalhagem	Cortar / Aparar pelos.
Esmerilhagem	Espécie de "lixamento" da superfície do material com objetivo de melhorar o toque e tirar o brilho.
Amaciamento	Conferir toque agradável ao material.
Repelência água/óleo	Conferir repelência à água e às sujidades.
Acabamento anti-ruga	Evitar amarrotamento.
Encorpamento	Conferir toque volumoso ou encorpado ao material.
Acabamento anti-chama	Evitar propagação de chama.

Fonte: Adaptado de BASTIAN & ROCCO, 2009

Vale a pena destacar a etapa de tinturaria por ser a mais complexa dentre todas as operações de beneficiamento. É nessa fase que ocorre o tingimento do tecido, isto é, a aplicação de corantes a fim de modificar ou adicionar uma cor ao mesmo. Como envolve a utilização de uma grande variedade de corantes e auxiliares de tingimento, grande parte dos efluentes têxteis é gerada nessa etapa (BASTIAN & ROCCO, 2009).

Em geral, o processo de tingimento compreende três fases: montagem, fixação e tratamento final. Na primeira, o corante é transferido da solução para a superfície da fibra, podendo ser feito por esgotamento – quando o tecido fica em contato com o banho de tingimento por um longo período de tempo – ou por impregnação – quando o corante é forçado a entrar em contato com a fibra através de uma força mecânica (BASTIAN & ROCCO, 2009).

Já a fixação pode ocorrer pela reação entre o corante e o tecido, pela montagem do corante insolúvel na forma solubilizada ou por impedimento físico, quando a fibra é alterada de um estado dilatado para um mais fechado. É função de vários fatores como tempo, temperatura, pH e utilização de auxiliares químicos. Dentre esses, os tensoativos têm especial importância (BASTIAN & ROCCO, 2009). A Tabela 6 mostra uma lista dos produtos auxiliares de tingimento mais utilizados.

A última etapa é o tratamento final que consiste numa lavagem à quente com detergentes para retirar o excesso de corantes, seguido pelo enxágue. Isto evita que o corante que não se fixou à fibra venha a se soltar no momento em que o tecido fique umedecido novamente, que pode ser pelo suor ou pela lavagem, manchando outras roupas no mesmo banho (BASTIAN & ROCCO, 2009).

Tabela 6: Aditivos utilizados no processo de tingimento.

Produto	Função	Base química
Umectantes	Homogeniza e acelera a hidrofilidade do tecido evitando diferentes tempos de contato de regiões de fibras com a solução de corante, provocando manchas.	Nonilfenol etoxilado Ácidos graxos etoxilados
Antiespumantes	Evita o transbordamento do banho de corante pela formação de espuma em máquinas de alta agitação.	Emulsões de silicone Hidrocarbonetos alifáticos
Umectantes de baixa espuma	Evita a formação de espuma sem a necessidade de antiespumantes.	Álcool graxo etoxilado e propoxilado
Sequestrantes	Evita que altos teores de metais na água precipitem os corantes ou manchem os tecidos.	Acrilatos Ácido cítrico EDTA
Ajustadores de pH	Ajusta o pH da solução para que ocorra a reação entre a fibra e o corante.	Carbonatos (barrilha) Hidróxido de sódio Ácido acético Ácido sulfúrico
Eletrólitos	Aumenta a força iônica do meio facilitando a montagem do corante e diminui a quantidade de corante perdido na solução após o tingimento.	Cloreto de sódio Sulfato de sódio
Retardamento de montagem ou Igualizante	Evita o tingimento muito rápido das partes mais expostas do tecido para que haja uniformidade no tingimento.	Éteres poliglicólicos Naftaleno sulfonato de sódio Cloreto de sódio Sulfato de sódio
Dispersantes	Usados para dispersar corantes não solúveis em água.	Tensoativos em geral
Insolubilizantes de corantes	Fazem com que o corante solubilizado se torne novamente insolúvel por oxidação.	Peróxido de hidrogênio Nitrito de sódio
Removedores de corantes não fixados e solubilizantes	Eliminam os corantes não fixados às fibras através da solubilização destes, evitando a formação de manchas por lavagem.	Hidrossulfito de sódio Sulfeto de sódio
Carriers	Facilitam o transporte do corante à fibra, aumentando a absorção por inchamento.	Organoclorados

Fonte: ALCÂNTARA & DALTIN, 1995

3.3 CORANTES TÊXTEIS

As indústrias têxteis são as que mais utilizam corantes para tingimento de suas fibras. Segundo o *Colour Index*, um catálogo criado pela *American Association of Textile Chemists and Colorists* e pela *British Society of Dyers and Colorists*, mais de oito mil corantes orgânicos sintéticos estão associados a esse segmento industrial (O'NEILL *et al.*, 1999; ZANONI & CARNEIRO, 2001).

O primeiro corante a ser conhecido pela humanidade foi o Negro-de-Fumo e, até metade do século XIX, só existiam pigmentos naturais provenientes de vegetais, animais e minerais. Somente em 1856, o químico William Henry Perkin descobriu acidentalmente o primeiro corante sintético comercialmente bem sucedido. Denominado de Malva, foi obtido a partir da reação da fenilamina (C_6H_7N) com dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) como um precipitado de coloração púrpura (WESENBERG *et al.*, 2003).

Após essa descoberta, houve uma corrida dos químicos para conseguir sintetizar outros corantes. Tanto que, já no final do século XIX, diversos fabricantes de corantes sintéticos haviam se estabelecido na Europa, em países como Alemanha, Inglaterra, França e Suíça. Posteriormente, no século XX, se expandiram para diversos países asiáticos, como China, Índia e Indonésia, tornando-os grandes exportadores de corantes (ABIQUIM, 2016).

Por causa do baixo custo de síntese, estabilidade e variedade de cores quando comparado aos corantes naturais, os corantes sintéticos têm sido extensamente usados em diversos setores industriais, como o têxtil, o de papel, o de borracha, o de plásticos, o farmacêutico, o de cosmético e o alimentício (CHAGAS & DURRANT, 2001)

Pode-se definir corante como toda substância capaz de conferir cor a um determinado substrato, que pode ser um tecido, papel, couro ou outros materiais (BARCELLOS, 2004). No caso dos corantes têxteis, fixam-se às fibras do tecido através de algum mecanismo de origem molecular, seja por adsorção ou por meio de ligações iônicas ou covalentes. Dentro de um conjunto de características ideais, devem ser estáveis à luz e aos processos de lavagem, apresentando fixação uniforme com o material receptor (GUARATINI & ZANONI, 2000).

3.3.1 Estrutura e Classificação

As moléculas de corantes, estruturalmente, podem ser divididas em duas partes principais: o grupo cromóforo, responsável pela coloração devido à absorção seletiva de parte da energia radiante, e os grupos auxiliares, também chamados de auxocromos, importantes para a fixação do corante à fibra (KUNZ *et al.*, 2002).

A Figura 5 ilustra as estruturas moleculares de alguns dos corantes têxteis utilizados neste projeto, evidenciando-se em azul o grupo cromóforo e em vermelho, os grupos auxiliares.

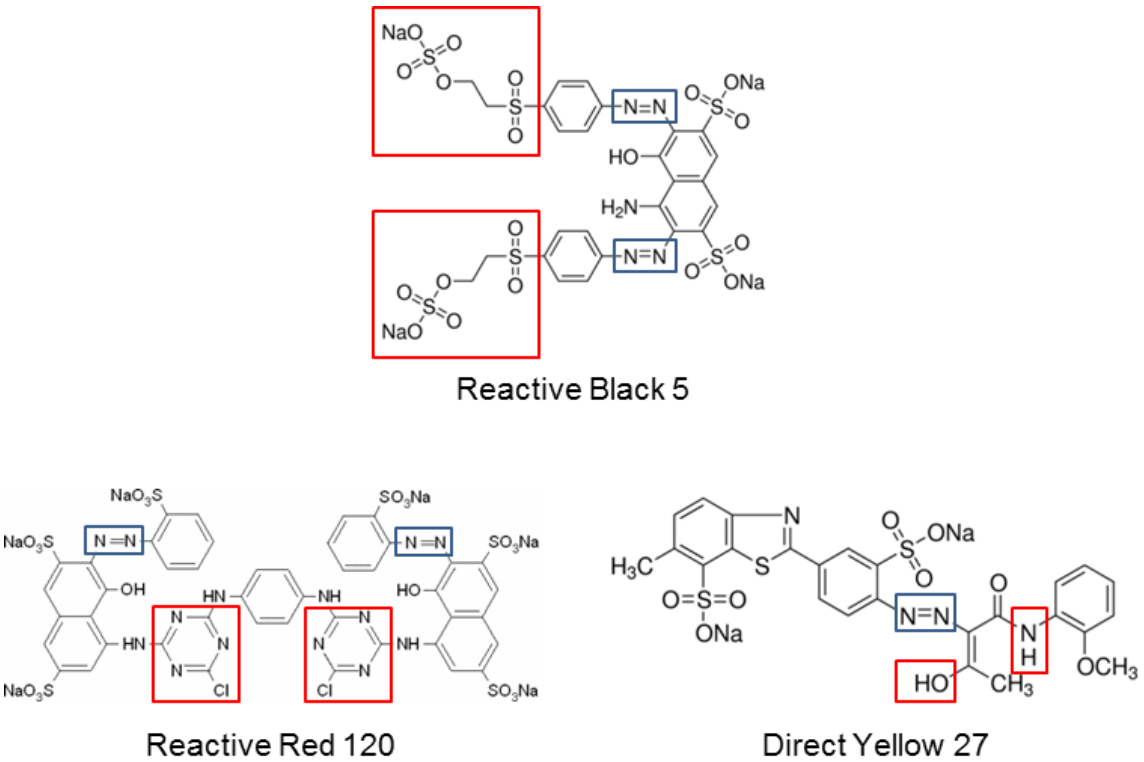


Figura 5: Estruturas moleculares de alguns corantes utilizados no presente trabalho

Fonte: Autor, 2017.

Ter o conhecimento desses dois elementos principais da molécula é de fundamental importância para a classificação dos corantes. Além disso, permite refletir sobre a sua toxicidade e biodegradabilidade (BAÊTA, 2012), assim como determinar a escolha do corante para a fibra de interesse, uma vez que nenhuma classe é capaz de tingir todos os tipos de tecidos.

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria Química (ABIQUIM), os corantes podem ser classificados quanto a sua estrutura química ou pelo método de aplicação a que se destinam, sendo a última a mais empregada industrialmente.

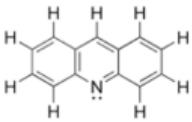
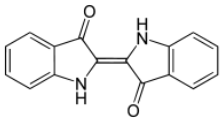
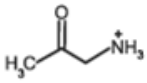
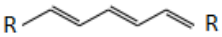
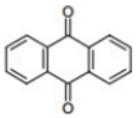
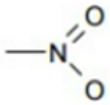
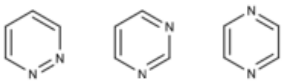
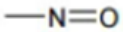
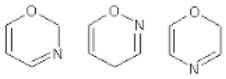
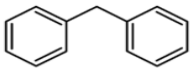
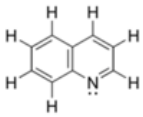
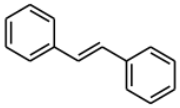
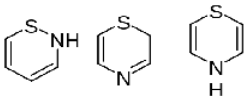
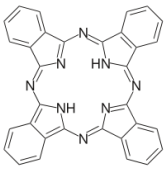
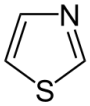
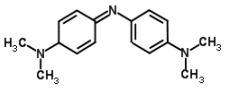
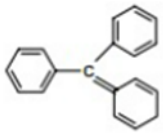
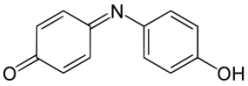
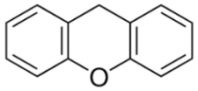
Em relação à estrutura química, os corantes podem ser divididos em: acridina, aminocetona, antraquinona, azina, azo, difenilmetano, estilbeno, ftalocianina, indamina, indofenol, indigóide, metina e polimetina, nitro, nitroso, oxazina, quinolina, tiazina, tiazol, triarilmetano e xanteno (ABIQUIM, 2011).

Essa diferenciação está diretamente relacionada ao grupo cromóforo presente na molécula de corante, sendo os mais usuais -C=C-, -C=N-, -C=O-, -N=N- e $-NO_2$ ligados a anéis aromáticos (DOS SANTOS *et al.*, 2007) uma vez que esse sistema conjugado possibilita a absorção de radiação na faixa da luz visível. A Tabela 7 resume a classificação química dos corantes, bem como destaca seus respectivos grupos cromóforos.

Vale a pena destacar que o grupo mais representativo e largamente empregado no tingimento de fibras têxteis pertence à família dos azocorantes, representando quase 70% do uso de corantes têxteis (CATANHO *et al.*, 2006). O grande emprego dessa classe de corante pode ser explicado pelo fato de serem facilmente sintetizados e possuírem baixo custo de produção e alta estabilidade (GUARATANI & ZANONI, 2000).

Entretanto, eles são considerados os corantes mais perigosos, especialmente por sua biotransformação gerar aminas, benzidinas e outros intermediários com potencial carcinogênico (GUARATANI & ZANONI, 2000). Como consequência, existem muitas pesquisas conduzidas com foco nesta classe de corante objetivando a diminuição de seu impacto ambiental.

Tabela 7: Classificação dos corantes de acordo com a estrutura química e seus respectivos grupos cromóforos.

Classificação por estrutura química	Grupo cromóforo	Classificação por estrutura química	Grupo cromóforo
Acridina		Indigóide	
Aminocetona		Metina e Polimetina	
Antraquinona		Nitro	
Azina		Nitroso	
Azo		Oxazina	
Difenilmetano		Quinolina	
Estilbeno		Tiazina	
Ftalocianina		Tiazol	
Indamina		Triarilmetano	
Indofenol		Xanteno	

Fonte: Adaptado da ABIQUIM, 2011

Quanto à classificação pelo método de aplicação, os corantes podem ser divididos em: à cuba sulfurados, à tina, ácidos, ao enxofre, básicos, diretos, dispersos e reativos. A Tabela 8 relaciona essas diversas classes de corantes e o tipo de fibra aos quais se destinam.

Tabela 8: Classificação dos corantes de acordo com o método de aplicação e o substrato.

Classificação pelo método de aplicação	Fibras
À Cuba Sulfurados	Fibras naturais e fibras artificiais
À Tina	Fibras naturais
Ácidos	Fibras naturais, fibras sintéticas, lã
Ao Enxofre	Fibras naturais
Básicos	Couro, fibras sintéticas, lã
Diretos	Couro, fibras naturais, fibras artificiais
Dispersos	Fibras artificiais e fibras sintéticas
Reativos	Couro, fibras naturais, fibras artificiais

Fonte: Adaptado da ABIQUIM, 2011

Esta classificação está associada, por sua vez, aos grupos auxiliares existentes na molécula. Os mesmos são constituídos por heteroátomos com ao menos um par de elétrons livres, o que possibilita a interação destes com as fibras têxteis (DOS SANTOS *et al.*, 2007). Exemplos de auxocromos mais comuns são: aminas ($-NH_3$), carboxilas (-COOH), sulfonatos ($-SO_3H$) e hidroxilas (-OH).

De acordo com Guaratini & Zanoni (2000), a fixação da molécula do corante é feita, normalmente, em solução aquosa e pode envolver ligações iônicas, covalentes, de Van der Waals e de hidrogênio.

No caso das ligações iônicas, ocorrem interações mútuas entre o centro positivo dos grupos amino e o centro negativo dos grupos carboxilatos presentes na fibra com a carga iônica da molécula do corante. Normalmente, o ácido acético é adicionado ao banho de tingimento para ajudar a fixação do corante sobre a fibra (GUARATINI & ZANONI, 2000).

Esse tipo de interação ocorre tipicamente no caso de corantes ácidos e básicos. A principal diferença entre eles está no fato dos corantes básicos serem catiônicos e os corantes ácidos, aniônicos. (GUARATINI & ZANONI, 2000). Na Figura 6 é apresentado um exemplo da interação iônica entre o corante (D) e os grupos amino da fibra da lã.

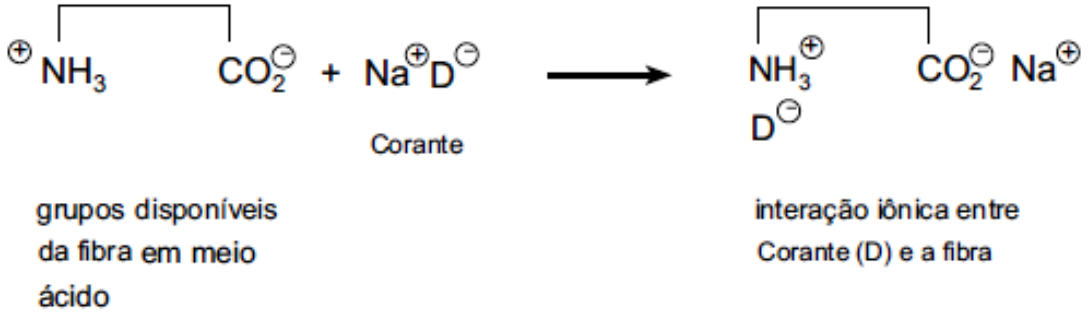


Figura 6: Exemplo da interação iônica entre o corante (D) e os grupos amino da fibra de lã.

Fonte: GUARATINI & ZANONI, 2000

As interações covalentes são provenientes da formação de uma ligação covalente entre a molécula do corante contendo um grupo reativo eletrofílico, normalmente clorotriazinila e sulfatoctilsulfonila, e resíduos nucleofílicos da fibra. Esse tipo de ligação é característica dos corantes reativos (GUARATINI & ZANONI, 2000). Exemplos característicos deste tipo de interação são tinturas de fibra de algodão, conforme apresentado na Figura 7.

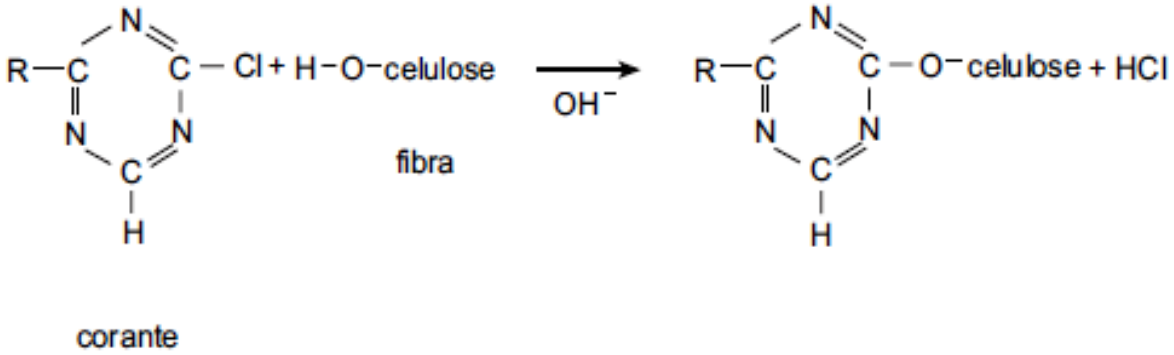


Figura 7: Exemplo da interação covalente entre um corante contendo um grupo reativo (clorotriazina) e grupos hidroxilas presentes na celulose da fibra de algodão.

Fonte: GUARATINI & ZANONI, 2000

O grupo dos corantes reativos é o mais utilizado pelas indústrias têxteis, representando cerca de 20 a 30% de todos os corantes empregados pelo referido segmento industrial (ALMEIDA *et al.*, 2004). Esses corantes apresentam como característica alta solubilidade e, devido ao grupo eletrofílico nele presente, a formação de ligações covalentes resulta em um alto poder de fixação do corante à fibra (GUARATINI & ZANONI, 2000).

Já as ligações de Van der Waals representam a atração entre as moléculas de compostos não polares quando estas se aproximam suficientemente. Como esta força de atração é proporcional à área de possível contato, moléculas planas e grandes tendem a se fixar nas fibras por causa da força de atração similar (GUARATINI & ZANONI, 2000).

Os corantes diretos caracterizam-se por tingir fibras de celulose através desse tipo de ligação. A afinidade do corante é aumentada pelo uso de eletrólitos, pela planaridade na configuração da molécula do corante ou pela dupla-ligação conjugada que aumenta a adsorção do corante sobre a fibra (GUARATINI & ZANONI, 2000).

Além dessas, a fixação também pode se dar por ligação de hidrogênio entre átomos de hidrogênio do corante com pares de elétrons livres de átomos doadores presentes na fibra, conforme ilustrado na Figura 8. Exemplos característicos deste tipo de interação são encontrados na tintura de lã, seda e fibras sintéticas como acetato de celulose (GUARATINI & ZANONI, 2000).

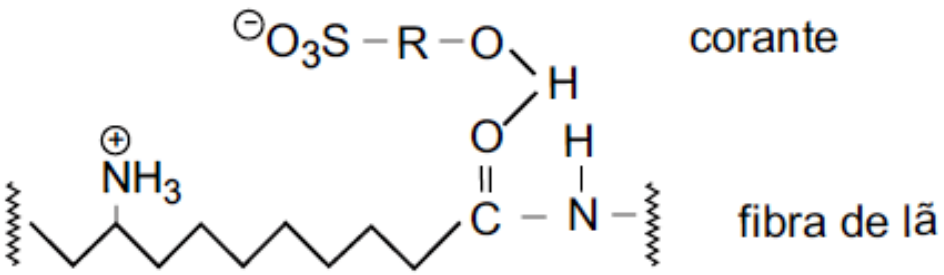


Figura 8: Exemplo da interação de hidrogênio entre o corante sulfonado e os grupos carboxilas da fibra de lã.
Fonte: GUARATINI & ZANONI, 2000

3.4 EFLUENTES TÊXTEIS

O processo produtivo industrial do setor têxtil detém diversas questões ambientais que devem ser cuidadosamente consideradas devido ao grande potencial de provocar impactos no ecossistema. Além da geração de resíduos sólidos e das emissões atmosféricas, os efluentes líquidos de tais indústrias configuram como a principal problemática do setor.

A indústria têxtil destaca-se pela grande quantidade de água consumida durante seu processo de produção, sendo 88% desse volume descartado na forma de efluente, o que a torna uma das maiores geradoras de rejeitos líquidos (LEÃO *et al.*, 2002). Na Figura 9, por exemplo, é apresentado um fluxograma geral do processo produtivo têxtil que demonstra as etapas nas quais ocorre consumo de água, representado pelas linhas em negrito, e a geração de efluentes aquosos, representada pelas linhas tracejadas.

Como é possível observar, quase todas as etapas do processamento têxtil demandam água, com destaque para as operações de lavagem e beneficiamento de fios e tecidos. Dados referentes ao consumo de água devido ao tingimento estão apresentados na Tabela 9 abaixo, ressaltando a grande necessidade por esse insumo.

Tabela 9: Consumo de água devido ao tingimento na indústria têxtil.

Tingimento de:	Consumo de água (l/kg produzido)	Intervalo de variação (l/kg)
Fios acrílicos e nylon	130	80-170
Fios de acrílicos, nylon e algodão	180	130-350
Malha de algodão	120	80-160
Malha de algodão e poliéster	110	90-170
Tecido plano	110	85-130
Tecido plano de seda e viscose	100	80-150

Fonte: HART, 1994

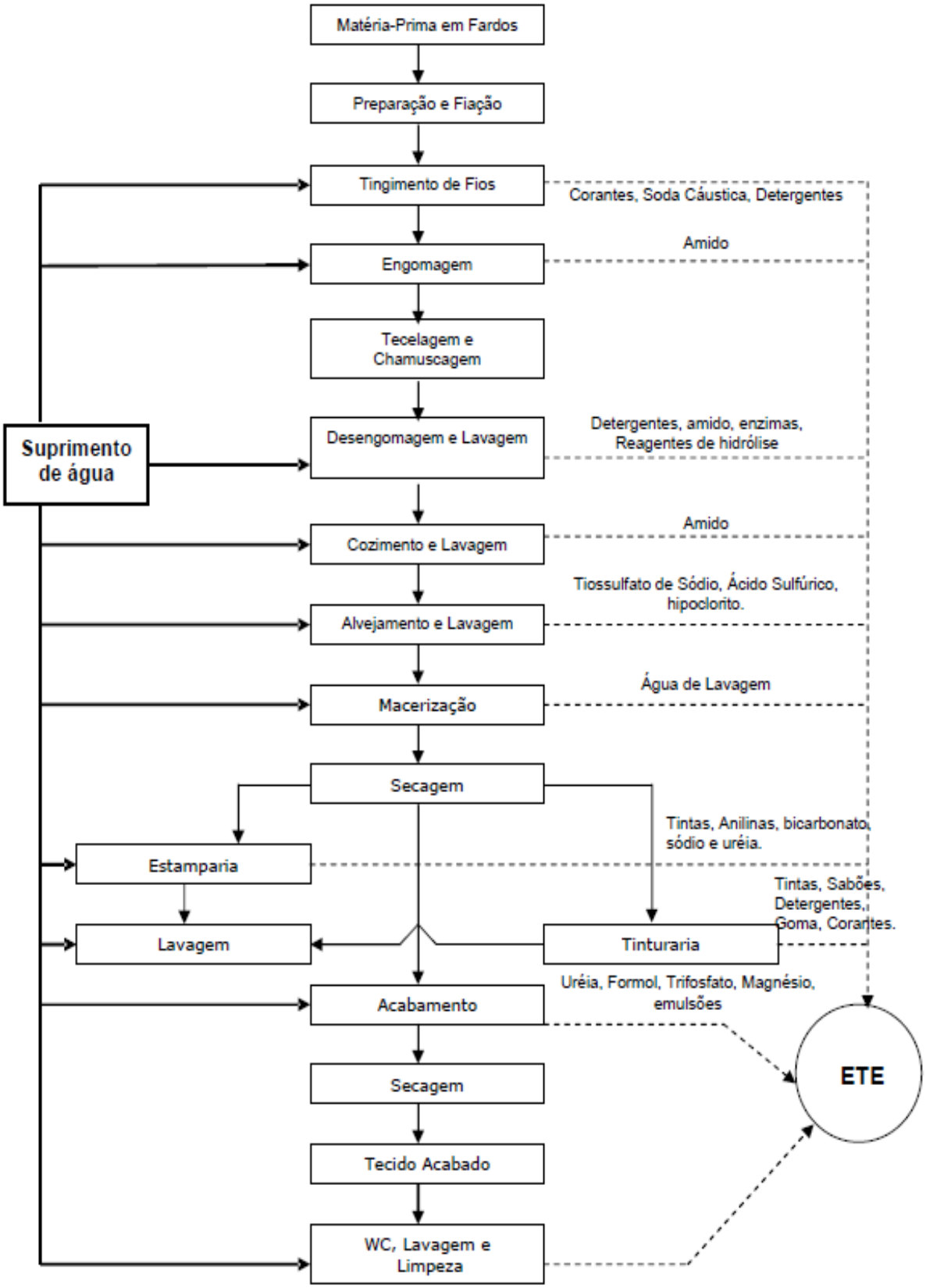


Figura 9: Fluxograma do processo da indústria têxtil de algodão.

Fonte: MACHADO, 2007

A Figura 9 ainda salienta outra característica relacionada às indústrias têxteis, a variedade de produtos químicos largamente utilizados nos seus processos. Na composição do efluente industrial torna-se comum, portanto, encontrar uma série de compostos que acabam não ficando retidos no substrato têxtil, podendo causar danos ao meio ambiente se não forem retidos ou tratados corretamente.

Como consequência, os efluentes gerados apresentem uma enorme carga poluidora (MATHUR *et al.*, 2005) de tal forma que são classificados como o mais poluente entre todos os setores industriais, considerando tanto volume quanto composição (KHELIFI *et al.*, 2008)

Segundo Bitencourt (2002), os efluentes têxteis apresentam características como: cor intensa; concentração de matéria orgânica equivalente a de esgoto doméstico; altas concentrações de organo-halogenados adsorvíveis (AOX), sulfitos enxofre e metais pesados, muitas vezes presentes na estrutura de alguns corantes; altas temperaturas, devido ao emprego de calor em algumas etapas do processamento; e grande quantidade de DQO refratária dada pelo uso de corantes de alta massa molecular.

De modo geral, uma composição média dos efluentes têxteis, segundo alguns autores, pode ser vista na Tabela 10.

Tabela 10: Composição média do efluente têxtil encontrada por alguns autores.

Parâmetros					Referências
DBO_5 (mg/L)	**DQO (mg/L)**	**SST (mg/L)**	**SSV (mg/L)**	**pH**	
200	1000	200	15	7	SOARES, 1998
300	1000	1000	175	8,5	STORTI, 2001
600	950	2500	-	10	FREITAS, 2002
490	870	2450	290	7,9	LEE & PAVLOSTATHES, 2004
310	650	1850	330	-	COGO, 2011
280	710	2000	220	11	SILVA, 2007
430	1200	1350	380	9	ALVIN *et al.*, 2011

NOTA: DBO_5: Demanda Bioquímica de Oxigênio no 5º dia; DQO: Demanda Química de Oxigênio; SST: Sólidos Suspensos Totais; SSV: Sólidos Suspensos Voláteis.

Fonte: Soler, 2013

3.4.1 A Relevância dos Corantes Presentes nos Efluentes Têxteis

Como visto anteriormente, a natureza dos efluentes líquidos têxteis é primariamente oscilante, pois depende da tecnologia e dos processos industriais empregados, além do tipo de fibra e dos produtos químicos utilizados (FIEMG, 2014). Entretanto, os corantes são peças asseguradas na sua composição.

Uma das características mais marcantes do efluente têxtil é a sua cor, que deve ser removida antes da disposição final no corpo coletor, conforme disposto na legislação ambiental vigente. Devido à sua própria natureza, os corantes são altamente detectáveis a olho nu, sendo visíveis em alguns casos mesmo em baixas concentrações (ROBINSON *et al.*, 2001).

Essa coloração é causada pela presença de corantes que não se fixaram às fibras durante o processo de tingimento dos tecidos (BASTIAN & ROCCO, 2009). Embora seja dependente das especificações técnicas locais, a fixação nunca é completa, resultando em altas cargas de corantes nas águas residuais. Na Tabela 11 se encontra uma estimativa do grau de fixação de diferentes corantes e sua perda para o efluente.

Tabela 11: Estimativa do grau de fixação para diferentes corantes nas fibras e sua perda para efluente.

Classe de aplicação dos corantes	Fibra	Grau de fixação (%)	Perda para o efluente (%)
Ácido	Poliamida	89-95	5-11
Básico	Acrílica	95-100	0-5
Direto	Celulose	70-95	5-30
Disperso	Poliéster	90-100	0-10
Reativo	Celulose	50-90	10-50

Fonte: Adaptado de O'NEILL *et al.*, 1999

Quimicamente construídos para serem estáveis à luz, especialmente a UV, e resistentes à ação da água, os corantes sintéticos são de difícil degradação por processos físico-químicos, tornando-se compostos recalcitrantes quando dispostos de forma indevida no meio ambiente (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

Além da poluição visual já citada, podem alterar significativamente a transparência na água residual e impedir a penetração da luz, prejudicando assim alguns ciclos biológicos, principalmente os fotossintéticos (KUNZ *et al.*; 2002). Em adição, apresentam toxicidade para os organismos aquáticos por conterem em sua composição metais, cloretos e compostos aromáticos, sofrendo bioacumulação (ROBINSON *et al.*, 2001).

Por fim, muitos corantes sintéticos possuem também potencial mutagênico e carcinogênico (WESENBERG *et al.*; 2003). As etapas de biotransformação no organismo humano podem gerar compostos, como por exemplo, aminas aromáticas, toluidinas, benzidinas e radicais ativos (ZANONI & CARNEIRO, 2001) que são capazes de interagir com moléculas de DNA.

É importante ressaltar que especialmente os corantes do tipo azo seguem um metabolismo voltado para a formação de aminas aromáticas como principal produto da clivagem dessa ligação (BANAT *et al.*, 1996; CHAGAS & DURRANT, 2001), conforme esquematizado na Figura 10 abaixo.

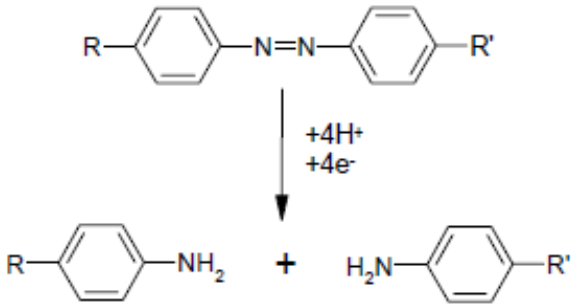


Figura 10: Clivagem da ligação azo e geração de aminas aromáticas.

Fonte: RAMALHO, 2005

3.5 TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS

Os efluentes líquidos gerados pelas indústrias têxteis devem passar por um sistema de tratamento antes do seu lançamento, onde as cargas de contaminantes serão reduzidas a limites aceitáveis pela legislação ambiental de maneira a garantir a qualidade do corpo d'água que o receberá (FIEMG, 2014).

As tecnologias empregadas variam, principalmente, conforme o tipo de atividade desenvolvida no empreendimento. De maneira geral, os tratamentos utilizados podem ser divididos em preliminares, primários, secundários e terciários ou avançados (CAMMAROTA, 2011). A Tabela 12 resume as opções existentes para cada tipo de tratamento.

Tabela 12: Processos convencionais de tratamento de efluente.

Tratamento	Tipo de Processo	Operação Unitária
Preliminar	Físico	Gradeamento
		Equalização
	Químico	Neutralização
Primário	Físico	Clarificação
		Sedimentação
		Flotação
	Químico	Coagulação
		Precipitação
Secundário	Biológico	Lodos Ativados
		Lagoas de Aeração
		Filtros Biológicos
Terciário ou Avançado	Físico	Carvão Ativo
		Ultrafiltração
		Osmose Reversa
	Químico	Oxidação Avançada

Fonte: Adaptado de PERES, 1998

Atualmente, as indústrias têxteis têm adotado como principal forma de tratamento de seu efluente a combinação de processos físico-químicos e de processos biológicos, buscando equilibrar suas vantagens e limitações. No entanto, ainda não foi encontrada uma tecnologia eficaz que permita a eliminação total da coloração presente nas águas residuais, possibilitando sua reutilização em processos de tingimento (QUADROS, 2005). Um exemplo de planta de uma ETE de uma indústria de beneficiamento está apresentado na Figura 11.

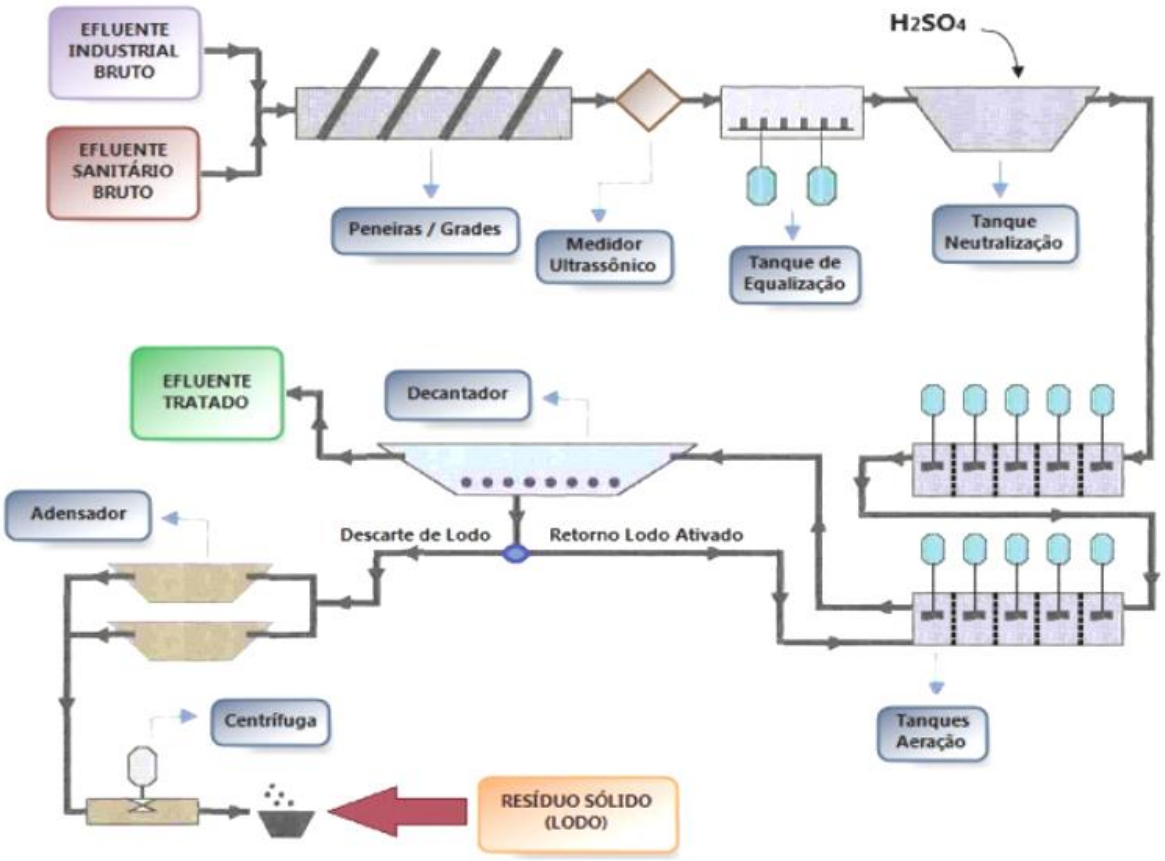


Figura 11: Fluxograma de uma ETE de uma indústria de beneficiamento têxtil.

Fonte: FIEMG, 2014

Como é possível perceber através desse esquema, o efluente industrial bruto passa inicialmente por um sistema de gradeamento com o objetivo de efetuar a remoção de material sólido mais grosseiro como, por exemplo, fiapos e trapos que eventualmente podem se desprender dos tecidos e atrapalhar as etapas posteriores de tratamento, obstruindo tubulações e prejudicando o sistema de bombeamento (FIEMG, 2014).

As grades podem ser de ferro ou de aço, dependendo da ação corrosiva do efluente, com limpeza manual ou mecanizada. Hart (1994) não considera necessária a limpeza mecanizada para a indústria têxtil porque sólidos grosseiros não são abundantes e podem ser retirados manualmente em intervalos de um dia.

Continuando o tratamento preliminar, esse segue para a equalização, onde as variações na vazão e concentração do efluente serão controladas. Essa etapa consiste em um tanque de grande dimensão provido de aeração e agitação para homogeneizar o efluente, evitando odores e deposição de sólidos (CAMMAROTA, 2011). Deve possuir um tempo de retenção variando entre seis horas a um dia e a agitação pode ser feita por agitadores superficiais, submersos ou misturadores do tipo *jet-mixer* (HALLER, 1993).

A implantação de um tanque de equalização se justifica por diversas razões, como a minimização de problemas operacionais causados pela variação das características do efluente e de choques causados por sobrecargas no sistema, diluição de substâncias inibidoras e estabilização de temperatura, melhorando a qualidade final do efluente tratado (CAMMAROTA, 2011).

Como, em geral, os efluentes têxteis apresentam uma elevada alcalinidade oriunda da grande quantidade de alcalinizantes utilizados para a fixação dos corantes, faz-se necessária a correção do pH com adição de ácido sulfúrico (BRAILE & CAVALCANTI, 1993). Isso ocorre nos tanques de neutralização, onde também pode ser feita a adição de coagulantes químicos visando à remoção de sólidos suspensos sedimentáveis.

Uma característica da maioria dos efluentes têxteis é que grande parte de seus poluentes permanecem na forma coloidal, representando de 30 a 40% da DQO total (HALLER, 1993). Os coloides possuem propriedades elétricas que criam uma força de repulsão entre as partículas, impedindo sua aglomeração e sedimentação. Assim, essas permanecem muito pequenas e não sedimentam facilmente, não podendo ser removidas por processos físicos convencionais (CAMMAROTA, 2011).

Define-se coagulação como o processo de desestabilização da micela coloidal por neutralização das cargas superficiais, permitindo que as partículas se unam entre si e se aglomerem formando partículas maiores e mais pesadas que posteriormente serão separadas por sedimentação (CAMMAROTA, 2011).

A escolha do agente coagulante irá depender da natureza das águas a serem tratadas, do custo e da facilidade de aquisição. A sua dosagem bem como o pH adequado para máxima coagulação devem ser determinados em laboratório através do ensaio de *Jar Test*.

Os coagulantes mais comumente empregados são o sulfato de alumínio [$Al_2(SO_4).18H_2O$] e o cloreto férrico [$FeCl_3.6H_2O$]. Esses compostos apresentam íons positivos Al^{+3} e Fe^{+2} que são os responsáveis por neutralizar as cargas da micela coloidal. Os sais de alumínio, por exemplo, têm máxima floculação em pH entre 6,8 a 7,5; já para os sais de ferro o pH ideal varia de 5,5 a 8,8 (LAGUNAS & LIS, 1998).

O efluente é levado, então para os tanques de aeração com o objetivo de remover a matéria orgânica biodegradável, tanto em suspensão quanto dissolvida. Diferentemente das etapas anteriores, nas quais predominam processos físico-químicos, essa compreende processos biológicos, principalmente o sistema de lodo ativado (CAMMAROTA, 2011).

Nesse processo, massas ativas de microrganismos são colocadas em contato com o efluente em um tanque com suprimento de oxigênio fornecido através de aeração mecanizada ou ar difuso. Os microrganismos do lodo estabilizam aerobiamente a matéria orgânica e crescem, sendo posteriormente separados da fase líquida por decantação (CAMMAROTA, 2011).

Entretanto, esse sistema possui como principal desvantagem a geração de lodo, considerada crítica do ponto de vista ambiental. Devido ao percentual de corantes adsorvidos, impede qualquer possibilidade de reaproveitamento do lodo e cria um problema de disposição final (KUNZ *et al.*, 2002). Além disso, o método de tratamento por lodos ativados é eficaz na redução da matéria biodegradável e de sólidos suspensos, mas ineficiente na remoção da cor, principalmente dos corantes reativos (KADAM *et al*., 2011).

Após essas etapas, o efluente têxtil se encontra tratado para fins de descarte no meio ambiente. Caso as indústrias desejem reutilizá-lo no seu processo produtivo, técnicas de tratamentos terciários ou avançados podem ser empregadas para fins de desinfecção, remoção de nutrientes e de compostos recalcitrantes e, principalmente, eliminação de cor (CAMMAROTA, 2011).

3.5.1 Tratamentos Físico-Químicos para Remoção de Corantes

No que diz respeito à remoção da cor do efluente têxtil, destacam-se os processos de adsorção com carvão ativado, de separação por membranas e a oxidação avançada, técnicas essas que têm mostrado elevada eficiência na descoloração (KUNZ *et al*., 2002). No entanto, ainda apresentam algumas desvantagens e limitações de uso.

A adsorção não é uma técnica destrutiva, ou seja, o corante apenas é transferido da fase líquida (efluente) para a sólida (carvão), gerando um resíduo sólido altamente poluente que ainda necessita de tratamento (BAÊTA, 2012). Outra desvantagem desse processo se deve ao fato de que, após a sua utilização, o carvão ativado se torna esgotado, não sendo capaz de adsorver mais corantes. Faz-se necessária uma etapa posterior de regeneração, o que é impraticável em larga escala devido ao grande volume de efluentes em questão, além de acarretar em aumento dos custos do processo e possível perda da capacidade de adsorção do carvão (DINIZ, 2015).

Processos de separação por membrana como osmose inversa, microfiltração, nanofiltração e ultrafiltração têm se tornado muito atrativos devido ao fato de possibilitarem o reuso da água no processo industrial, minimizando o volume de efluente descarregado no meio ambiente (KUNZ *et al.*, 2002; QUADROS, 2005). Porém, também não é um sistema destrutivo, sendo necessário pensar na disposição final do lodo.

Já os processos oxidativos avançados (POAs) têm se mostrado muito eficientes na descoloração de efluentes têxteis. Baseiam-se na geração de radicais livres, substâncias capazes de atacar as duplas ligações do grupo cromóforo associadas à cor devido ao seu alto poder oxidante (HASSEMER & SENS, 2002). Destaque para a ozonização, na qual dosagens razoáveis desse gás permitem uma efetiva e consideravelmente rápida remoção de cor para corantes ácidos, catiônicos, diretos, reativos e de enxofre (KUNZ *et al.*; HASSEMER & SENS, 2002). Contudo, é um método oneroso e produz reações e subprodutos indesejados (QUADROS, 2005) que podem ser mais tóxicos que a molécula original, o que torna necessário o acompanhamento do processo através de testes de toxicidade (KUNZ *et al.*, 2002).

3.5.2 Aplicação de Microrganismos na Remoção de Corantes

Muitos pesquisadores têm apontado a biorremediação como uma técnica promissora para remoção de corantes dos efluentes têxteis, sendo uma alternativa mais segura do ponto de vista ambiental frente aos inconvenientes dos processos físico-químicos abordados anteriormente.

Segundo Rizzo *et al.* (2006), esse procedimento consiste na aplicação de microrganismos com a finalidade de transformar os contaminantes presentes no efluente em substâncias pouco tóxicas ou sem nenhuma toxicidade. Sendo assim, a grande motivação dos estudiosos dessa área é a busca de microrganismos versáteis, capazes de degradar de maneira eficiente um grande número de poluentes a um baixo custo operacional (KUNZ *et al*., 2002).

Nesse contexto, os principais mecanismos envolvidos na remoção de tais compostos são: bioacumulação, biossorção e biodegradação (PEIXOTO, MARINHO & RODRIGUES, 2013). Desses, a biodegradação tem despertado grande interesse por ser um processo destrutivo, podendo levar à completa mineralização da substância poluente.

A bioacumulação e a biossorção são processos que empregam a biomassa microbiana para a acumulação de substâncias orgânicas e inorgânicas (DINIZ, 2015). Enquanto o primeiro consiste na absorção da molécula contaminante nas células microbianas com gasto energético, a biossorção pode ser definida como a ligação do poluente à biomassa através de um processo que não envolve consumo de energia (KAUSHIK & MALIK, 2009). Todavia, esses mecanismos não são destrutivos, necessitando de um tratamento posterior para o lodo gerado.

Já na biodegradação ocorre quebra das ligações químicas da substância poluente em questão através de ação enzimática, convertendo uma molécula complexa em outras mais simples (ALMEIDA, 2013). Entretanto, é preciso se atentar à complexidade metabólica dos microrganismos, que muitas vezes necessitam de indutores para produção de determinada enzima, bem como o impacto desses ao meio ambiente e à saúde humana. A Tabela 13 apresenta alguns trabalhos na área de degradação de corantes e os microrganismos utilizados.

Tabela 13: Microrganismos usados na degradação de corantes, segundo diferentes pesquisadores.

Cepa	Micro-organismo	Corante	% de Degradação
Bactéria	*Enterococcus faecalis YZ 66*	Laranja Reativo 16	77%
	Pseudomonas sp.	Vermelho Reativo BLI	99%
	Bacillus subtilis	Azul Ácido 113	90%
	Enterobacter sp.	Vermelho Reativo 195	90%
	Kocuria rosea	Verde Malaquita	100%
	Shewanella sp. NTOU1	Violeta Cristal	100%
	Bacillus Fusiformis kmk 5	Laranja Ácido 10 & Azul Disperso 79	100%
Fungo Filamentoso	*Paecilomyces variotii*	Porcion Red M8B	82%
	Paecilomyces sp.	Índigo	99%
	Phanaerochaete chrysosporium	Laranja II	85%
Alga	*Spirogyra rhizopus*	Vermelho Ácido 247	99%
	Cosmarium sp	Verde Malaquita	90%
Actinomiceto	*Streptomyces ipomoea*	Laranja II	90%
Levedura	*Kluyveromyces marxianus* IMB3	Preto Remazol B	98%
	Saccharomyces cerevisiae MTCC463	Verde Malaquita	95%

Fonte: Traduzido e adaptado de SUDHA *et al*., 2014

As pesquisas têm mostrado que os fungos filamentosos apresentam um grande potencial biotecnológico devido às suas características metabólicas, sendo capazes de degradar diversos compostos químicos recalcitrantes, como metais pesados, pesticidas e corantes (CAMERON *et al.*, 2000; MIQUELANTE, 2011), conforme será abordado nos próximos tópicos.

3.5.2.1 Biodegradação de Corantes por Fungos Filamentosos

Principais representantes do Reino Fungi, os fungos filamentosos são organismos eucarióticos, quimioheterotróficos e aeróbios estritos, que apresentam crescimento apical e estruturas reprodutivas diferenciadas das vegetativas. A reprodução dos fungos se dá por meio de esporos (com algumas exceções) que são dispersos majoritariamente pelo vento e, por isso, esses microrganismos podem ser encontrados em diversos habitats como solos, águas e até em outros animais e vegetais, atuando como patógenos e em relações de simbiose (SILVA & COELHO, 2006).

Também são apontados como importantes agentes decompositores de matéria orgânica morta na natureza por possuírem digestão extracorpórea, ou seja, suas enzimas digestivas são excretadas no ambiente e os nutrientes são posteriormente absorvidos. Desempenham, portanto, um papel fundamental no ciclo da vida (SILVA & COELHO, 2006).

Considerados como vegetais por um longo tempo, somente a partir de 1969 que passaram a ser classificados em um reino à parte. Dentre as características que permitem sua diferenciação das plantas, podem ser citadas: não sintetização de clorofila e de qualquer pigmento fotossintético, ausência de celulose na parede celular e não armazenamento de amido como substância de reserva. Pelo contrário, a maior parte das espécies fúngicas apresenta quitina como principal constituinte da parede e o material de reserva celular é o glicogênio (TRABULSI & ALTERTHUM, 2004).

Morfologicamente, suas colônias apresentam aspecto aveludado devido ao entrelaçamento das hifas, que são os elementos multicelulares segmentados ou não em formato tubular. O conjunto dessas estruturas forma o micélio, que se diferencia em vegetativo, responsável pela sustentação e absorção de nutrientes, e reprodutivo ou aéreo, que se projeta além da superfície para sustentar os corpos de frutificação e propagar os esporos (SILVA & COELHO, 2006).

As características macroscópicas da colônia somada à análise dos micélios, das estruturas reprodutoras e dos esporos são fatores muito utilizados na identificação e classificação taxonômica dos fungos filamentosos. A mais recente considera os seguintes filos: Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Neocallimastigomycota, Microsporidia, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota. (HIBBETT *et al.*; 2007).

Os fungos pertencentes ao filo Basidiomycota vêm sendo muito estudados quanto à sua utilização em processos biotecnológicos. São os principais responsáveis pelo apodrecimento da madeira, pois possuem um aparato enzimático capaz de modificar e degradar a lignina, uma macromolécula aromática altamente resistente à ação química e biológica (WESENBERG *et al.*, 2003).

Foi a partir do entendimento do mecanismo básico de degradação da lignina que se propôs a utilização destes fungos na degradação de poluentes ambientais como, por exemplo, na biorremediação de solos contaminados e no tratamento de efluentes da indústria papeleira e têxtil (BONONI, 1999). Segundo Niebisch (2009), a baixa especificidade dessas enzimas as torna capazes de degradar um amplo espectro de poluentes recalcitrantes que apresentam similaridades estruturais com a lignina, dentre eles os corantes têxteis, conforme Figura 12.

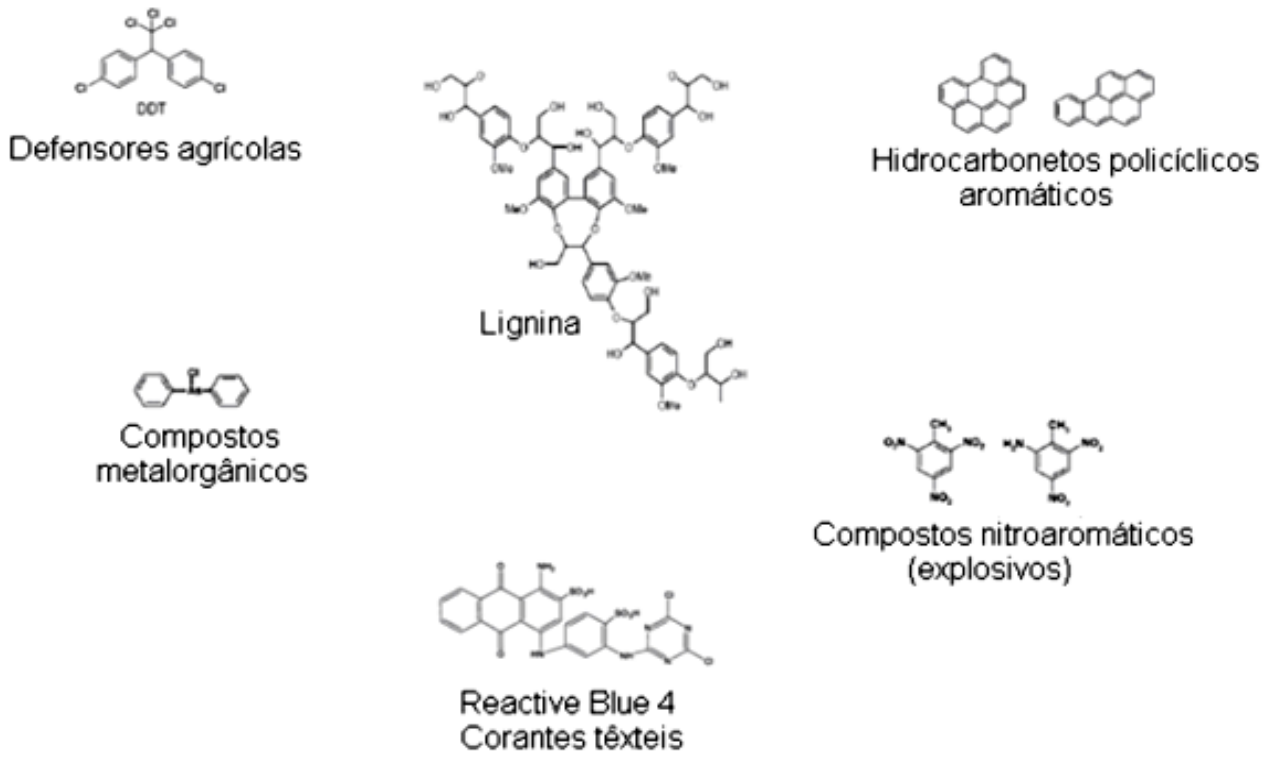


Figura 12: Comparação entre as estruturas de um segmento da molécula de lignina e alguns poluentes.

Fonte: NIEBISCH, 2009

Em função da podridão causada na madeira, os fungos podem ser classificados em: fungos de podridão branca, de podridão parda e de podridão mole, conforme mostrado na Tabela 14 abaixo.

Tabela 14: Classificação dos fungos segundo a podridão da madeira.

Grupo	Filo	Degradação da lignina	Ambiente	Alguns gêneros
Fungos de podridão branca	Basidiomicetos	Mineralização da lignina, deslignificação seletiva ou não seletiva.	Principalmente madeiras folhosas	*Phanerochaete, Phlebia, Trametes*
Fungos de podridão parda	Basidiomicetos	Modificação da lignina.	Principalmente coníferas	*Poria, Polyporus*
Fungos de podridão mole	Ascomicetos	Degradação limitada de lignina	Ambientes aquáticos, madeira com umidade elevada, serapilheira	*Chaetomium, Paecilomyces, Fusarium*

Fonte: Adaptado de Tuomela *et al.*, 2000

A espécie *Phanerochaete chrysosporium*, por exemplo, é considerada como um modelo no estudo de degradação de compostos fenólicos. Dentre os compostos químicos citados na literatura, podemos destacar os polímeros sintéticos (poliacrilato, poliacrilamida e nylon), compostos aromáticos clorados (2,4-diclorofenol, pentaclorofenol, 2,4,6-ácido triclorobenzóico, 2,4,5-triclorofenol e 2,4,5-ácido triclorofenoxiacético), munições e explosivos (nitroglicerina e trinitrotolueno), pesticidas (dicloro-difenil-tricloroetano – DDT), compostos aromáticos policíclicos (antraceno, naftaleno, pireno e benzopireno), além de aminotriazol, azida, tetracloreto de carbono e cianidas (CAMERON *et al.*, 2000).

Pertencente ao grupo dos fungos de podridão branca, as linhagens dessa espécie produzem enzimas extracelulares não específicas capazes de mineralizar a lignina, pelo menos parcialmente, e em alguns casos, completamente, além de uma variedade de poluentes resistentes à degradação. Por esse motivo, a espécie *P. chrysosporium* tem sido muito estudada para utilização no tratamento de efluentes têxteis (KUNZ *et al*., 2002).

Os primeiros estudos relatando a descoloração de corantes por fungos foram publicados no início da década de 80. Os pesquisadores Glenn & Gold (1983) utilizaram corantes poliméricos ao invés de ligninas radiomarcadas, buscando compostos mais simples, baratos e disponíveis comercialmente. Os ensaios revelaram que a descoloração era consequência do metabolismo secundário do *P. chrysosporium*, ocorrendo paralelamente à degradação da lignina, sendo também reprimida por altos níveis de nitrogênio, fortemente dependente da concentração de oxigênio e inibida por inibidores conhecidos da degradação da lignina.

Depois disso, vários trabalhos sobre a descoloração de corantes foram publicados. Spadaro *et al.* (1992) demonstraram que *P. chrysosporium* foi capaz de mineralizar alguns azocorantes, sendo a capacidade de descoloração diretamente relacionada com a natureza dos grupos substituintes dos anéis aromáticos. Um pouco mais tarde, Kirby *et al.* (1995) observaram a descoloração total de uma amostra de efluente simulada em laboratório após sete dias de tratamento.

Nesse mesmo contexto, Banat *et al*. (1996) testaram a degradação de dezoito azocorantes em diferentes concentrações, sendo que o fungo *P. chrysosporium* foi capaz de descolorir oito desses corantes, com uma remoção de cor entre 40% e 70%. Já Couto *et al.* (2000) observaram uma excelente eficiência no tratamento de uma amostra contendo o corante poli-R-478, alcançando descolorações superiores a 95% após o tratamento com o mesmo fungo. Adosinda *et al.* (2001) também mencionaram a remoção de alguns azocorantes utilizando *P. chrysosporium*, sendo que os melhores resultados de remoção dos corantes 4-aminobenzenossulfónico, 3-aminobenzóico, 3-aminobenzóico e 3-aminobenzenossulfónico, foram de 89%, 88%, 88% e 83%, respectivamente.

Recentemente, outros gêneros também têm sido avaliados, incluindo *Bjerkandera*, *Pleurotus*, *Coriolus*, *Polyporus*, *Phelebi*, *Trametes* e *Lentinula*. A Tabela 15 apresenta alguns exemplos de fungos capazes de descolorir corantes sintéticos, bem como os percentuais de descoloração apresentadas.

Tabela 15: Relação de alguns fungos da podridão branca capazes de descolorir corantes sintéticos.

Fungo	Corantes	Taxa de descoloração (%)	Tempo (dias)
Phellinus gilrus	Cl Vat Blue I	100	4
Pleurotus sojar-caju		94	
Phanerochaete crysosporum	Sp-g (diazo)	89	28
	Cm-s (diazo)	88	
Phlebia floridensis	Brilhant Green	100	
	Cristal violeta	95,2	
	Vermelho cresol	81,4	5
	Vermelho congo	98	
	Orange II	100	
	Poly-B	93	9
	Poly-R	80	5
	RBBR	93	9

Fonte: CARVALHO, 2005

3.5.2.2 Enzimas Envolvidas no Processo de Biodegradação

As enzimas são proteínas indispensáveis para o funcionamento do metabolismo de todos os organismos vivos por atuarem como catalisadores de diversas reações químicas. O seu poder catalítico está diretamente relacionado à sua conformação estrutural nativa, que pode ser alterada por fatores como temperatura e pH.

São classificadas em seis grandes grupos segundo as reações que catalisam, a saber: oxidorredutases, que atuam nas reações de oxirredução; transferases, que realizam a transferência de grupos funcionais entre duas moléculas; hidrolases, que catalisam reações de hidrólise de ligações covalentes; liases, que clivam ligações covalentes; isomerases, responsáveis por mediar a conversão de substâncias isoméricas; e ligases, que catalisam reações de síntese de uma nova molécula a partir da ligação entre outras duas (ORLANDELLI *et al.*, 2012).

A degradação de moléculas complexas por fungos filamentosos se dá, basicamente, através de dois caminhos metabólicos: um intracelular e outro extracelular. Ambos podem ser visualizados na Figura 13, a qual também representa um modelo geral de degradação de compostos aromáticos.

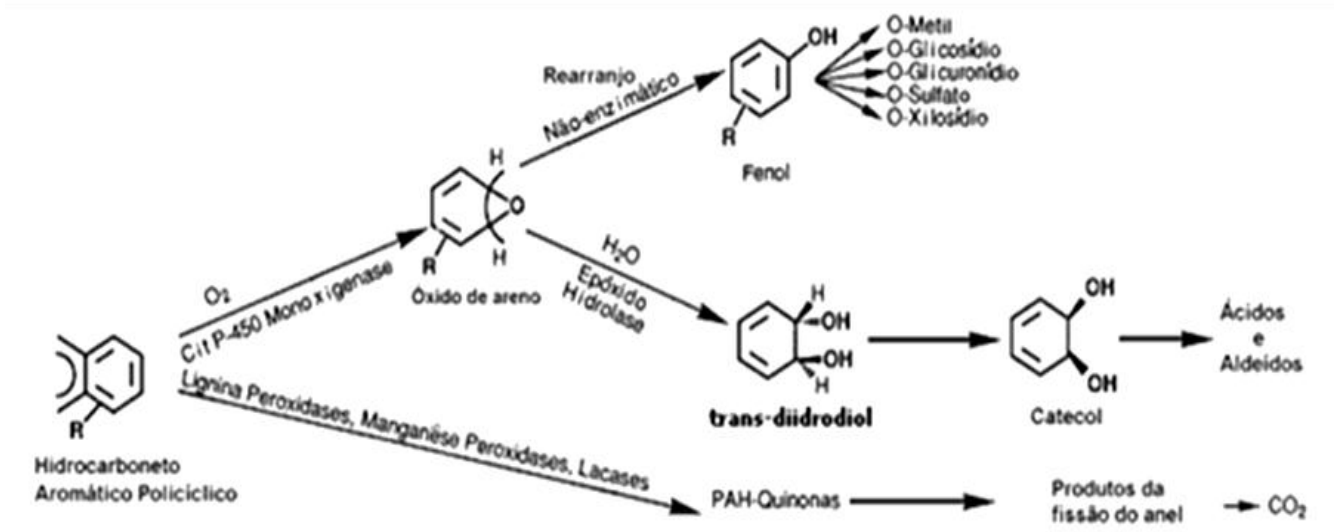


Figura 13: Caminhos metabólicos utilizados por fungos na degradação de compostos aromáticos.

Fonte: Adaptado e traduzido de Atlas & Cerniglia, 1995

A primeira rota envolve a participação de enzimas intracelulares, em especial as do sistema citocromo P-450 monoxigenase e epóxido hidrolase. Pertencentes a uma superfamília de heme proteínas, estão localizadas no retículo endoplasmático e atuam na detoxificação de compostos xenobióticos que atingem o interior da célula, defendendo o organismo contra o estresse toxicológico (EERD *et al*., 2003).

Primeiramente, ocorre uma reação de monooxigenação pela incorporação de um átomo de oxigênio ao substrato aromático, formando-se um óxido de areno. Esse pode sofrer isomerização, que originará uma molécula de fenol, ou então ser hidroxilado por meio da enzima epóxido hidrolase, gerando trans-diidrodiol como intermediário, que posteriormente será convertido em catecol. O fungo *P. chrysosporium*, por exemplo, promove reações de hidroxilação no composto tolueno mediadas pelo citocromo P-450 (TERAMOTO *et al*., 2004).

Já a segunda rota se dá pela ação das enzimas ligninolíticas que oxidam os compostos aromáticos para formar quinonas, gerando dióxido de carbono como produto da quebra do anel. As principais enzimas extracelulares envolvidas nesse processo são: lignina peroxidase (LiP), manganês peroxidase (MnP) e lacase (Lac) (ESPÓSITO & AZEVEDO, 2010). A Tabela 16 relaciona as principais reações catalisadas por cada enzima.

Tabela 16: Reações catalisadas pelas enzimas extracelulares envolvidas no processo de degradação de corantes.

Enzima	Reação Catalisada
Lignina Peroxidase	Oxidação de álcoois benzílicos Abertura de anéis aromáticos Clivagens de ligações C-C Clivanges de Ligações C-O Polimerização de fenóis
Manganês Peroxidase	Clivagens de ligações C-C Clivages de Ligações C-O Oxidação de fenóis
Lacase	Clivagens de ligações C-C Clivages de Ligações C-O Oxidação de fenóis

Fonte: Adaptado de SOARES, 1998

Alguns fungos são capazes de produzir as três enzimas, enquanto outros manifestam apenas uma ou duas delas. Fato é que a produção dessas enzimas é dada durante o metabolismo secundário, sendo a síntese usualmente induzida por condições nutricionais limitadas (principalmente C ou N) e estimulada por agitação (WESENBERG *et al*., 2003).

A lignina peroxidase é uma glicoproteína hémica contendo ferro como grupo prostético que catalisa uma variedade de compostos fenólicos, não fenólicos, hidratos de carbono aromáticos e outros compostos que são resistentes ao ataque microbiano. Durante o ciclo catalítico, o ferro contido no grupo heme da LiP passa por diferentes estados de oxirredução, sendo essencial para sua atividade. Além disso, essa enzima requer peróxido de hidrogênio como cofator pelo fato dessa substância funcionar como aceptor final de elétrons (ESPÓSITO & AZEVEDO, 2010).

A enzima manganês peroxidase assemelha-se à lignina peroxidase pelo fato de também ser uma glicoproteína hémica e de depender de peróxido de hidrogênio para sua atividade. No entanto, são os íons de manganês livres que atuam como doadores de elétrons, fundamentais para sua atividade catalítica (ESPÓSITO & AZEVEDO, 2010).

A lacase, por sua vez, é uma fenol-oxidase pertencente à superfamília das multicobre oxidases, sendo, portanto, uma metaloproteína. Esta enzima tem a capacidade de catalisar reações de desmetilação, com subsequente decomposição de macromoléculas de lignina pelo rompimento de anéis aromáticos em estruturas fenólicas (ESPÓSITO & AZEVEDO, 2010) e estão recebendo grande atenção em várias aplicações industriais, como a deslignificação, clareamento de corantes e remediação de solos e águas contaminados (MOREIRA, 2006).

Um resumo comparativo das principais características dessas enzimas está descrito na Tabela 17.

Tabela 17: Comparação das propriedades entre as enzimas manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase.

Enzima	Manganês peroxidase	Lignina peroxidase	Lacase
Classificação	1.11.1.13	1.11.1.14	1.10.3.2
Grupo Prostético	Heme	Heme	1 tipo 1-Cu, 1 tipo 2-Cu, 2 pares tipo 3-Cu
Massa Molar (kDa)	32-62,5	38-47	59-110 (tetrâmeros)
Isoformas	Monômeros	Monômeros	Mono-, di-, tetrâmeros
Ponto Isoelétrico	2,8-7,2	3,2-4,7	2,6-4,5
Faixa Ótima de pH	2,6-4,5	2,0-5,0	2,0-8,5
Quebra de Ligações C-C	Sim	Sim	---------
Estabilidade	+++	+	+++
Mediadores Nativos	Mn^{+2}e Mn^{+3}	Álcool veratril, 2Cl-1,4DMB	3-HAA
Especificidade	Mn^{+2}	Anéis aromáticos incluindo não fenólicos	Anéis aromáticos fenólicos
Mediadores Secundários e Sintéticos	Tióis e ácidos graxos insaturados	---------	ABTS, HBT

NOTA: 2Cl-1.4DMB: 2-cloro-1,4-dimetoxibenzeno; 3-HAA: ácido 3-hidroxiantranílico; ABTS: 2,2'-azinobis (3- etilbezotiazolina-6-sulfonato) ; HBT: 1-hidrozibenzotriazol.

Fonte: WESENBERG *et al.*, 2003

3.6 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL

Os corpos hídricos recebem frequentemente o lançamento de efluentes domésticos e industriais provenientes das aglomerações humanas de regiões vizinhas, além de diversos outros poluentes de fontes difusas. Quando não tratados adequadamente, podem ocasionar sérios impactos ao meio ambiente e à saúde pública (IBAMA, 2008).

Os efluentes industriais apresentam uma variada composição química, resultado das diferentes substâncias orgânicas e inorgânicas que não são aproveitadas durante a produção. Além disso, também depende dos processos técnicos aplicados, das matérias-primas utilizadas e, muitas vezes, da estação do ano (IBAMA, 2008).

Os rejeitos das indústrias têxteis, por exemplo, apresentam altas concentrações de álcalis, carboidratos, proteínas, além de corantes e, eventualmente, metais pesados. Em grandes concentrações, possuem ação tóxica sobre os microrganismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, reduzindo a capacidade autodepurativa dos corpos aquáticos (ANDRADE, 1998).

As consequências toxicológicas causadas por esses lançamentos são, geralmente, de difícil análise. Não se trata apenas de uma ação direta das substâncias sobre os organismos aquáticos que habitam a água, mas também de uma ação indireta que afeta a ação de outros fatores ecologicamente importantes ao se modificarem as condições químicas do corpo receptor (IBAMA, 2008).

Sendo assim, é imprescindível que se estabeleçam políticas visando à regulamentação dos padrões e parâmetros de qualidade para que se tenha uma eficiente gestão dos efluentes industriais. No Brasil, as leis ambientais são estabelecidas em primeira estância pela União e, na sequência, pelos Estados e municípios, que buscam o aperfeiçoamento dessas de acordo com as características e necessidades de cada região (VALLE, 2000).

No momento, a legislação federal vigente é a Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, além de complementar e alterar a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, da mesma entidade.

No Estado do Rio de Janeiro, mais especificamente, tem-se a Norma Técnica NT-202.R-10 do Instituto Estadual do Ambiente (INEA) que estabelece os critérios e padrões para lançamento de efluentes líquidos.

A Tabela18 mostra uma comparação entre os padrões para lançamento de efluentes líquidos dispostos em ambas as legislações, destacando as concentrações máximas permitidas para diversas substâncias.

Tabela 18: Comparativo entre os padrões para lançamento de efluentes líquidos.

Parâmetros	**Unidade**	**Resolução CONAMA nº 430/11**	**INEA NT-202.R-10**
pH	-	Entre 5 e 9	Entre 5 e 9
Temperatura	°C	Inferior a 40	Inferior a 40
Materiais Sedimentáveis	ml/L	1,0	1,0
Óleos Minerais	mg/L	Até 20,0	Até 20,0
Óleos Vegetais e Gorduras Animais	mg/L	Até 50,0	Até 30,0
Materiais Flutuantes	-	Ausência	Ausência
Alumínio Total	mg/L	-	3,0
Arsênio Total	mg/L	0,5	0,1
Bário Total	mg/L	5,0	5,0
Boro Total	mg/L	5,0	5,0
Cádmio Total	mg/L	0,2	0,1
Chumbo Total	mg/L	0,5	0,5
Cianeto Total	mg/L	1,0	-
Cianeto Livre	mg/L	0,2	0,2
Cobalto Total	mg/L	-	1,0
Cobre Dissolvido	mg/L	1,0	0,5
Cromo Hexavalente	mg/L	0,1	-
Cromo Trivalente	mg/L	1,0	-
Cromo Total	mg/L	-	0,5
Estanho Total	mg/L	4,0	4,0
Ferro Dissolvido	mg/L	15,0	15,0
Fluoreto Total	mg/L	10,0	10,0

Continuação da Tabela 18

Parâmetros	Unidade	Resolução CONAMA nº 430/11	INEA NT-202.R-10
Manganês Dissolvido	mg/L	1,0	1,0
Mercúrio Total	mg/L	0,01	0,01
Níquel Total	mg/L	2,0	1,0
Nitrogênio Amoniacal Total	mg/L	20,0	-
Prata Total	mg/L	0,1	0,1
Selênio Total	mg/L	0,3	0,05
Sulfeto	mg/L	1,0	1,0
Sulfito	mg/L	-	1,0
Vanádio Total	mg/L	-	4,0
Zinco Total	mg/L	5,0	1,0
Amônia	mg/L	-	5,0
Benzeno	mg/L	1,2	-
Cloro Ativo	mg/L	-	5,0
Clorofórmio	mg/L	1,0	0,1
Dicloroetano	mg/L	1,0	0,1
Estireno	mg/L	0,07	-
Etilbenzeno	mg/L	0,84	-
Fenóis Totais	mg/L	0,5	0,2
Tetracloreto de Carbono	mg/L	1,0	-
Tricloetano	mg/L	1,0	0,1
Tolueno	mg/L	1,2	-
Xileno	mg/L	1,6	-

Fonte: Autor, 2017

É importante ressaltar que, além de obedecerem aos padrões gerais, os efluentes não deverão conferir ao corpo receptor características em desacordo com os critérios e padrões de qualidade de água adequados aos diversos usos benéficos previstos para o corpo d'água. Isso inclui uma restrição de cor para os lançamentos dos efluentes, nos quais os corantes provenientes de fonte antrópica devem estar virtualmente ausentes, isto é, imperceptíveis por visão (CONAMA, 2011).

Como esse é um parâmetro qualitativo, muitas vezes as indústrias utilizam-se da diluição como uma tentativa de redução da coloração. Porém, fica vedada a mistura de efluentes com águas de melhor qualidade, tais como as águas de abastecimento, do mar e de sistemas abertos de refrigeração sem recirculação, para fins de diluição antes do seu lançamento.

Outra condição que também pode ser aplicada aos efluentes têxteis é a questão da toxicidade. Segundo a Resolução CONAMA nº 430, o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Assim, a adequação os efluentes às normas vigentes de legislação ambiental constitui um desafio às empresas do setor industrial têxtil, visto a sua complexa composição e o atual cenário de tecnologias para tratamento (INEA, 2007).

3.7 TESTES DE TOXICIDADE

Muitas vezes, as técnicas tradicionais empregadas para o tratamento de efluentes industriais não levam à total eliminação dos compostos tóxicos presentes em suas águas ou, até mesmo, geram intermediários mais tóxicos do que os componentes inicialmente existentes (CHIRON *et al.*, 2000).

Em geral, a qualidade hídrica dos efluentes aquosos pode ser controlada de duas formas complementares: uma é a análise físico-química e a outra, biológica. Enquanto a primeira identifica e quantifica os principais parâmetros relacionados às características físicas e químicas do referido efluente, a segunda qualifica os efeitos causados pelas diferentes substâncias presentes no sistema em estudo sobre os seres vivos através de testes de toxicidade (KNIE & LOPES, 2004).

Segundo Laitano & Matias (2006), estes testes constituem-se basicamente na exposição de organismos-testes a diferentes condições de toxicidade, as quais tentam simular o ambiente natural, visando à detecção de seus efeitos letais e/ou sub-letais. Ou seja, as respostas destes organismos são utilizadas para avaliar os efeitos adversos ou não de uma ou mais substâncias químicas sobre os sistemas biológicos.

A toxicidade depende da concentração e das propriedades da substância química a qual o organismo é exposto (PUERARI, 2014), assim como do período de exposição. A sua determinação em diferentes fases dos tratamentos de resíduos aquosos é uma das formas de monitorar a eficiência desses processos (FERNÁNDEZ-ALBA *et al.*, 2002), sendo um parâmetro crucial para validação da viabilidade de uma nova técnica de tratamento.

De acordo com Tothill & Turnes (1996), os organismos normalmente utilizados nos testes de toxicidade incluem grupos representativos dos ecossistemas marinhos, fluviais e terrestres, como microrganismos, plantas, invertebrados e peixes. Dentre esses, as sementes de plantas tem se mostrado excelentes indicadores para a avaliação e monitoramento da toxicidade de poluentes presentes em águas e sedimentos contaminados.

As vantagens dos biotestes com plantas residem na grande variedade de parâmetros possíveis de serem analisados, como a taxa de germinação de sementes, o ganho de biomassa, o alongamento de raízes e o crescimento vegetal (RIBEIRO, 2013).

Além disso, desde que sejam mantidas em ambientes secos, elas permanecem dormentes e podem ser estocadas por longos períodos sem perder a viabilidade. Quando hidratadas, entram em processo de germinação, onde sofrem rápidas mudanças fisiológicas e tornam-se altamente sensíveis ao estresse ambiental (SOUZA *et al.*, 2005).

A semente de *Lactuca sativa* está entre os organismos-teste mais utilizados para avaliar a toxicidade de distintos sistemas, como mostrado na Tabela 19, sendo recomendada por agências internacionais como o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), a Organização Mundial da Saúde (WHO) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) por ser uma semente fácil de ser encontrada e com rápido crescimento.

Tabela 19: Aplicações das sementes de *Lactuca sativa* em testes de fitotoxicidade.

Aplicação do bioensaio com *Lactuca sativa*	Referências
Análise da toxicidade de solo/ água com metais	MONTEIRO *et al.*, 2009; MARTÍ *et al.*, 2007; FJÄLLBORG *et al.*, 2006; INABA e TAKENAKA, 2004; CHANG *et al.*, 1997
Análise da toxicidade de cianotoxinas com surfactantes	WANG *et al.*, 2011
Análise da toxicidade e atividade de extratos naturais	CHAPLA e CAMPOS, 2010
Análise da toxicidade de resíduos da indústria de corantes	PALÁCIO *et al.*, 2009
Análise da toxicidade e estabilidade de diversos tipos de resíduos sólidos	KOMILIS e TZIOUVARAS, 2009
Análise da toxicidade de nanopartículas de metal	SHAH e BELOZEROVA, 2008
Análise da toxicidade de resíduos da indústria de corantes de resíduo de efluentes	GINOS *et al.*, 2006
Análise da toxicidade de solo contaminado por petróleo	BANKS e SCHULTZ, 2005
Análise da toxicidade de solo contaminado com formicida	TIEPO *et al.*, 2010
Análise da toxicidade do processo oxidativo avançado (POA) de águas contaminadas por toxinas	FREITAS, 2008

Fonte: CUNHA, 2011

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos deste trabalho foram realizados no Laboratório de Ecologia e Processos Microbianos (LEPM), localizado no Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sendo as análises espectrofotométricas realizadas no Laboratório de Engenharia de Sistemas Biológicos (BIOSE), situado no mesmo local.

Todos os procedimentos de inoculação e retirada de amostras foram realizados em ambiente estéril dado pela Câmara de Fluxo Laminar. Assim como, toda vidraria e meio de cultivo foram esterilizados em autoclave a 1atm por 15 minutos.

4.1 MICRORGANISMO

A estirpe fúngica de *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 (ATCC 34541) utilizada nesse trabalho foi proveniente da *American Type Culture Collection*.

A linhagem foi ativada em placas de Petri contendo meio Batata Dextrose Ágar (BDA) preparado a partir da água de fervura de 200,0g/L de batata, com posterior adição de 5,0g/L de glicose e 18,0g/L de ágar.

A cultura foi incubada a 28°C por 10 dias, quando foi verificado crescimento satisfatório do fungo caracterizado visualmente por abundante presença de micélio aéreo, conforme visualizado na Figura 14

Figura 14: Ativação da cultura de *P. chrysosporium.*

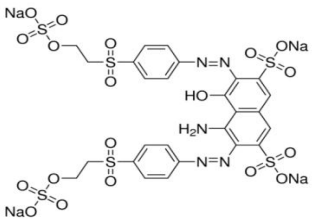
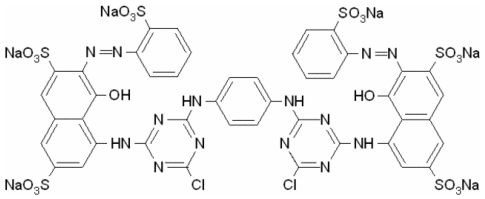
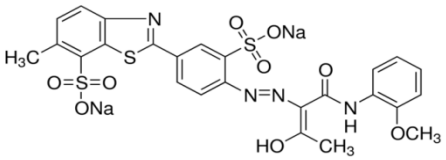
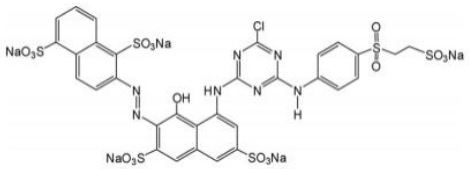
Fonte: Autor, 2017

4.2 CORANTES TÊXTEIS

Foram testados nesse trabalho seis diferentes corantes têxteis, a saber: *Reactive Black 5*, *Reactive Red 120*, *Direct Yellow 27*, Vermelho Remazol BS, Preto Biomax RB e Oliva T Coll. Os três primeiros, produzidos pela *Sigma-Aldrich Chemical Company Inc*.®, foram obtidos comercialmente, enquanto que os outros foram gentilmente cedidos pelo Centro de Tecnologia da Indústria Química e Têxtil do SENAI (SENAI Cetiqt). A Tabela 20 mostra as estruturas químicas de tais corantes.

O espectro de absorção de cada corante foi obtido por varredura utilizando soluções padrões a diferentes concentrações (200ppm, 100ppm, 75ppm, 50ppm e 25ppm) para que fosse possível determinar o comprimento de onda onde ocorre máxima absorção (λmáx).

Tabela 20: Estrutura e classificação dos corantes têxteis utilizados.

Corantes	Estrutura Química	Classificação
Reactive Black 5		Azo e reativo
Reactive Red 120		Azo e reativo
Direct Yellow 27		Azo e direto
Vermelho Remazol BS		Azo e reativo
Preto Biomax RB	Não disponível	Não disponível
Oliva T Coll	Não disponível	Não disponível

Fonte: Autor, 2017

4.3 TESTES DE DESCOLORAÇÃO EM SISTEMA SUBMERSO

Para os testes de descoloração de corante em sistema submerso, foram utilizados Erlenmeyers de 500mL contendo 120mL de Caldo Batata Dextrose suplementado com o respectivo corante têxtil em diferentes concentrações: 50 e 100ppm. Este meio foi preparado a partir da água de fervura de 200,0g/L de batata com adição de 5,0g/L de glucose e 1,0ml/L de solução de elementos traços (2,0g/L de $CuSO_4$; 1,4g/L de $ZnSO_4$; 5,0g/L de $FeSO_4$ e 1,6 g/L de $MnSO_4$).

Os Erlenmeyers foram inoculados com dois *slots* de, aproximadamente, 0,5cm de comprimento de crescimento fúngico após 10 dias de cultivo e incubados na ausência de luz em um agitador orbital (*shaker*) a 28°C com velocidade de agitação de 180rpm durante 10 dias. Os ensaios foram conduzidos em triplicata e como controle negativo foi utilizado um Erlenmeyer de 500mL contendo 120mL de meio de cultura sem inóculo.

Alíquotas de 3mL foram retiradas em intervalos de tempo específicos (3, 5, 7 e 10 dias) e centrifugadas a 8.000rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante utilizado para determinação do nível de descoloração do meio.

4.4 DETERMINAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE

A percentagem de descoloração foi determinada através da diminuição do pico de absorbância no comprimento de onda máximo para cada corante (OLIVEIRA *et al.*, 2010). As análises foram feitas em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, sendo as absorbâncias obtidas por varredura nos comprimentos de onda entre 200 a 700nm através do programa UVProbe. A descoloração foi calculada conforme equação abaixo:

$$\%\, descoloração = 1 - \left(\frac{valor\ de\ absorbância\ da\ amostra}{valor\ de\ absorbância\ do\ controle}\right) \times 100$$

A descoloração foi considerada alta para valores superiores a 80%, média para valores entre 50% e 80%, e baixa quando inferior a 50%.

4.5 QUANTIFICAÇÃO DO CRESCIMENTO FÚNGICO

Ao final do tempo de fermentação submersa, todo o conteúdo dos Erlenmeyers foi filtrado a vácuo utilizando cadinhos com placa porosa de vidro sinterizado. O material que ficou retido foi utilizado para determinar o crescimento de biomassa fúngica, assim como o meio líquido filtrado foi guardado para posterior teste de toxicidade.

Os cadinhos foram previamente secos em estufa a 100ºC durante 24h para a remoção de qualquer umidade presente e foram preservados em dessecador para evitar acúmulo de umidade até o momento da filtragem. Após a filtragem, os cadinhos contendo a biomassa foram secos em estufa a 60°C por 48h, sendo novamente pesado após esse período. Logo, o peso da biomassa seca (X) pode ser obtido conforme a equação abaixo:

$$Peso\ da\ biomassa\ seca\ (g) = \ peso\ depois\ da\ fitragem - peso\ do\ cadinho$$

A massa inicial inoculada (Xo) também foi determinada em triplicata. Para isso, uma solução de 120mL de água destilada contendo dois *slots* de crescimento fúngico foi filtrada a vácuo e os cadinhos colocados em estufa para secagem a 60°C por 48h. O peso do inóculo foi calculado de acordo com a equação a seguir:

$$\text{Peso do inóculo (g)} = \ \text{peso do cadinho com slots} - \text{peso do cadinho}$$

Assim, a concentração de biomassa em cada Erlenmeyer pode ser calculada segundo a seguinte equação:

$$Concentração\ de\ biomassa\ (\frac{g}{L}) = \frac{peso\ da\ biomassa\ seca - peso\ do\ inóculo}{0{,}120}$$

Por sua vez, é possível obter a concentração média de biomassa a partir da média aritmética dos valores obtidos para cada triplicata.

4.6 TESTE DE PRODUÇÃO DE LACASE

Para a produção do extrato enzimático, foram utilizados Erlenmeyers de 250mL contendo 60mL de Caldo Batata Dextrose, substituindo o corante têxtil pelo álcool cinamílico na concentração de 100ppm. Essa substância, cuja estrutura química está apresentada na Figura 15 abaixo, funciona como um indutor da produção de enzima, além de possuir a vantagem de ser transparente, não prejudicando a reação de oxidação do ABTS que é colorimétrica.

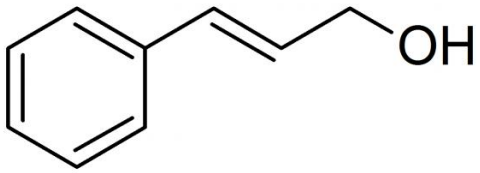


Figura 15: Estrutura química do álcool cinamílico.
Fonte: Autor, 2017

Os Erlenmeyers foram inoculados com um *slot* de crescimento fúngico de aproximadamente 0,5cm de comprimento e incubados em um agitador orbital (*shaker*) a 28°C com velocidade de agitação de 180rpm durante 10 dias. Os ensaios foram conduzidos em triplicata e alíquotas do extrato enzimático foram retiradas em determinados intervalos de tempo (3, 5, 7 e 10 dias).

4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LACASE

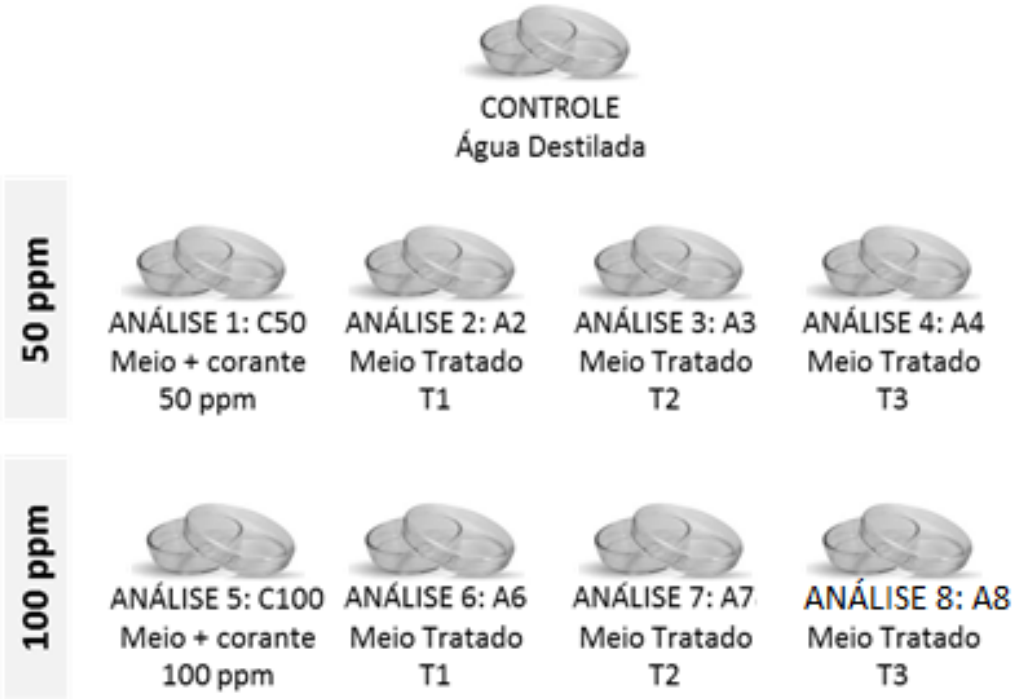
A atividade da enzima lacase foi determinada pela oxidação do ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), mais conhecido como ABTS. A reação enzimática foi acompanhada por espectrofotometria a partir da variação da absorbância no comprimento de onda de 420nm (BOURBONNAIS & PAICE, 1990).

Em uma cubeta, 0,40mL do extrato enzimático foi adicionado a 0,86mL de solução tampão acetato de sódio (0,05M, pH 5,0), sendo a reação iniciada pela adição de 0,1mL de ABTS 5mM (GARCIA, 2006). Todas as determinações de atividade enzimática foram realizadas em triplicata, utilizando como branco uma solução de 0,9mL do tampão acetato de sódio e 0,1mL de ABTS.

4.8 TESTE DE TOXICIDADE EM *Lactuca sativa*

Para a realização do teste de toxicidade, sachês de sementes de *Lactuca sativa* da marca FELTRIN® com 100% de pureza e validade até Janeiro de 2019 foram adquiridos em mercado comum. Os ensaios foram realizados conforme metodologia descrita por Sobrero & Ronco (2004), com algumas modificações.

Dez sementes de *Lactuca sativa* foram dispostas igualmente espaçadas em placas de Petri de 9,0cm de diâmetro contendo papel filtro qualitativo embebido em 4,0ml de cada amostra líquida a ser analisada. Os testes foram realizados em duplicata e placas contendo água destilada foram consideradas como controle negativo. Um esquema do teste de toxicidade pode ser visto na Figura 16.



NOTA: Leia-se por "Meio Tratado" as amostras que passaram pelo tratamento microbiológico com o fungo na etapa de biodegradação em meio líquido.

Figura 16: Esquema do teste de fitotoxicidade com *Lactuca sativa*.

Fonte: Autor, 2017

Após a montagem das placas, essas foram fechadas, cobertas com filme plástico para manter a umidade e incubadas no escuro a 28°C por 10 dias. Ao final do tempo de incubação, foram analisados os seguintes parâmetros: (i) taxa de germinação (TG), que representa a percentagem de sementes germinadas em relação ao número total de sementes, e (ii) crescimento vegetal (CV), que corresponde ao comprimento da radícula + hipocótilo, como demonstrado na Figura 17.

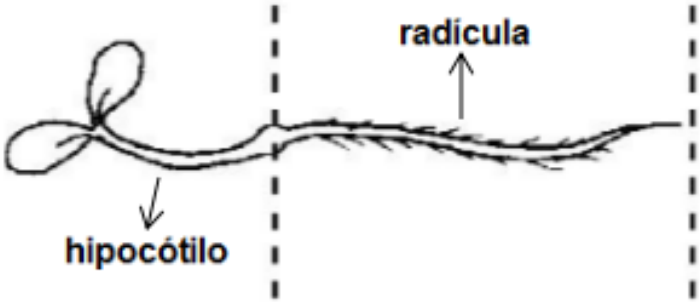


Figura 17: Demonstração da medição radícula + hipocótilo.

Fonte: Autor, 2017

Segundo Sobrero & Ronco (2004), os efeitos sobre a germinação podem ser considerados sempre como efeitos letais, enquanto que os efeitos sobre o crescimento vegetal como efeitos sub-letais. Sendo assim, a análise desses parâmetros fornece uma boa estimativa quanto à toxicidade dos corantes têxteis e os subprodutos gerados após a fermentação submersa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO DOS CORANTES

Objetivando a avaliação do processo de descoloração do meio líquido por espectrofotometria; primeiramente foi determinado o comprimento de onda correspondente ao maior pico de absorbância de cada corante. As Figuras 18 a 23 a seguir ilustram o perfil das varreduras para os corantes.

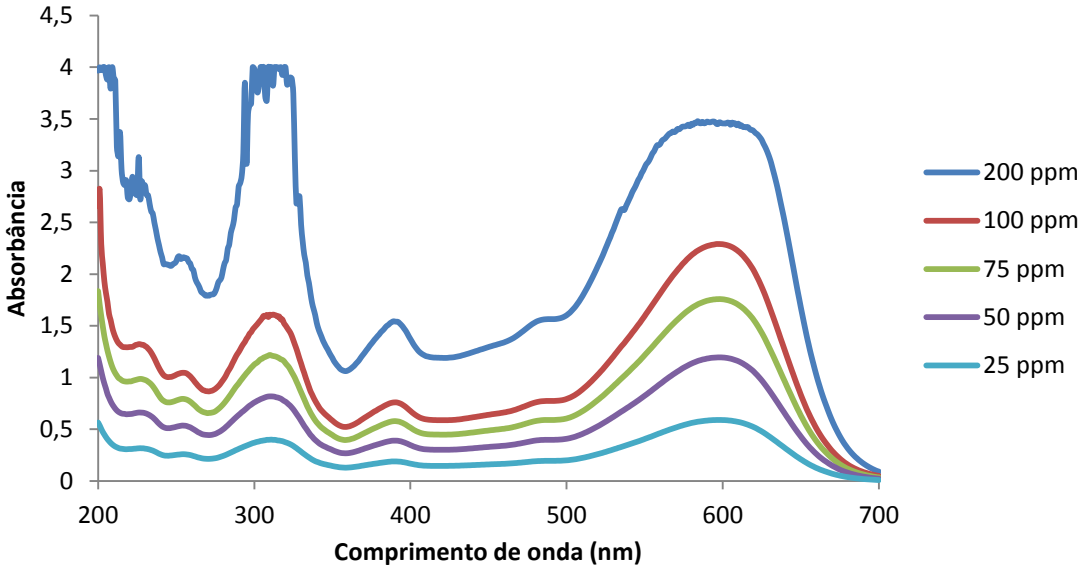


Figura 18: Perfil da varredura do corante *Reactive Black* 5 para diferentes concentrações.

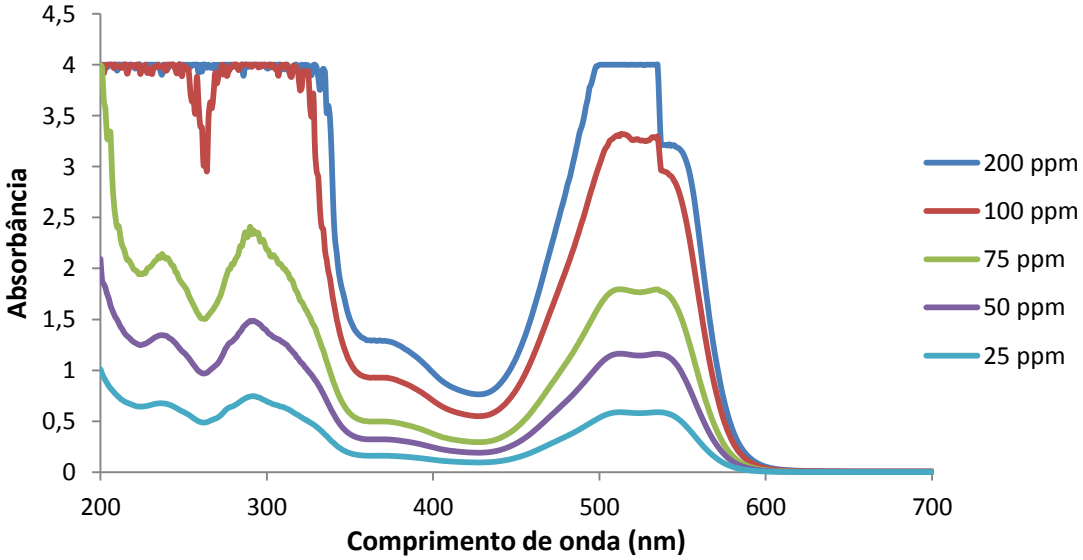


Figura 19: Perfil da varredura do corante *Reactive Red* 120 para diferentes concentrações.

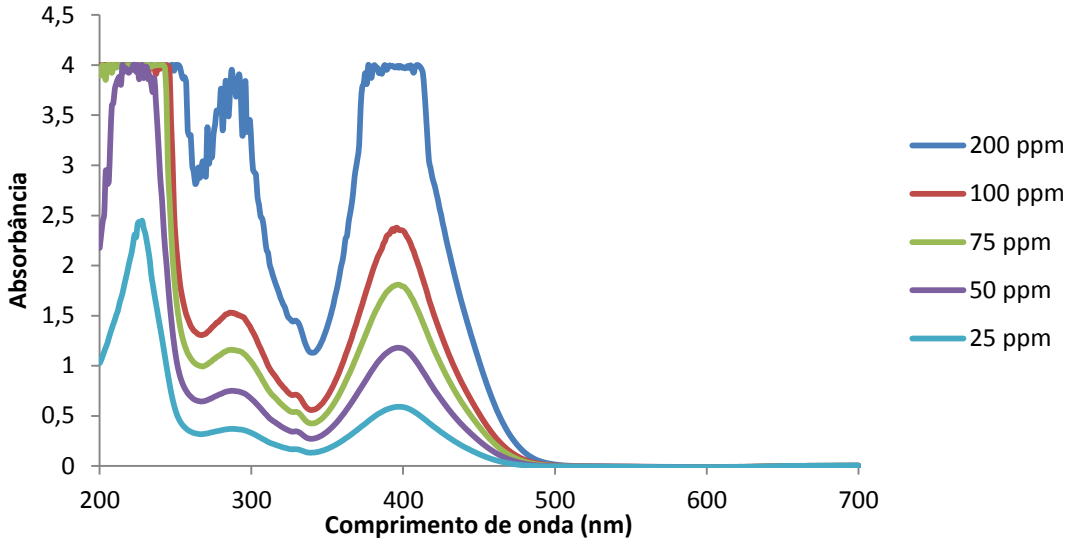


Figura 20: Perfil da varredura do corante *Direct Yellow*27 para diferentes concentrações.

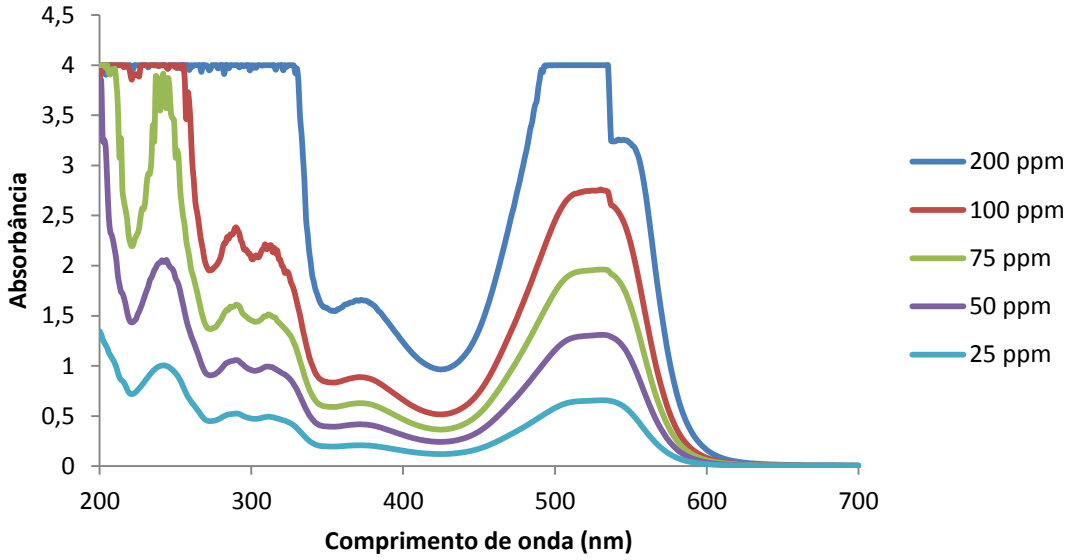


Figura 21: Perfil da varredura do corante Vermelho Remazol BS para diferentes concentrações.

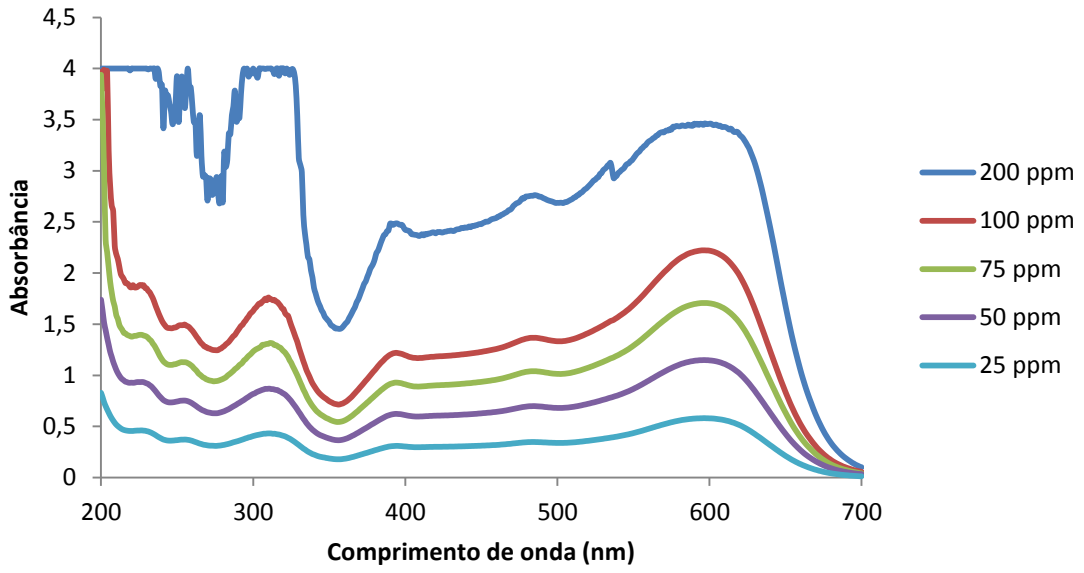


Figura 22: Perfil da varredura do corante Preto Biomax RB para diferentes concentrações.

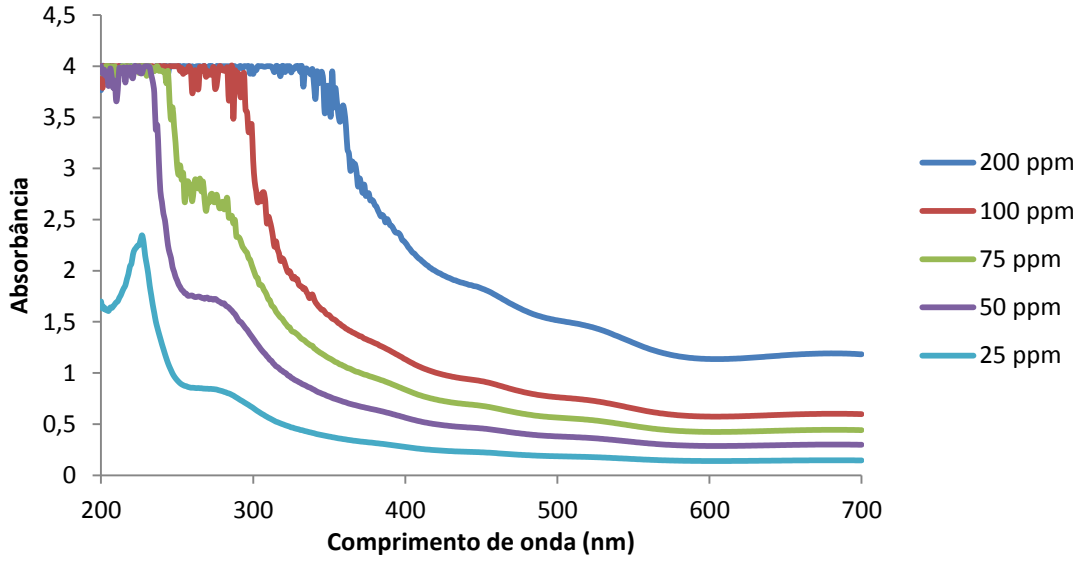


Figura 23: Perfil da varredura do corante Oliva T Coll para diferentes concentrações.

De acordo com Pedrosa (2009), a cor de uma determinada substância se deve à existência de um ou mais grupos cromóforos que, quando ligados a uma estrutura aromática, absorvem luz na parte visível do espectro, tornando-se perceptível ao olho humano. Diante disso, atribuem-se os picos de absorbância na região do visível (entre 400 e 700nm) à parte cromófora da molécula, enquanto os compostos aromáticos aparecem na região UV (190 a 380nm) (SANTOS; 2011).

Na Tabela 21, estão relacionados os comprimentos de onda em que ocorre máxima absorção para cada corante. É possível perceber que todos estão na faixa do visível, conforme já esperado.

Tabela 21: Comprimento de onda referente à máxima absorção de cada corante.

Corante	Comprimento de onda máximo ($\lambda_{máx}$)
Reactive Black 5	597 nm
Reactive Red 120	512 nm
Direct Yellow 27	393 nm
Vermelho Remazol BS	512 nm
Preto Biomax RB	597 nm
Oliva T Coll	450 nm

Além disso, a Figura 24 abaixo mostra a relação entre absorbância e concentração de corante para o comprimento de onda máximo. A linearidade entre esses dois parâmetros, representada pelos R^2 superiores a 0,9, indica adequação a Lei de Lambert-Beer.

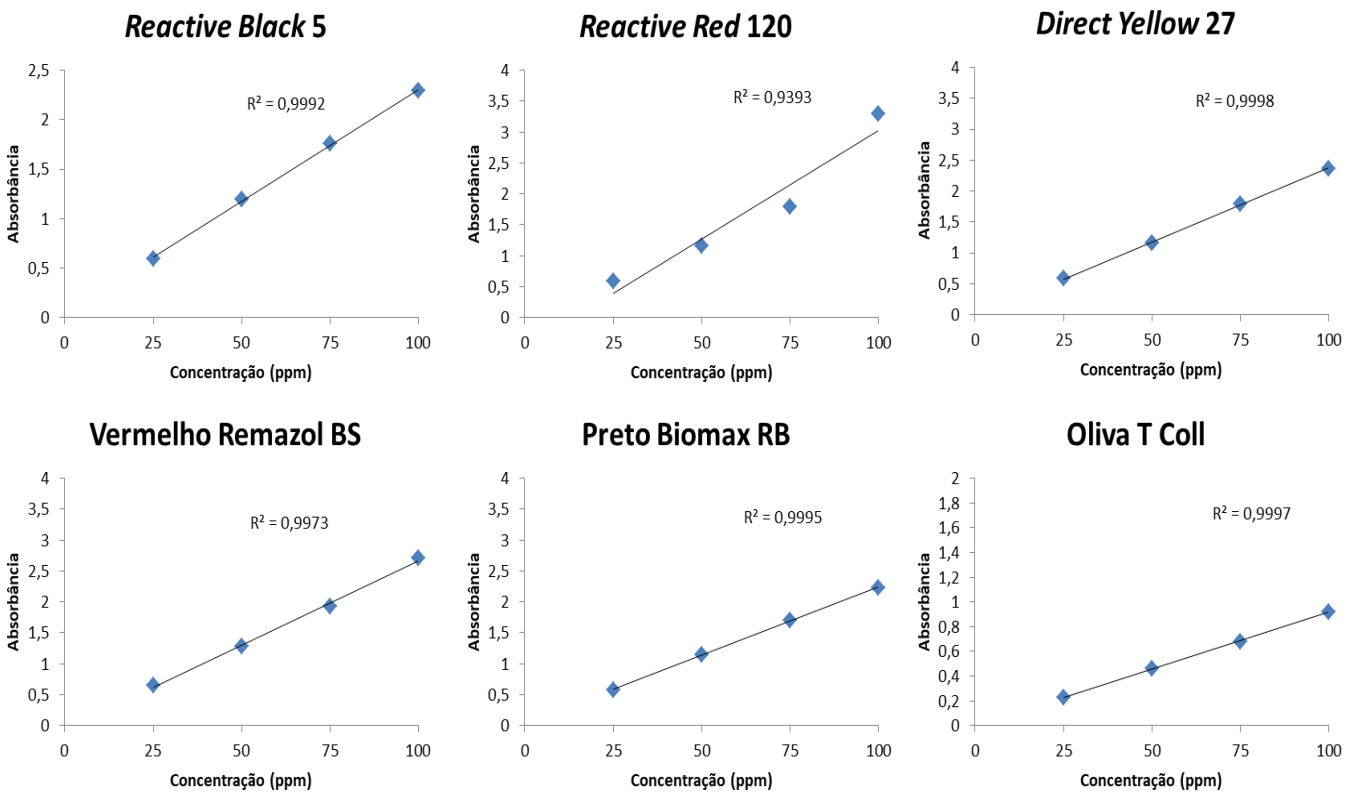


Figura 24: Relação entre absorbância e concentração de corante para o comprimento de onda máximo.

5.2 AVALIAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DOS CORANTES

A descoloração dos corantes foi avaliada tanto qualitativa, através da observação visual do desaparecimento da coloração ao longo dos dias de fermentação, como quantitativamente, sob a forma de percentagem de descoloração do meio líquido. Para isso, os Erlenmeyers utilizados como controle serviram de referência para as respectivas análises.

Os resultados dos testes de degradação em sistema submerso serão apresentados individualmente para cada corante, conforme subitens a seguir.

5.2.1 *Reactive Black* 5

No ensaio utilizando o corante *Reactive Black* 5 na concentração de 50ppm, foi observado um aumento gradual da percentagem de descoloração ao longo dos sete primeiros dias de fermentação, seguido da sua estabilização do sétimo para o décimo dia. A máxima descoloração alcançada foi de 50%, considerada como uma descoloração do tipo média.

Já para a concentração de 100ppm, foi verificado um perfil de gráfico crescente durante o período de fermentação. A porcentagem de descoloração do meio líquido atingiu o valor de cerca de 90% ao final de dez dias de tratamento, podendo ser classificada como uma descoloração do tipo alta. Esses resultados estão descritos na Figura 25 abaixo.

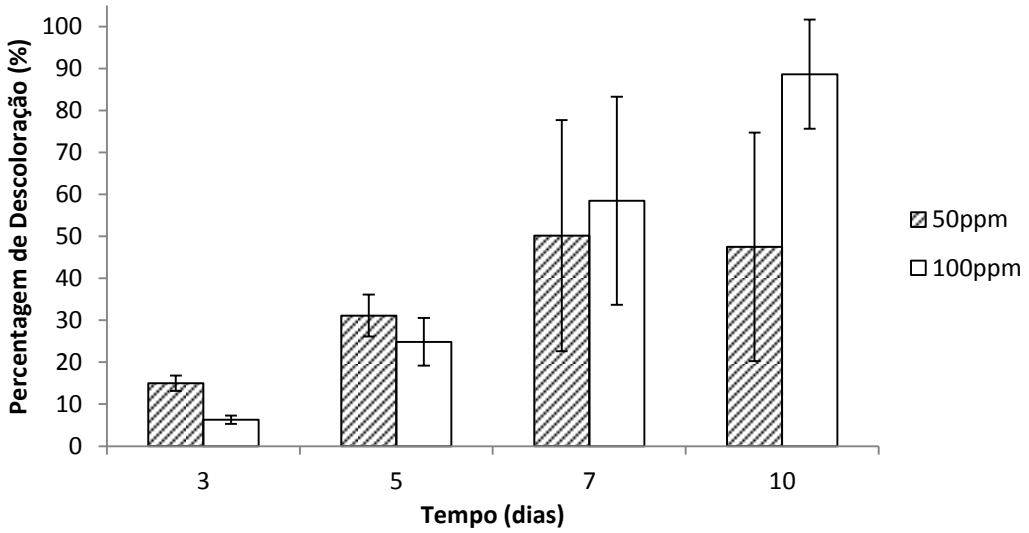
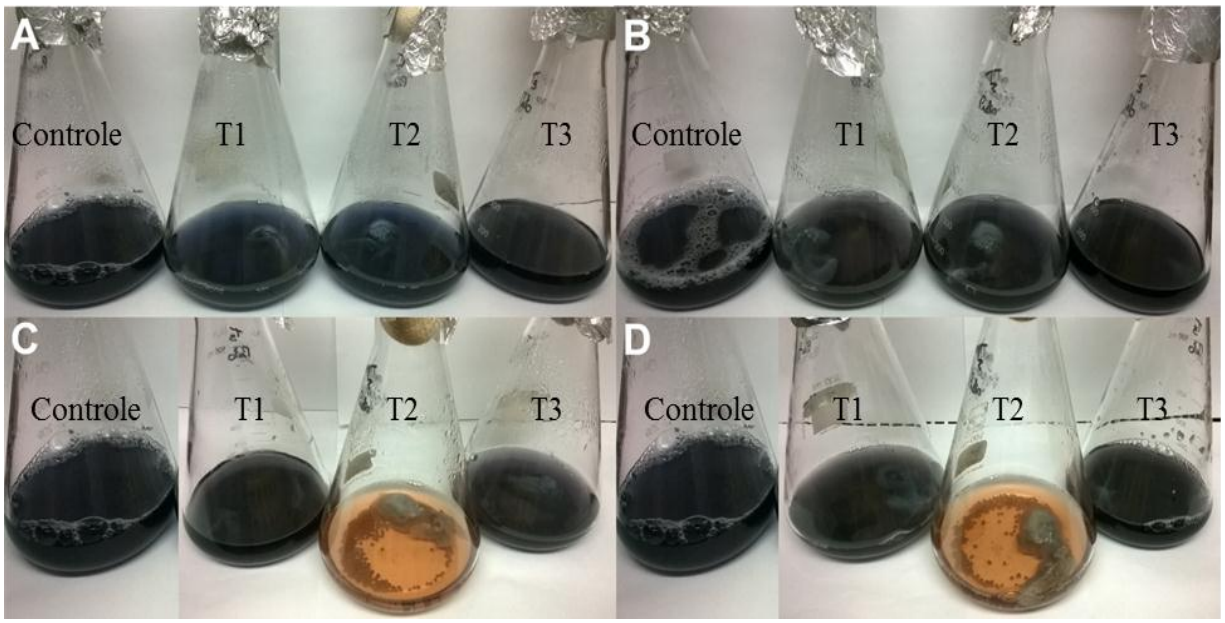


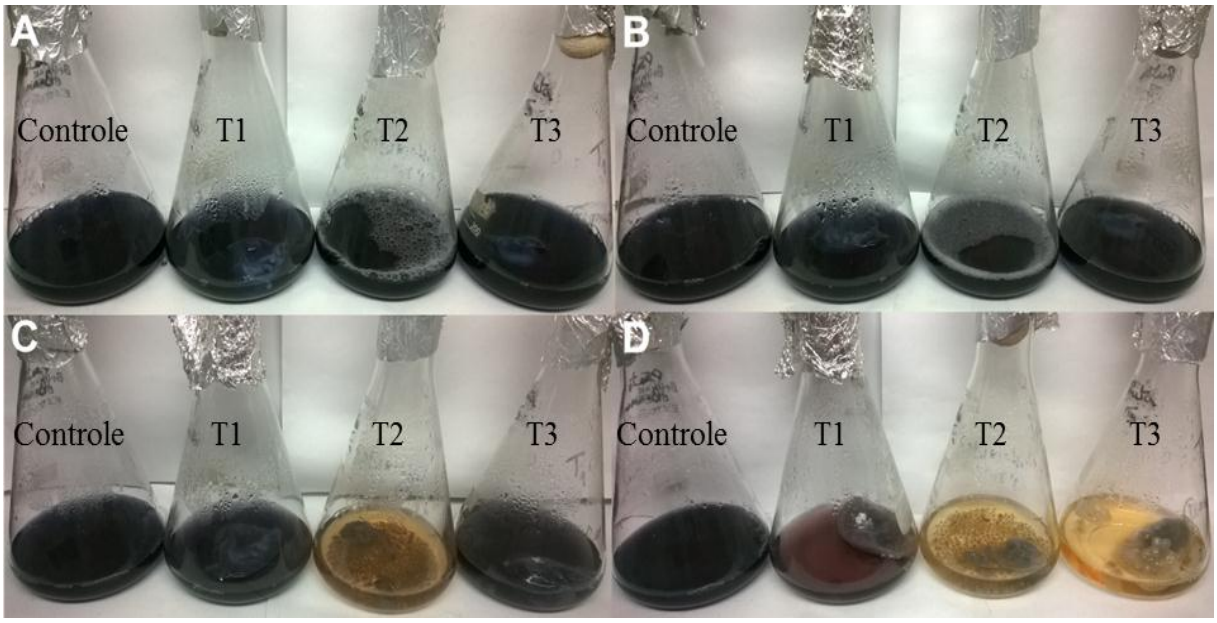
Figura 25: Percentagem de descoloração média do corante *Reactive Black* 5 ao longo do período de fermentação.

As Figuras 26 e 27 a seguir mostram a evolução da descoloração ao longo do período de fermentação para as concentrações de 50ppm e 100ppm, respectivamente.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 26: Descoloração do *Reactive Black* 5 a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 27: Descoloração do *Reactive Black* 5 a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

Como é possível observar na Figura 26, após sete dias de fermentação o Erlenmeyer referente à triplicata T2 apresentou uma descoloração expressiva do meio líquido quando comparado com o controle. Do sétimo para o décimo dia, a remoção de cor se mostrou praticamente constante, ratificando os resultados anteriormente encontrados.

Por outro lado, na Figura 27, descoloração também pode ser vista no Erlenmeyer referente à triplicata T2 do quinto para o sétimo dia e naquele referente à triplicata T3 do sétimo para o décimo dia. Ao final do experimento, o Erlenmeyer referente à triplicata T1 também apresentou um descoloração discreta em comparação com o controle, inferior em relação às outras triplicatas.

Em relação à concentração de biomassa, ocorreu um elevado crescimento fúngico desde o terceiro dia de fermentação em ambos os casos, indicando que não houve efeito tóxico do referido corante sobre o fungo *P. crhysosporium* ME-446 mesmo após o aumento da sua concentração inicial. Além disso, também foi notada uma ligeira adsorção do corante no micélio fúngico, o que está de acordo com os estudos de Dietrich *et al.* (1995) que indicam que a biodegradação somente ocorre quando substrato e sítios reativos entram em contato, sendo o corante primeiramente adsorvido às hifas.

Outro ponto importante é o fato das maiores descolorações terem sido observadas nos Erlemeyers que apresentaram crescimento fúngico na forma de pequenas esferas, o que proporcionou uma maior superfície de contato entre as hifas e o corante, contribuindo para uma remoção de cor mais eficaz. Ou seja, a morfologia do crescimento fúngico desempenhou um papel fundamental no processo de descoloração.

Alguns trabalhos na literatura associam a influência do tamanho das partículas biosorventes na capacidade de descolorir diferentes corantes. Chu & Chen (2002), Gong *et al.* (2005), Santhi & Manonmani (2009) e Miquelante (2011) mostraram uma tendência similar de resultados em que o aumento da capacidade de biosorção mostrou ser dependente da área de superfície externa do biosorvente, sugerindo uma relação linear entre a eficiência de remoção dos corantes e o diâmetro da partícula.

É possível que pequenas diferenças de agitação dentro do *shaker* podem estar relacionadas às alterações morfológicas observadas. Oliveira *et al.* (2010), por exemplo, afirmam que o nível de descoloração para a um microrganismo que se encontra na condição

estática pode ser diferente do outro que esteja submetido a condições de agitação. Ainda, o trabalho de Pizato (2013) sugere que diferentes velocidades de agitação do meio proporcionam características distintas na morfologia fúngica. Em condições de agitação mais elevadas, observou-se que os *pellets* formados eram menores e mais finos, ao passo que em menores rotações ocorreu exatamente o contrário. Essa mudança na forma da biomassa proporcionou diferentes superfícies de contato, influenciando diretamente na remoção de cor da solução.

Foram encontrados diversos trabalhos na literatura que tratam da biodegradação do corante *Reactive Black* 5. Por exemplo, Enayatizamir *et al.* (2011) investigaram a biodegradação *in vivo* do referido corante por *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado em dois tipos de suporte em biorreatores de leito fixo de escala de laboratório. O melhor resultado foi uma descoloração de 90,3% em 72h para uma concentração inicial de 100ppm.

Já Permpornsakul *et al* (2016) estudaram a capacidade de degradação de tal corante em sistema submerso por fungos de podridão branca isolados da Tailândia. Sete dos treze isolados foram capazes de descolorir em mais de 50% uma solução de 100ppm do corante *Reactive Black* 5 após três dias, sendo que um dos isolados, identificado como *Phanerochaete sordida* PBU 0057, produziu descoloração completa.

Khan & Malik (2016) estudaram a degradação do mesmo corante utilizando uma bactéria isolada de amostras de solo coletadas em torno de uma indústria têxtil. A linhagem bacteriana identificada como *Pseudomonas entomophila* BS1 apresentou máxima degradação de 93% após 120h de incubação em um meio com corante na concentração de 50ppm. Nesse mesmo contexto, El Bouraie & El Din (2016) avaliaram a biodegradação por *Aeromonas hydrophila*strain isolada de águas residuais têxteis. Em condições otimizadas, a eficiência de descoloração a 100ppm foi de 76% dentro de 24h.

Comparando os valores da literatura com os obtidos nos experimentos, foi possível observar que estes não estão muito distantes, ainda mais se considerarmos que as condições utilizadas não foram otimizadas. Desta forma, é possível afirmar a habilidade da linhagem *P. crhysosporium* ME-446 em degradar tal corante e seu potencial de aplicação em efluentes industriais.

5.2.2 *Reactive Red* 120

Para o corante *Reactive Red* 120 na concentração de 50ppm, foi observada uma descoloração de aproximadamente 76% já no quinto dia de fermentação. Essa percentagem aumentou para 94% após o sétimo dia, o que é considerada como uma descoloração alta.

Já os ensaios utilizando o corante na concentração de 100ppm apresentaram resultados pouco promissores, com valores inferiores a 10% de descoloração mesmo após dez dias de fermentação. Nesse caso, a capacidade de descoloração do corante foi totalmente influenciada pela sua concentração inicial.

Os resultados obtidos para a descoloração do corante *Reactive Red* 120 ao longo do período de fermentação estão mostrados na Figura 28 abaixo.

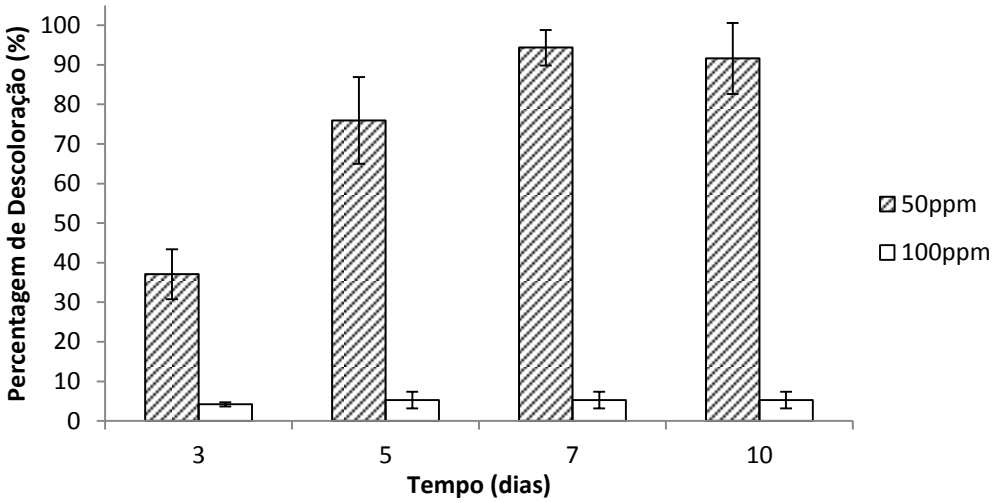
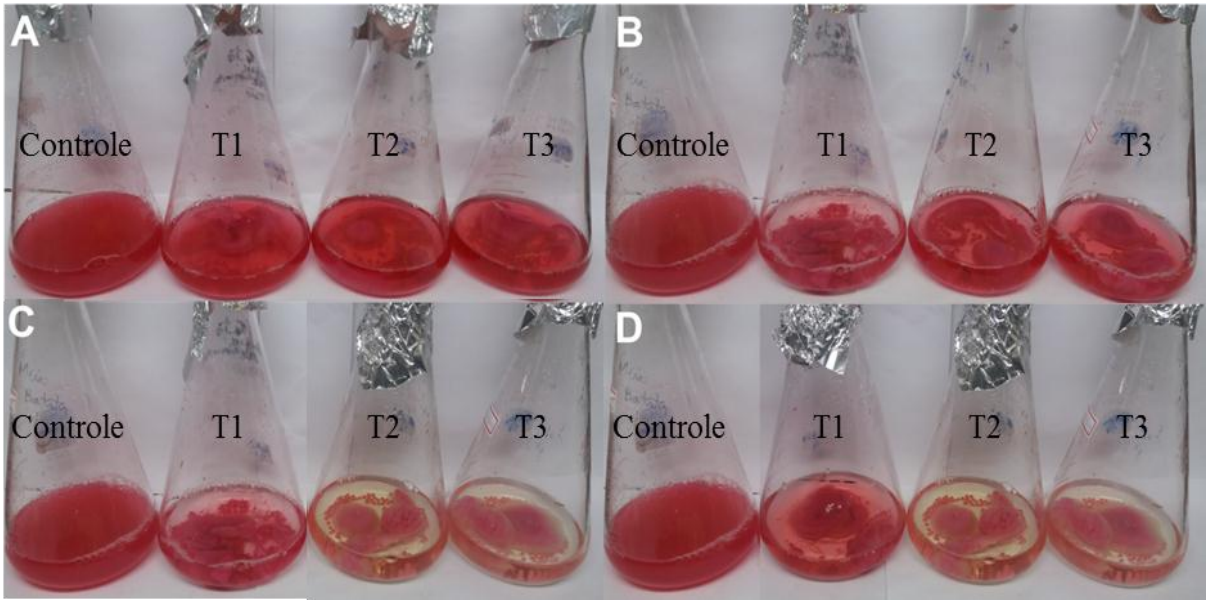


Figura 28: Percentagem de descoloração média do corante *Reactive Red* 120 ao longo do período de fermentação.

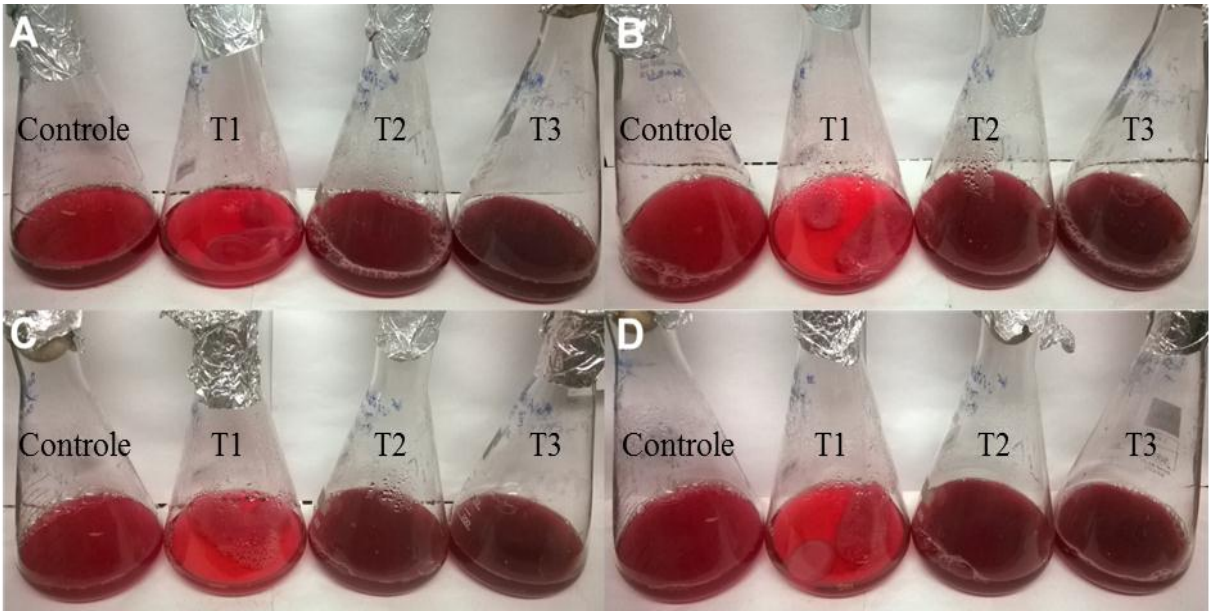
A Figura 29 a seguir mostra a evolução da descoloração ao longo dos dias de incubação para a concentração de 50ppm. É possível perceber uma significativa descoloração no Erlenmeyer referente à triplicata T1 logo no quinto dia de incubação. Após sete dias de fermentação, as triplicatas T2 e T3 tiveram seu máximo de descoloração, corroborando com os resultados anteriores. Somado a isso, crescimento fúngico na forma de pequenas esferas foi observado nos Erlenmeyers com maiores descoloração do meio líquido.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 29: Descoloração do *Reactive Red* 120 a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

A Figura 30, por sua vez, mostra a evolução da descoloração para a concentração de 100ppm. Conforme esperado, não foi observada nenhuma descoloração nos Erlenmeyers. Pelo contrário, os referentes às triplicatas T2 e T3 apresentaram certo escurecimento do meio, certamente devido à contaminação bacteriana no momento da inoculação. Além disso, somente houve crescimento fúngico no Erlenmeyer referente à triplicata T1.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 30: Descoloração do *Reactive Red* 120 a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

Harazono *et al*. (2003) investigaram a descoloração do corante *Reactive Red* 120 por *Phanerochaete sordida* YK-624 em um meio líquido contendo 3% de extrato de malte e 200ppm de corante, atingindo o percentual de descoloração de 90,6% após 7 dias. Mais recentemente, Yang *et al.* (2017) empregaram o fungo *Trametes versicolor* CBR43 em ensaios para a descoloração de diferentes corantes na concentração de 200ppm, dentre eles o *Reactive Red* 120, alcançando mais de 90% em descoloração ao fim de 6 dias de fermentação.

Esses resultados indicam que tal corante pode ser descolorido por ação fúngica, inclusive em concentrações mais elevadas das que foram testadas nos ensaios em sistema submerso. O fungo *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 somente apresentou descoloração satisfatória para a concentração de 50ppm, o que restringe sua utilização em processos com concentrações de corante elevadas.

Como alternativa, um consórcio microbiano pode ser empregado uma vez que o metabolismo dos microrganismos pode complementar uns aos outros e maiores descolorações podem ser alcançadas. Nesse contexto, Su & Li (2013) estudaram o sinergismo entre fungos (*Aspergillus niger*) e bactérias (*Bacillus* sp) para a descoloração do corante *Reactive Red* 120 na concentração inicial de 50ppm, tendo o meio alcançado uma descoloração de 90% após o cultivo em 24h.

Essa estratégia é uma opção válida já que o fungo *Phanerochaete chrysosporium* possui a capacidade de utilizar hidrocarbonetos aromáticos policíclicos como fonte de carbono, degradando esses compostos a intermediários mais simples que podem ser utilizados por demais microrganismos que não possuem tal capacidade. Isso é comprovado pelo estudo de Bumpus *et al.* (1985), que verificaram que essa espécie de fungo foi capaz de mineralizar 7,7% do fenantreno após 21 dias de incubação. Melhores resultados foram obtidos por Hammel *et al.* (1991) que quantificaram 12% de mineralização do antraceno após 7 dias.

5.2.3 *Direct Yellow* 27

Em relação ao ensaio com o corante *Direct Yellow* 27 na concentração de 50ppm, em apenas três dias de fermentação foi detectada uma descoloração média de aproximadamente 41%. Esse valor aumentou para 48% e 67% após o quinto e o sétimo dias, respectivamente. Porém, a maior descoloração só foi observada após o décimo dia de fermentação, alcançando o valor de 76%.

Já para a concentração de 100ppm, as porcentagens obtidas foram significativamente inferiores, indicando que a capacidade de descoloração do corante foi totalmente influenciada pelo aumento da sua concentração inicial. A maior porcentagem de descoloração foi obtida após o décimo dia de fermentação, alcançando o valor de 53%, conforme apresentado na Figura 31 abaixo.

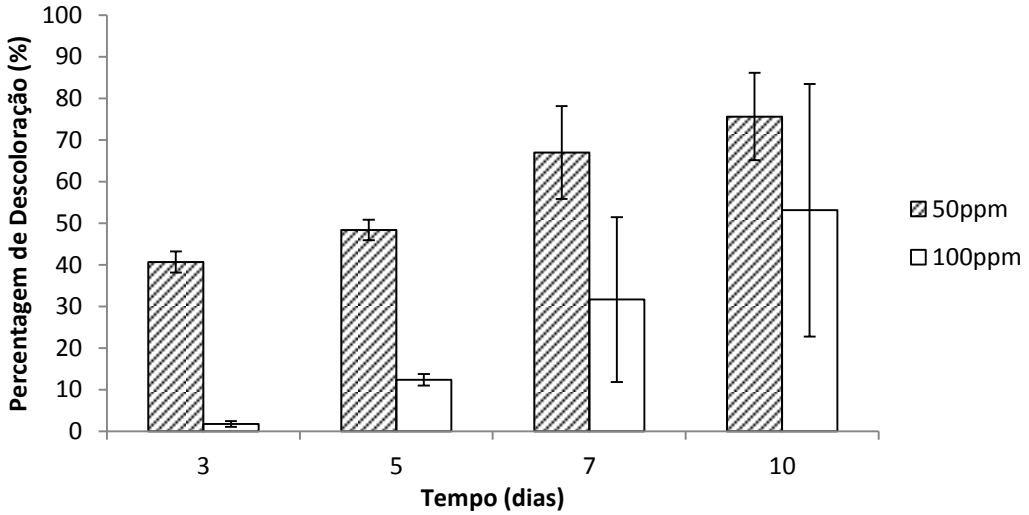
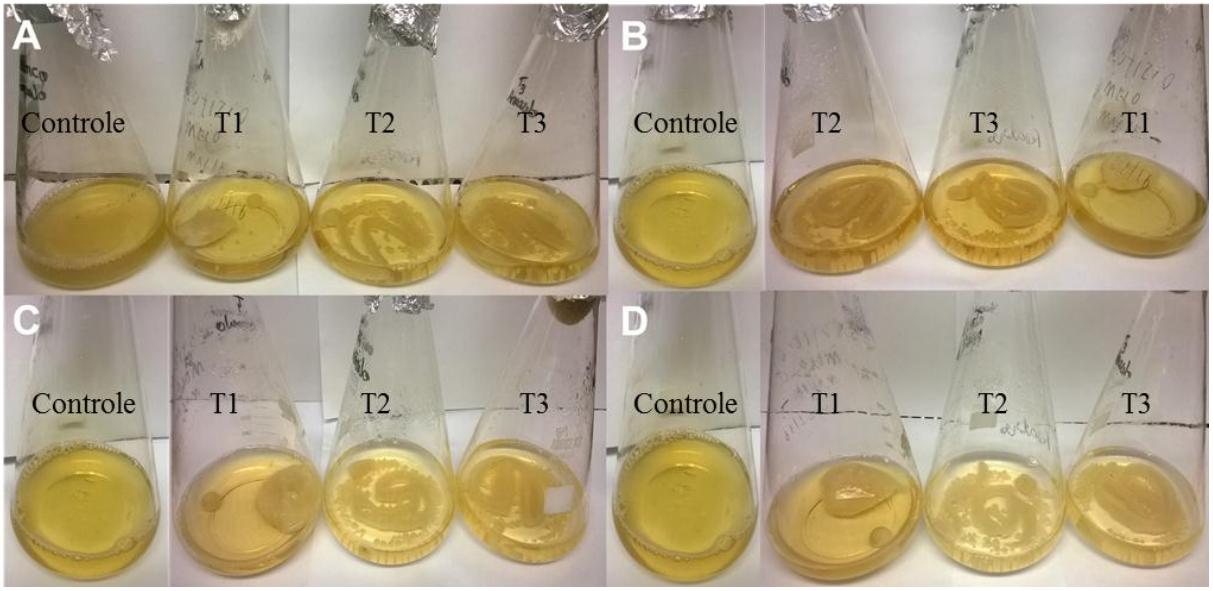


Figura 31: Percentagem de descoloração média do corante *Direct Yellow* 27 ao longo do período de fermentação.

Em ambos os casos foi observado um aumento contínuo do porcentual de descoloração, sugerindo que o experimento deveria ter persistido por um período maior de tempo para que fosse atingida uma maior degradação. Porém, o tempo que um resíduo leva para ser degradado por um microrganismo é um fator importante a ser considerado a nível industrial já que processos demorados tornam-se inviáveis economicamente.

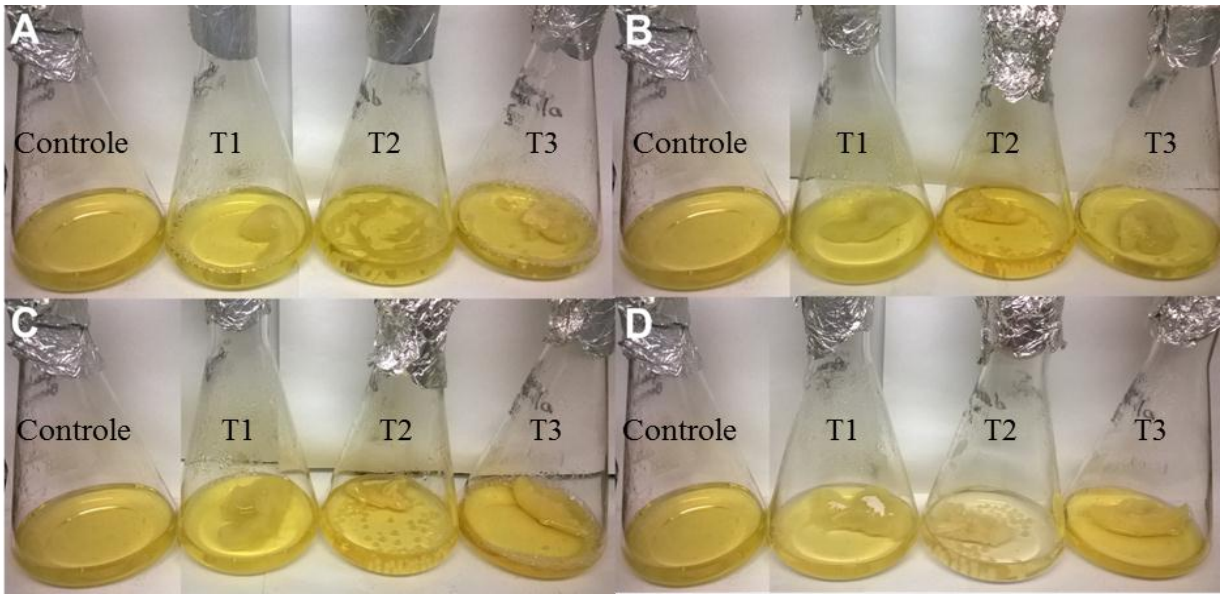
A Figura 32 a seguir mostra a evolução da descoloração ao longo dos dias de incubação para a concentração de 50ppm A análise visual ratifica os resultados anteriores, sendo possível observar uma descoloração gradual ao longo do período de incubação em todas as amostras. Ao final do décimo dia, os Erlenmeyers referentes às triplicatas T2 e T3 apresentaram a maior redução de coloração quando comparado com o controle. Justamente nesses Erlenmeyers o fungo se desenvolveu na forma de pequenas esferas, indicando que a morfologia do crescimento fúngico possa ter interferido na descoloração do corante.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 32: Descoloração do *Direct Yellow* 27 a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

Já a Figura 30 mostra a evolução da descoloração para a concentração de 100ppm. É possível reparar em uma significativa descoloração no Erlenmeyer referente à triplicata T2 após o décimo dia de incubação. Mais uma vez, ocorreu crescimento fúngico na forma de pequenas esferas, comprovando que o aumento na superfície de contato entre as hifas e o corante contribui para uma maior descoloração. Além disso, houve um elevado crescimento de biomassa mesmo com o aumento na concentração do corante, indicando que não houve efeito tóxico.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 33: Descoloração do *Direct Yellow* 27 a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

Foram encontrados poucos dados na literatura a respeito da degradação do corante *Direct Yellow* 27. Byberg & Cobb (2012) estudaram a degradação de diferentes corantes azo usando um reator de fotocatálise com dióxido de titânio (TiO_2) imobilizado, alcançando uma completa descoloração do respectivo corante na concentração inicial de 25ppm. Já Safni *et al.* (2016) investigaram a degradação pelo método de fotólise com e sem catalisador de TiO_2. Uma solução de 60ppm do corante foi degradada em 8,72% por irradiação solar, sendo essa percentagem aumentada para 71,52% com a adição do catalisador por 120 minutos.

Comparando os valores da literatura com os obtidos nos experimentos, percebe-se que estes não estão muito distantes, ainda mais se considerarmos que as condições utilizadas não foram otimizadas. Fica evidenciada, assim, a habilidade dessa cultura fúngica em degradar tal corante e seu potencial de aplicação em efluentes industriais.

5.2.4 Vermelho Remazol BS

No teste com o corante Vermelho Remazol BS na concentração de 50ppm, foi alcançado 95% de descoloração do meio líquido ao final de dez dias, considerada como uma descoloração do tipo alta. Por sua vez, nos ensaios utilizando o corante na concentração de 100ppm, foi atingida uma remoção de cor de somente 55% após o mesmo período de tempo, ressaltando a influência do aumento da concentração inicial de corante na capacidade de descoloração. Esses resultados estão demonstrados na Figura 34 abaixo.

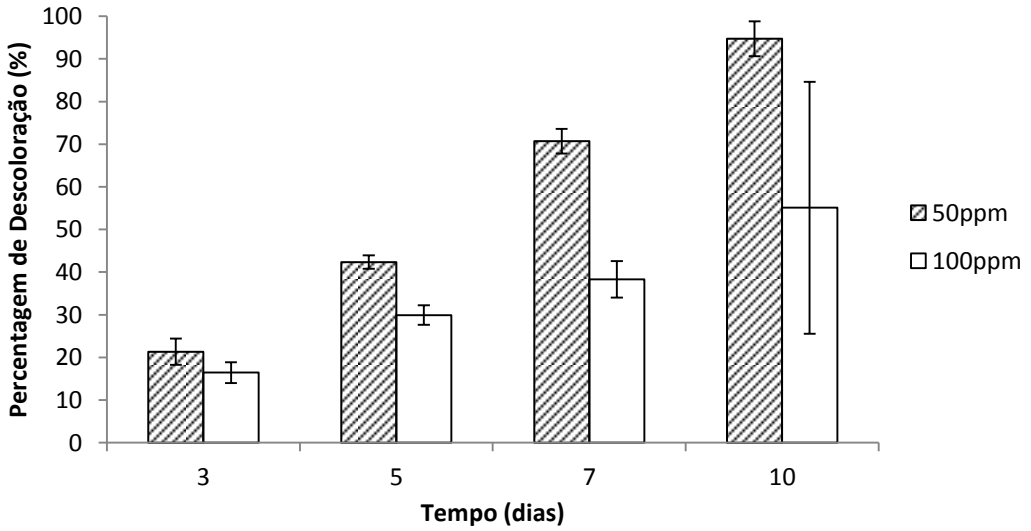
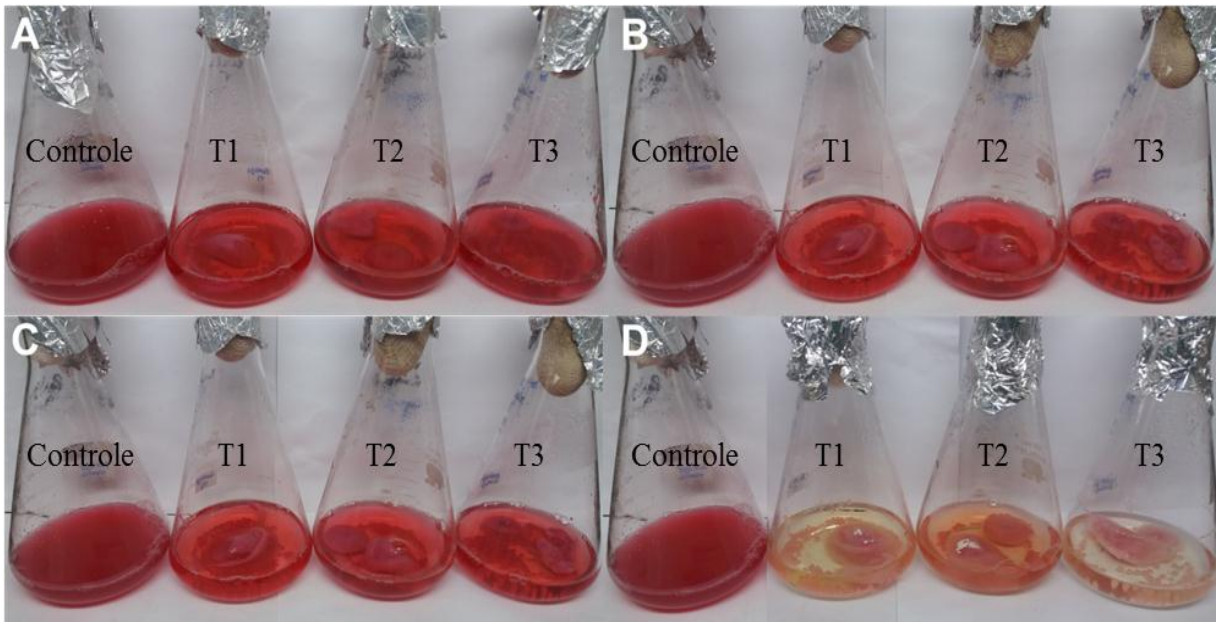


Figura 34: Percentagem de descoloração média do corante Vermelho Remazol BS ao longo do período de fermentação.

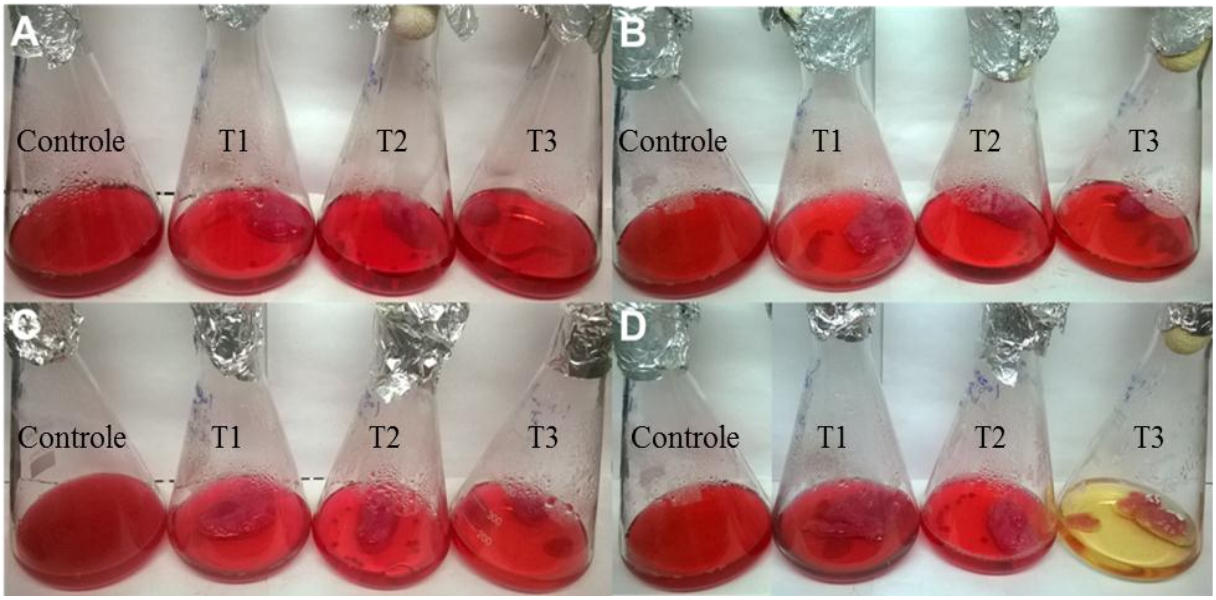
A Figura 35 abaixo mostra a evolução da descoloração do referido corante ao longo do período de fermentação para a concentração de 50ppm. É possível observar que todos os Erlenmeyers apresentaram descoloração gradual do meio líquido ao longo dos dias, sendo a maior redução de coloração atingida ao final do décimo dia, quando o meio se apresentou consideravelmente mais límpido. Além disso, houve um elevado crescimento de biomassa e, mais uma vez, verificou-se o crescimento fúngico na forma de pequenas esferas com adsorção de corante ao micélio.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 35: Descoloração do Vermelho Remazol BS a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

Por sua vez, a Figura 36 a seguir mostra a evolução da descoloração do referido corante ao longo do período de fermentação para a concentração de 100ppm. A partir da observação visual, somente ocorreu descoloração significativa no Erlenmeyer referente à triplicata T3 do sétimo para o décimo dia de fermentação. Além disso, verificou-se um elevado crescimento de biomassa em todas as triplicatas com adsorção do corante ao micélio fúngico, indicando que não houve toxidez mesmo com o aumento na concentração de corante.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 36: Descoloração do Vermelho Remazol BS a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias

5.2.5 Preto Biomax RB

Em relação ao ensaio com o corante Preto Biomax RB na concentração de 50ppm, foi observada uma descoloração de 28% após três dias de fermentação, aumentando para 66% no quinto dia e chegando a 96% no sétimo. Em contrapartida, ao utilizar o corante na concentração de 100ppm, pouca remoção de cor foi observada mesmo após o décimo dia de fermentação, tendo o porcentual de descoloração médio chegado somente aos 22%, conforme mostrado na Figura 37.

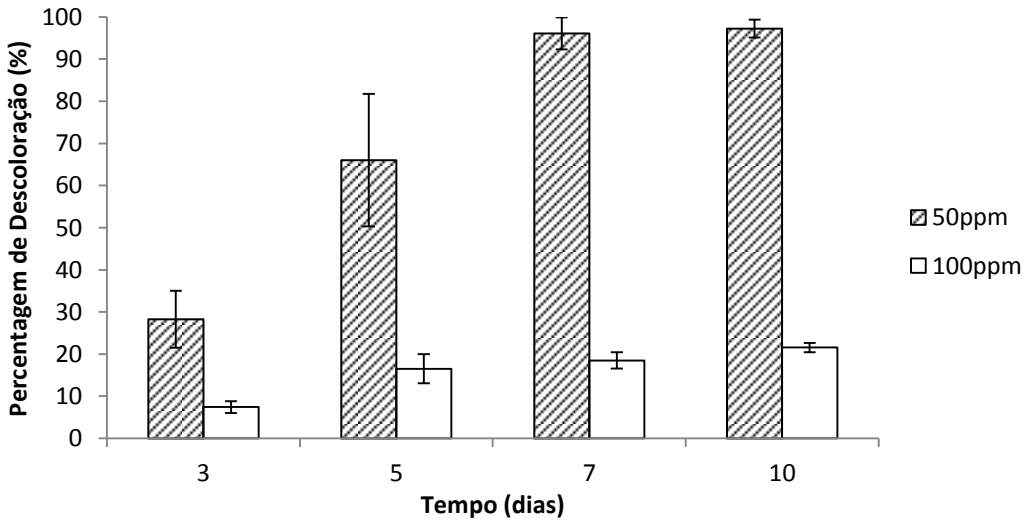
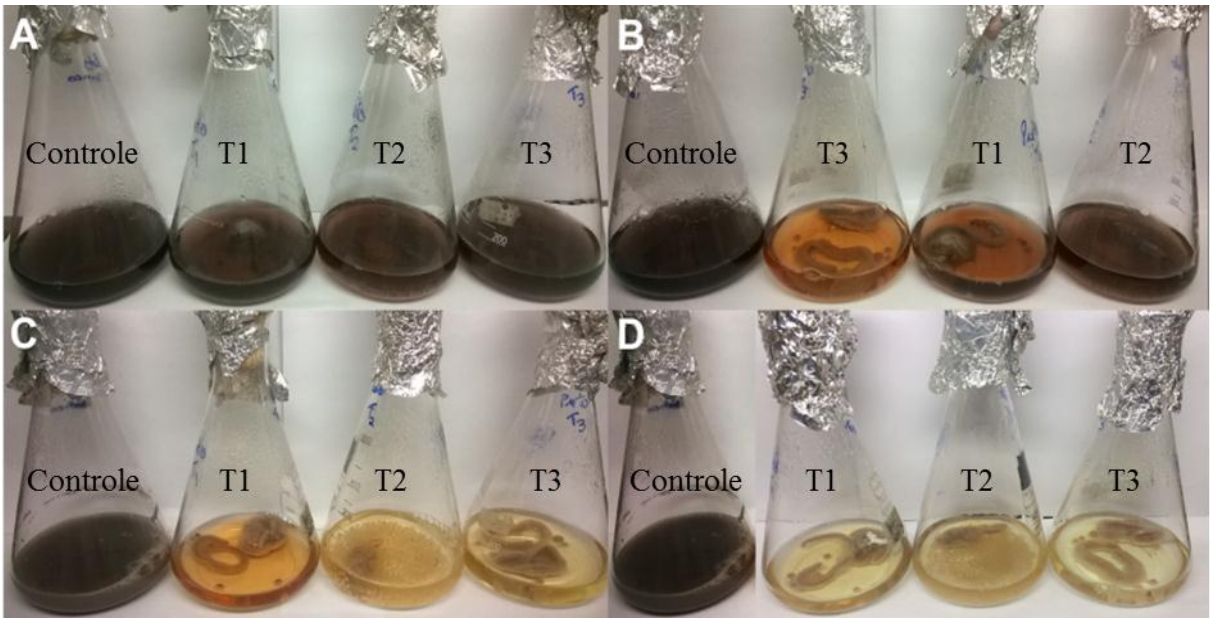


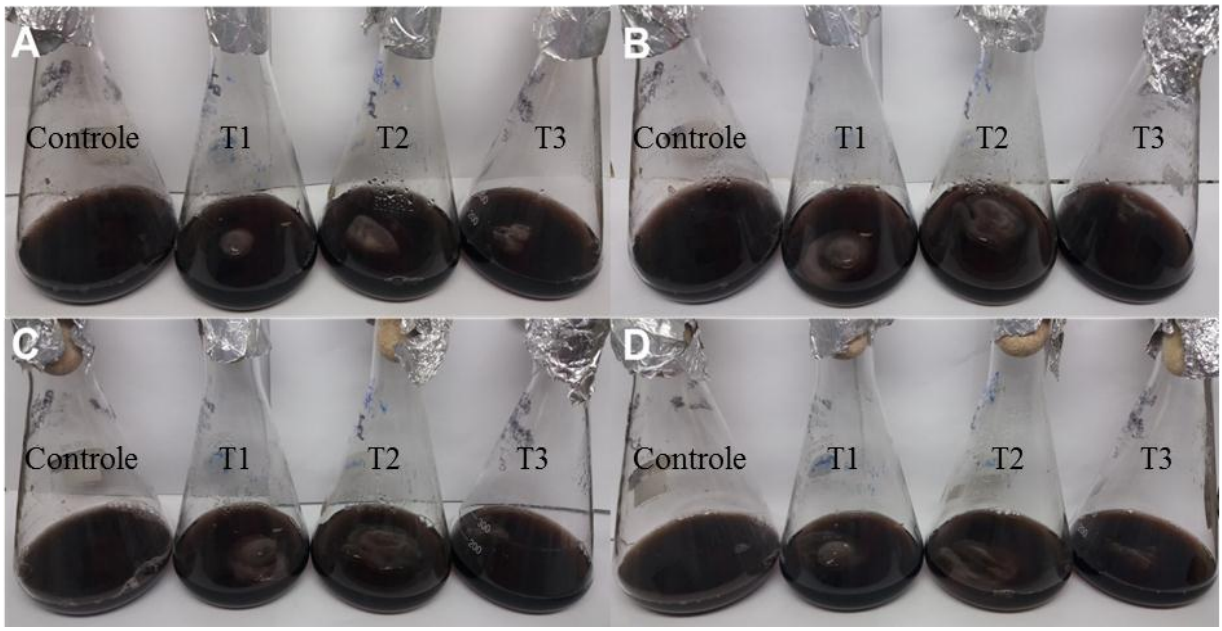
Figura 37: Percentagem de descoloração média do corante Preto Biomax RB ao longo do período de fermentação.

As Figuras 38 e 39 a seguir mostram a evolução da descoloração para o corante Preto Biomax RB ao longo do período de fermentação nas concentrações de 50ppm e 100ppm, respectivamente.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 38: Descoloração do Preto Biomax RB a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 39: Descoloração do Preto Biomax RB a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

A observação visual da Figura 38 ratifica os resultados encontrados, sendo possível verificar uma descoloração significativa nos Erlenmeyers referentes às triplicatas T1 e T3 no quinto dia de fermentação. Após sete dias, todas as amostras apresentaram um aumento na remoção de cor quando comparadas com o controle, com o meio líquido se apresentando consideravelmente mais límpido. Pouca variação foi observada do sétimo para o décimo dia. Além disso, foi possível verificar uma discreta adsorção do corante ao micélio fúngico e a presença de pequenas estruturas esféricas demonstrou facilitar o processo de descoloração.

Já a Figura 39 confirma que não foi possível visualizar nenhuma descoloração significativa do meio líquido durante os dez dias de experimento. Porém, notou-se um elevado crescimento de biomassa, indicando que não houve toxidez mesmo após o aumento na concentração de corante para 100ppm.

5.2.6 Oliva T Coll

Para o corante Oliva T Coll na concentração de 50ppm, em apenas três dias de fermentação foi observada uma percentagem de descoloração de 71%. Esse valor aumentou para 76% no quinto dia, chegando ao máximo de 87% após o sétimo, quando se manteve praticamente constante. Sendo assim, a descoloração obtida pode ser considerada como alta.

Nos ensaios utilizando a concentração de 100ppm, também foi observada uma descoloração considerável em três dias de fermentação, porém não tão significativa como no caso anterior. A maior porcentagem de descoloração foi atingida após o quinto dia, alcançando o valor de aproximadamente 66%, o que é considerada como uma descoloração do tipo média.

A certa facilidade por parte da espécie fúngica em descolorir o corante Oliva T Coll quando comparado com os demais corantes testados sugere que esse pertença à outra classe química que não as do azocorantes, apresentando um grupo cromóforo mais fácil de ser atacado.

Os resultados obtidos no teste de descoloração em sistema submerso estão apresentados na Figura 40 abaixo.

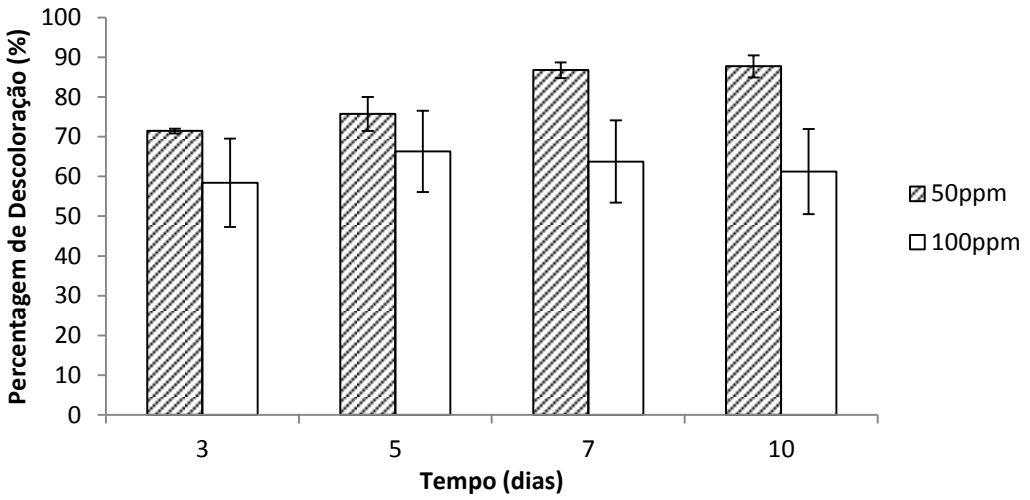
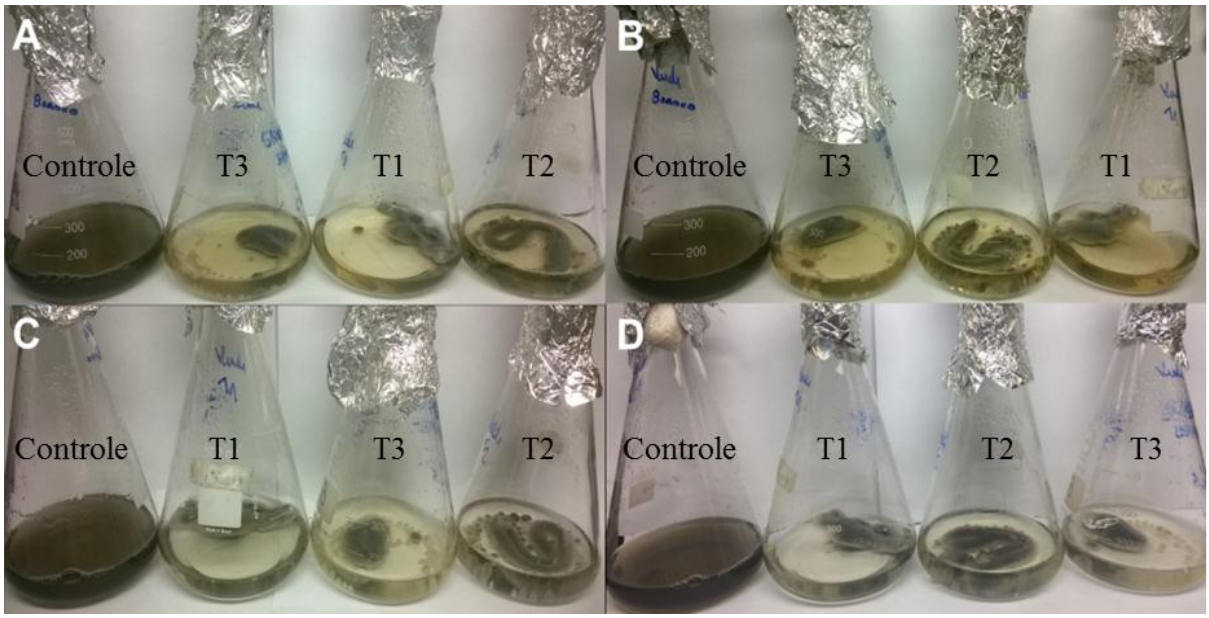


Figura 40: Percentagem de descoloração média do corante Oliva T Coll ao longo do período de fermentação.

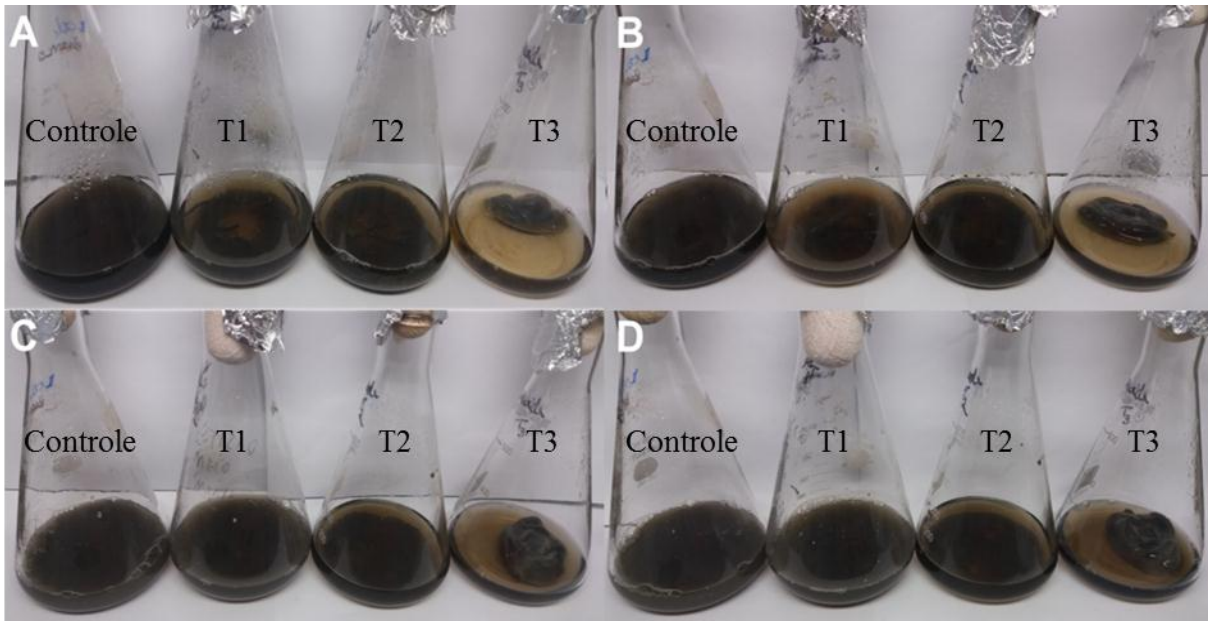
Na Figura 41, que mostra a evolução da descoloração para a concentração de 50ppm, destaca-se a expressiva remoção de cor do meio líquido quando comparado com o controle já no terceiro dia de fermentação. A descoloração progrediu gradualmente ao longo do tempo, de forma que no final dos dez dias de fermentação o meio se encontrou bastante límpido.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 41: Descoloração do Oliva T Coll a 50ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

O mesmo comportamento foi verificado para a concentração de 100ppm, como mostrado na Figura 42, sendo possível reparar em certa descoloração, principalmente no Erlenmeyer referente à triplicata T3, após três dias de fermentação. Não foi constatada nenhuma modificação de cor do quinto para o sétimo dia de fermentação, nem deste para o décimo, ratificando os resultados anteriores.



NOTA: Controle: meio sem inóculo; T1, T2 e T3: triplicatas com inóculo.

Figura 42: Descoloração do Oliva T Coll a 100ppm depois de (A) 3 dias (B) 5 dias (C) 7 dias e (D) 10 dias.

Foi verificado um elevado crescimento de biomassa em ambos os casos, indicando que o aumento da concentração inicial de corante não representou toxicidade ao fungo. Além disso, também ocorreu adsorção de corante ao micélio fúngico, enfatizando a importância dessa etapa no processo de descoloração.

Mais uma vez, a morfologia de crescimento fúngico influenciou o processo de remoção de cor, uma vez que as maiores descolorações foram observadas quando o crescimento fúngico se deu na forma de pequenas esferas, comprovando que o aumento na superfície de contato entre as hifas e o corante contribui para uma maior descoloração.

É possível concluir com os resultados obtidos dos ensaios de descoloração em sistema submerso que o fungo *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 foi capaz de descolorir as soluções de corantes têxteis testados nesse trabalho, alguns de maneira mais eficiente do que outros em função da sua estrutura química e concentração.

De fato, a relação entre a biodegradabilidade e a estrutura molecular dos corantes depende do tipo, da quantidade, da posição dos grupos substituintes no anel aromático e do peso molecular dos corantes. A presença de grupos substituintes em diferentes posições no anel aromático, por exemplo, pode acelerar ou reduzir a taxa de descoloração ou provocar sua completa inibição. No caso dos corantes azo sulfonados, a posição e o número de grupos SO_3H, entre outros, afetam a velocidade de degradação da molécula do corante (SHAFFIQU *et al.*, 2002; DAWKAR *et al.*, 2009). Com isso, é de se esperar que fungos diferentes degradem de maneira diferente o mesmo corante e corantes diferentes sejam degradados diferentemente pelo mesmo fungo.

5.3 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO FÚNGICO

Após o período de fermentação em sistema submerso, o crescimento fúngico foi calculado a partir do seu peso seco. A Tabela 22 abaixo fornece informações sobre a concentração de biomassa e a remoção de cor alcançada nos ensaios em sistema submerso após dez dias de tratamento.

Tabela 22: Biomassa produzida e remoção de cor após dez dias de tratamento.

Corante	**Concentração de 50ppm**					**Concentração de 100ppm**				
	Biomassa ($g\ L^{-1}$)			**Média**	**Remoção de cor (%)**	**Biomassa ($g\ L^{-1}$)**			**Média**	**Remoção de cor (%)**
Reactive Black 5	2,52	2,32	2,03	2,29	47,5	2,62	2,73	2,99	2,78	88,6
Reactive Red 120	3,08	2,93	3,19	3,07	91,6	3,01	0,18	0,16	1,11	5,3
Direct Yellow 27	2,87	2,19	2,18	2,41	65,9	3,00	2,52	3,40	2,98	53,1
Vermelho Remazol BS	3,64	3,11	3,40	3,39	94,7	2,83	2,96	3,33	3,04	55,1
Preto Biomax RB	2,68	2,81	2,22	2,57	97	2,14	2,61	1,97	2,24	22
Oliva T Coll	2,72	2,70	2,22	2,55	88	1,72	2,15	2,22	2,03	61

De maneira geral, os resultados obtidos para concentração média de biomassa variaram de 2,00 g L^{-1} a 3,40 g L^{-1}, evidenciando a alta capacidade de crescimento fúngico mesmo em condições não otimizadas. Esses valores foram semelhantes aos encontrados por Taskin & Erdal (2010) que utilizaram *Aspergillus niger* para o tratamento de uma solução do corante *Reactive Black* 5 e obtiveram 88% de descoloração em uma biomassa de 2,98 g L^{-1}.

O ensaio utilizando o corante *Reactive Red* 120 na concentração de 100ppm foi o único que apresentou produção de biomassa abaixo dessa faixa. Tal resultado já era esperado uma vez que somente foi possível perceber crescimento fúngico em uma das triplicatas.

Analisando a influência da concentração de corante no crescimento fúngico, vale a pena ressaltar que não houve uma grande variação dos valores de biomassa produzida mesmo com o aumento da concentração de corante, indicando que a sua presença não prejudicou o crescimento do fungo em questão.

De certa forma, também se verificou que as percentagens de remoção de coloração utilizando os corantes na concentração de 100ppm foram menores que aquelas na concentração de 50ppm. Como a quantidade de biomassa permaneceu praticamente a mesma nos dois casos, há de se esperar que ocorra uma menor remoção de coloração quando se tem uma maior concentração de corante no meio.

Além disso, em todos os ensaios reparou-se em uma significativa adsorção de corante nas células. Justamente as maiores remoções de cor foram obtidas nos casos onde ocorreu maior produção de biomassa, sendo possível estabelecer certa relação entre esses dois fatores. Como a parede celular possui muitos grupos multifuncionais, isso possibilita a interação através de processos físicos e químicos entre as moléculas do corante e estes grupos ativos da superfície celular (CRINI, 2005).

O fato é que os processos de descoloração utilizando biomassa viva envolvem mecanismos bastante complexos e estão intimamente ligados as condições operacionais. Sendo assim, maiores estudos devem ser realizados para a melhor compreensão da relação entre o crescimento de biomassa e a remoção de corantes.

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LACASE

Apesar de o fungo *Phanerochaete chrysosporium* ser amplamente estudado como um organismo modelo para a degradação fúngica de lignina, nas condições dos ensaios experimentais não foi observada a produção de lacase em nenhum dos intervalos de tempo considerados.

Como visto anteriormente, os fungos basidiomicetos de podridão branca produzem três classes principais de enzimas que desempenham um papel importante na degradação da lignina. São elas: lignina peroxidase (LiP), manganês peroxidase (MnP) e lacase (Lac). Porém, alguns fungos são capazes de produzir as três enzimas, enquanto outros manifestam apenas uma ou duas delas.

No caso do fungo *Phanerochaete chrysosporium* ME-446, a presença de LiPs e MnPs já está bem estabelecida (HATAKKA, 1994). Por outro lado, diversos autores o apontam como um exemplo de fungo de podridão branca que não produz lacase, corroborando com o resultado encontrado (KIRK & FARREL, 1987; DE JONG *et al.*, 1994; THURSTON, 1994).

O que os pesquisadores discutem é se a incapacidade de produção de lacase pelas culturas de *P. chrysosporium* é devido ao uso de condições de cultura não favoráveis à produção dessa enzima pelo microrganismo ou se esse não possui a maquinaria genética para a produção de lacase.

Dessa forma, a ausência de atividade para lacase sugere que essa enzima não esteja atuando diretamente na oxidação dos grupamentos fenólicos presentes nas estruturas dos corantes, não sendo a principal responsável pela descoloração observada. A participação das outras enzimas extracelulares ainda precisa ser comprovada em ensaios posteriores.

Em contrapartida, é possível afirmar que a adsorção desempenhou um papel importante na remoção de cor nos testes em sistema submerso, evidenciada pela fixação do corante a biomassa produzida que se apresentou bastante colorida ao final do período de fermentação. É possível que o mecanismo enzimático intracelular do citocromo P-450 também tenha contribuído nesse processo, conforme trabalho de Yadav & Syed (2012) que identificou o envolvimento desse sistema na degradação de diversos compostos tóxicos.

5.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO FITOTÓXICO

Os testes de fitotoxicidade objetivaram avaliar o efeito tóxico dos corantes em dois níveis: letal e não letal. Para isso, o percentual de germinação das sementes de alface foi analisado, bem como se mediu o comprimento referente ao crescimento do vegetal.

Os resultados desses testes serão apresentados individualmente para cada corante, conforme subitens a seguir. A leitura dos gráficos seguiu uma lógica simples: quanto menor fosse a taxa de germinação ou o crescimento vegetal, maior era a toxicidade da amostra testada.

5.5.1 *Reactive Black* 5

No ensaio de fitotoxicidade para o corante *Reactive Black* 5, os resultados referentes à taxa de germinação indicaram que a presença do corante representou certa letalidade às sementes de alface, já que todas as amostras apresentaram taxa de germinação menor que o controle com água, como pode ser visualizado na Figura 43.

Além disso, foi possível perceber que o aumento na concentração do corante também ocasionou maior letalidade, pois o percentual de germinação da amostra com corante a 100ppm foi menor que o da amostra com corante a 50ppm.

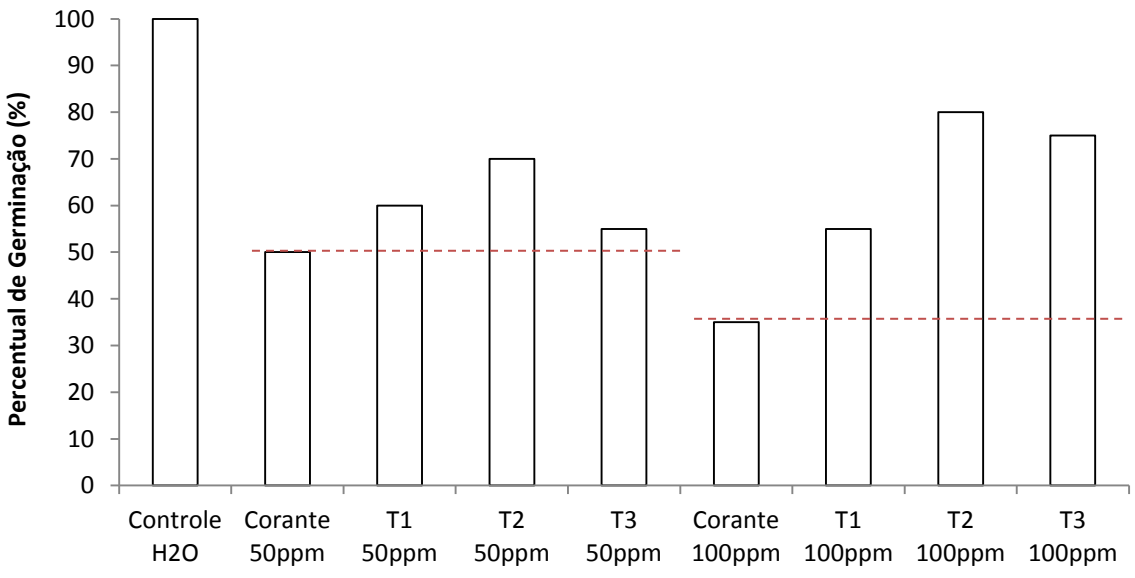


Figura 43: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante *Reactive Black* 5.

As amostras obtidas da fermentação submersa na presença do corante na concentração de 50ppm apresentaram taxas de germinação superiores a do seu respectivo controle, demonstrando que a descoloração do meio líquido gerou produtos menos tóxicos que a molécula original do corante.

Já para a concentração de 100ppm, as amostras submetidas à fermentação submersa também se mostraram menos tóxicas que a solução de corante não submetida à degradação pelo fungo, com taxas de germinação de 55%, 80% e 75% contra os 35% da solução não tratada, demonstrando que os produtos gerados são menos tóxicos que o próprio corante.

A Figura 44 dispõe das informações a respeito do crescimento vegetal médio. É possível observar que nas amostras tratadas os valores de comprimento vegetal obtidos foram razoavelmente superiores, não havendo, portanto, efeitos sub-letais. Sendo assim, esses resultados indicam que o tratamento microbiológico para o corante *Reactive Black* 5 pode ser uma técnica bastante promissora.

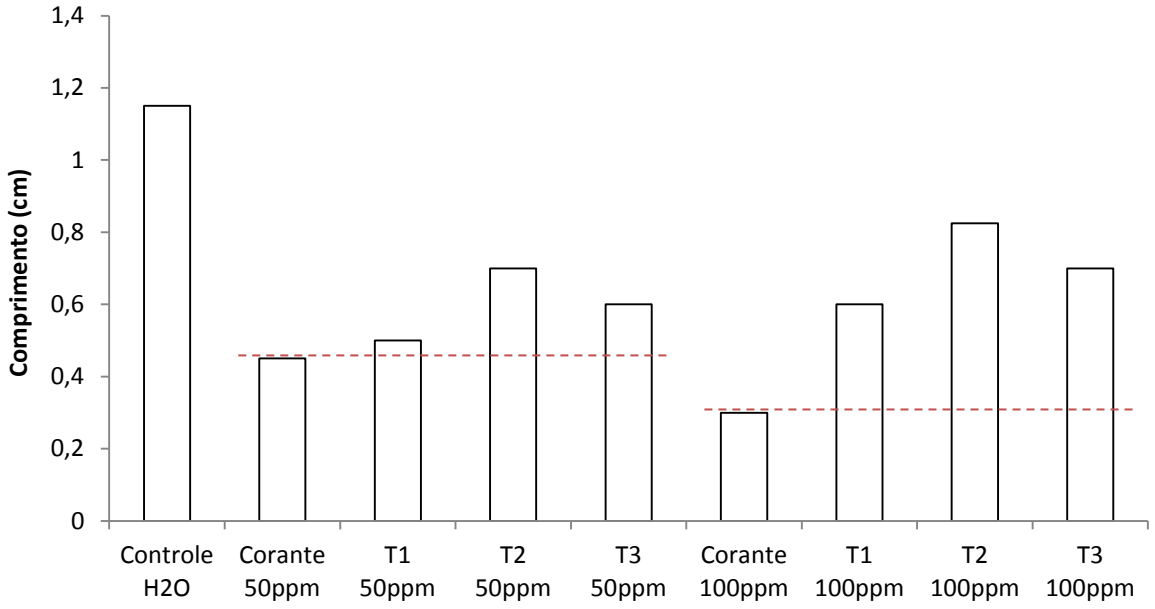


Figura 44: Crescimento vegetal médio para o corante *Reactive Black* 5.

5.5.2 *Reactive Red* 120

Para o corante *Reactive Red* 120, o ensaio de fitotoxicidade mostrou que todas as amostras apresentaram taxa de germinação menor que o controle com água, indicando que a presença do corante representou certa letalidade às sementes de alface. Isso pode ser explicado pelo fato do referido corante apresentar uma composição química bastante complexa com diversos anéis aromáticos, além da reconhecida toxicidade do grupo clorotriazinila presente em sua estrutura.

Esse comportamento também foi verificado ao aumentar sua concentração, tendo o percentual de germinação diminuído de 45% na amostra com corante a 50ppm para 25% naquela a 100ppm. Esses resultados estão demonstrados na Figura 45.

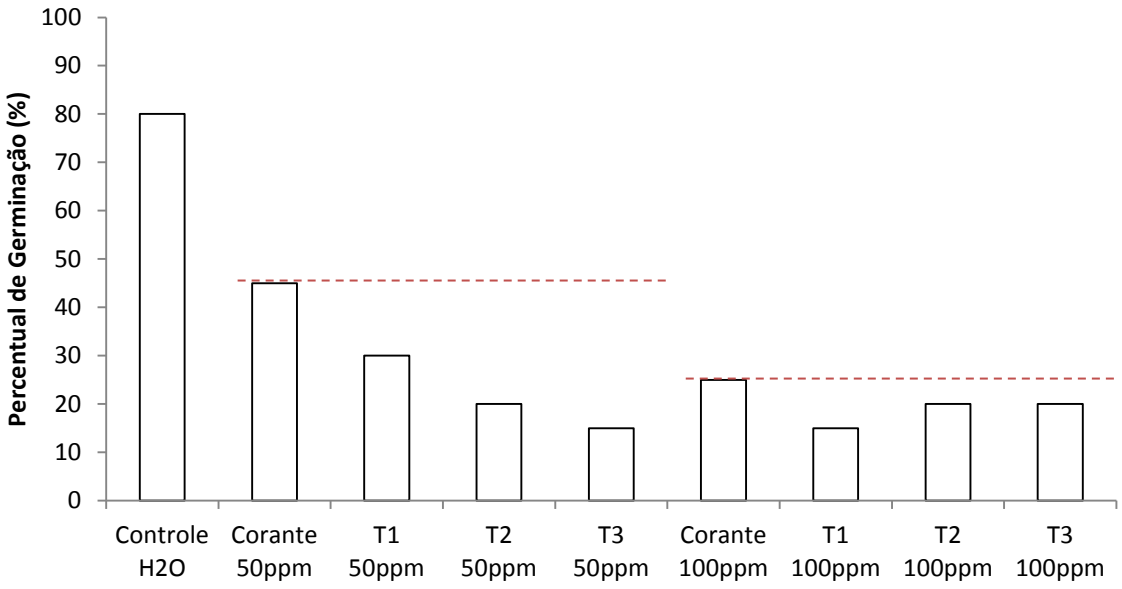


Figura 45: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante *Reactive Red* 120.

As amostras com corante na concentração de 50ppm que passaram pelo tratamento fúngico apresentaram taxas de germinação de 30%, 20% e 15%, sendo mais tóxicas que a solução não tratada. Apesar do resultado dos testes de degradação em sistema submerso mostrar uma elevada redução de coloração nessas amostras, a descoloração do corante resultou em produtos mais tóxicos que a própria molécula original. Já para a concentração de 100ppm, as taxas de germinação das amostras tratadas ficaram próximas a do respectivo controle. Isso já era esperado uma vez que os testes em sistema submerso mostraram que praticamente não ocorreu descoloração em nenhuma das amostras.

Considerando que esse é um corante di-azo, o aumento da toxicidade pode estar associado à quebra do grupo azo e consequente produção de aminas aromáticas. Essa hipótese pode ser comprovada por Santos e Corso (2014) cuja pesquisa confirmou que a degradação do corante *Direct Blue* 71 - que possui três ligações azo - pelo fungo *P. chrysosporium* gerou como metabólitos aminas primárias tóxicas ao ambiente a partir de análises no Infravermelho com Transformada de Fourier.

De forma geral, as amostras do corante *Reactive Red* 120 obtidas após processo fermentativo com o fungo *P. chrysosporium* apresentaram menor crescimento vegetal quando comparado com o corante original, como pode ser visualizado na Figura 46. Assim, os resultados indicam que os produtos resultantes da desco. em sistema submerso apresentaram efeitos letais e sub-letais às sementes de alface testadas.

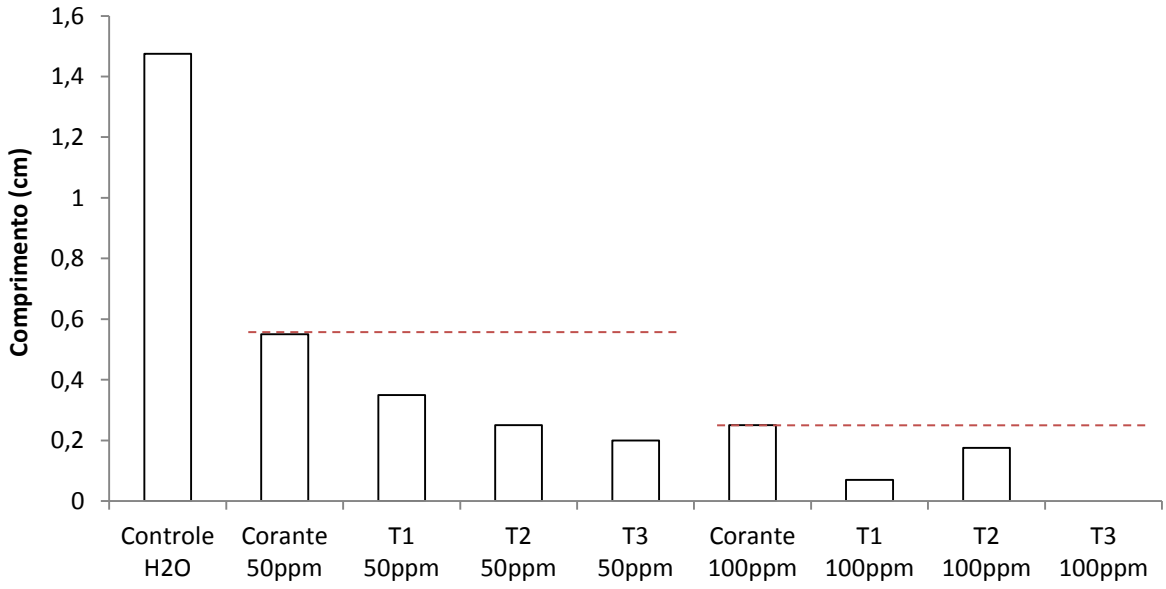


Figura 46: Crescimento vegetal médio para o corante *Reactive Red* 120.

Varshney *et al*. (2013) estudaram a influência de um pré-tratamento com baixa dose de irradiação na degradação microbiana do corante *Reactive Red* 120 usando *Pseudomonas* sp. Tal pesquisa constatou que o uso de radiação gama seguido do tratamento com o microrganismo em meio estático por 96h se mostrou mais eficiente para degradação do corante, assim como na redução da toxicidade. Esse resultado ilustra que a combinação de técnicas pode ser uma alternativa viável não apenas para impulsionar a descoloração, mas também para reduzir o efeito tóxico.

5.5.3 *Direct Yellow* 27

Em relação ao corante *Direct Yellow 27*, os resultados referentes à taxa de germinação indicaram mais uma vez que a presença do corante representou certa letalidade às sementes de alface, assim como o aumento na sua concentração de 50ppm para 100ppm.

As amostras obtidas a partir da fermentação desse corante na concentração de 50ppm se mostraram menos tóxicas que seu respectivo controle, com taxas de germinação de 65%, 75% e 80% contra os 60% da solução não tratada. Isso indica que a descoloração do meio líquido foi acompanhada pela formação de produtos menos tóxicos que a molécula original de corante.

Para a concentração de 100ppm, as taxas de germinação das amostras tratadas ficaram bem próximas a da solução de corante não submetida à degradação pelo fungo, exceto pela triplicata T2 que se mostrou menos tóxica. Justamente essa amostra apresentou elevada descoloração, confirmando que os produtos gerados são menos tóxicos.

Tais resultados podem ser visualizados na Figura 47.

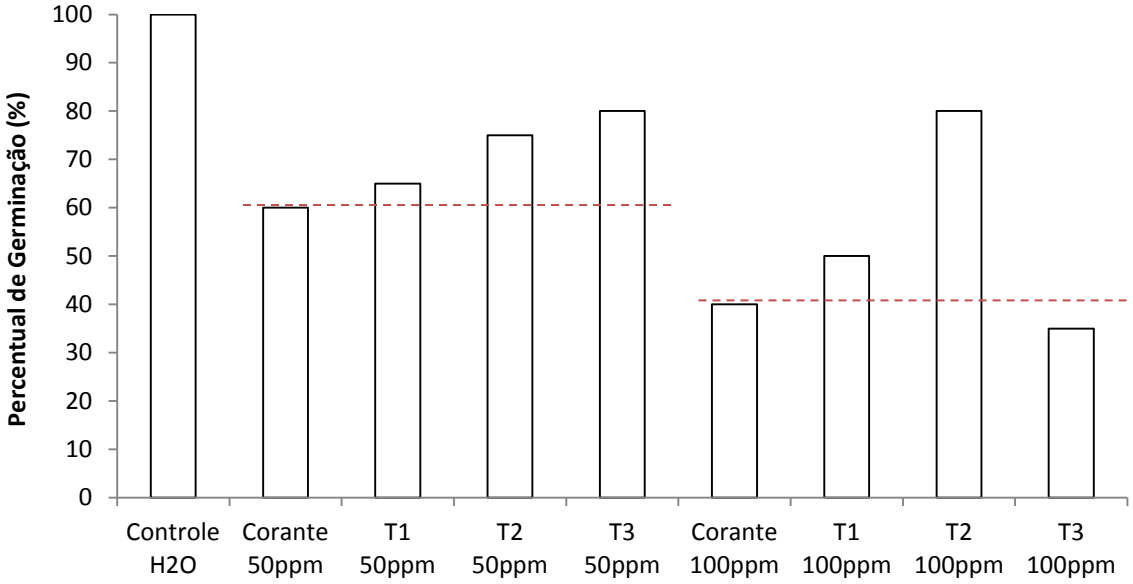


Figura 47: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante *Direct Yellow* 27.

Avaliando o crescimento vegetal, foi observado que as amostras que passaram pelo tratamento microbiológico com o fungo apresentaram valores de comprimento superiores àqueles ostentados pelos controles, como mostrado na Figura 48. Isso indica que os produtos originados da descoloração, além de serem menos tóxicos e menos letais que a molécula de corante original, não prejudicam o desenvolvimento das sementes de alface, sendo uma alternativa de tratamento de efluentes têxteis bastante favorável.

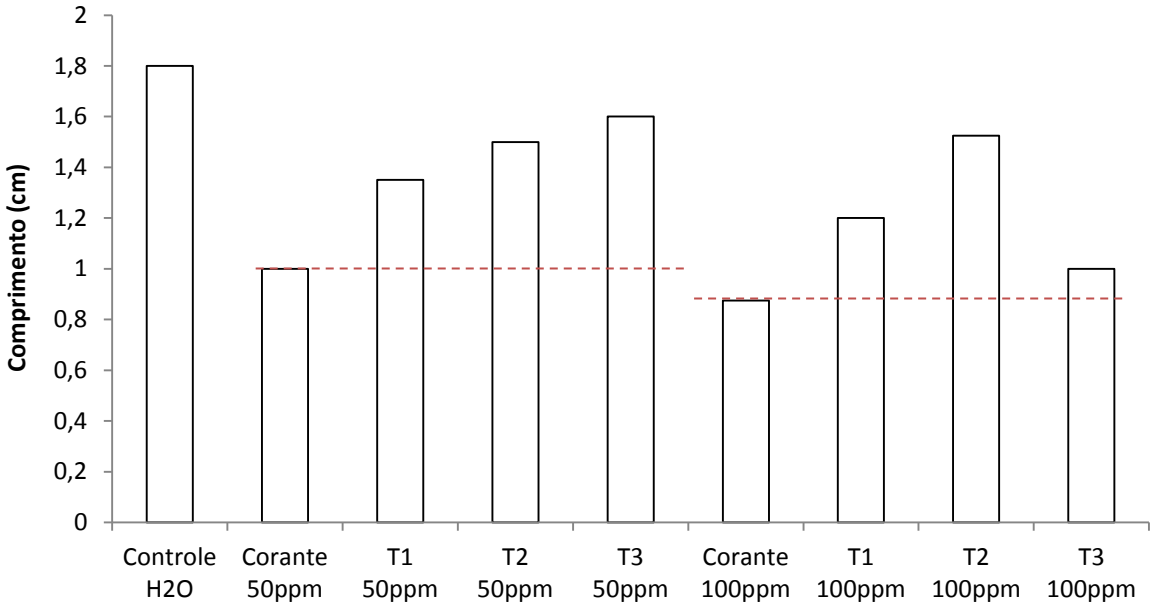


Figura 48: Crescimento vegetal médio para o corante *Direct Yellow* 27.

Os resultados do ensaio de fitotoxicidade para o corante *Direct Yellow* 27 corroboram com aqueles encontrados por Byberg & Cobb (2012) onde, após a fotocatálise com dióxido de titânio, também se notou a redução da toxicidade do referido corante a partir de testes com sementes de alface.

5.5.4 Vermelho Remazol BS

No caso do corante Vermelho Remazol BS, os resultados do teste de fitotoxicidade se mostraram bastante promissores. Na concentração de 50ppm, as amostras que passaram pelo tratamento em sistema submerso foram menos tóxicas que seu respectivo controle, com taxas de germinação de 45%, 40% e 45% contra os 30% da solução não tratada. Isso indica que a descoloração do meio líquido gerou produtos menos tóxicos que a molécula original.

Já para a concentração de 100ppm, as taxas de germinação das amostras tratadas ficaram bem próximas a da solução de corante não submetida à degradação pelo fungo, exceto pela triplicata T3 que se mostrou menos tóxica. Justamente essa amostra apresentou elevada descoloração, confirmando que os produtos gerados são menos tóxicos.

Os resultados referentes à taxa de germinação podem ser visualizados na Figura 49.

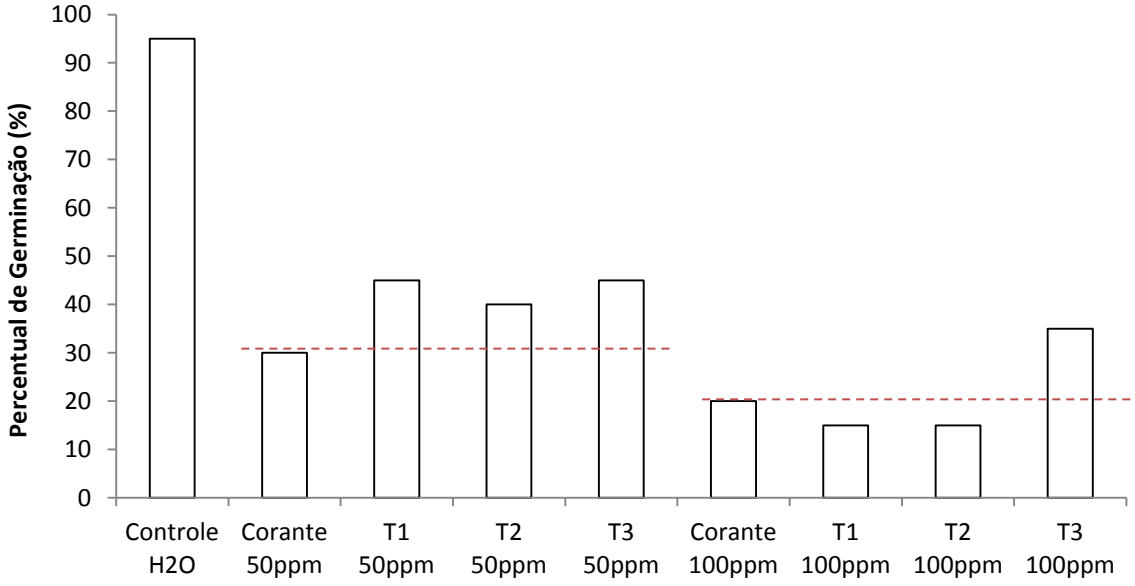


Figura 49: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante Vermelho Remazol BS.

Além disso, todas as amostras apresentaram taxa de germinação inferior ao controle com água, indicando que a presença do corante representou certa letalidade às sementes de alface. Esse comportamento também foi verificado ao se aumentar sua concentração.

A Figura 50 dispõe das informações a respeito do crescimento vegetal médio. Foi observado que, nas amostras tratadas que se mostraram menos tóxicas em relação à germinação das sementes, os valores de comprimento vegetal obtidos foram razoavelmente superiores, não havendo, portanto, efeitos sub-letais. Sendo assim, esses resultados indicam que o tratamento microbiológico para o corante Vermelho Remazol BS se configura como uma técnica bastante promissora.

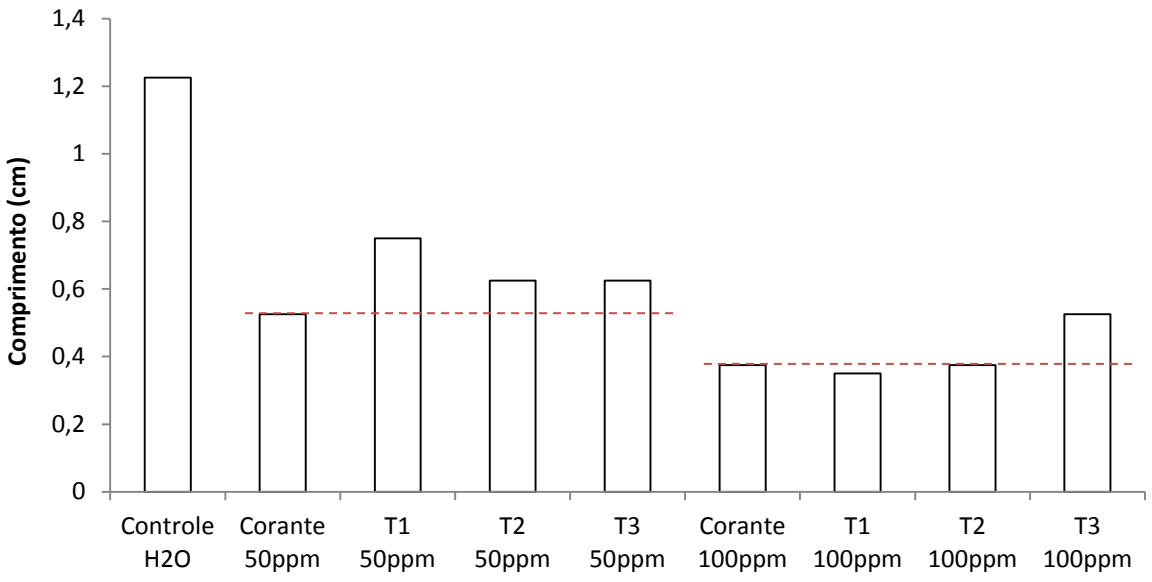


Figura 50: Crescimento vegetal médio para o corante Vermelho Remazol BS.

5.5.5 Preto Biomax RB

Para o corante Preto Biomax RB, o ensaio de fitotoxicidade mostrou que todas as amostras apresentaram taxa de germinação menor que o controle com água, indicando que a presença do corante representou certa letalidade às sementes de alface. Esse comportamento também foi verificado ao se aumentar sua concentração, tendo o percentual de germinação diminuído de 80% na amostra com corante a 50ppm para 30% naquela a 100ppm. Esses resultados estão mostrados na Figura 51.

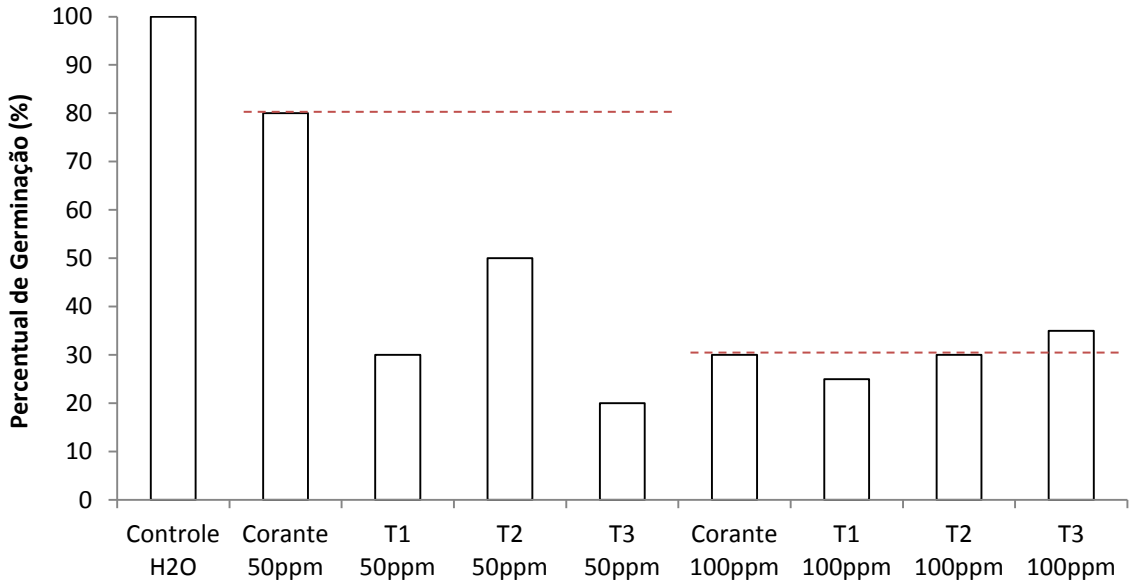


Figura 51: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante Preto Biomax RB.

As amostras com corante na concentração de 50ppm que passaram pelo tratamento fúngico apresentaram taxas de germinação de 30%, 50% e 20%, sendo mais tóxicas que a solução controle cuja germinação atingiu os 80%. Os resultados dos testes de descoloração em sistema submerso mostraram uma elevada redução de cor nessas amostras, demonstrando que a descoloração do meio foi acompanhada das formação de produtos mais tóxicos que a própria molécula original.

De forma geral, tais amostras também apresentaram menor crescimento vegetal quando comparado com o corante original, como pode ser visualizado na Figura 52. Assim, esses resultados indicam que os produtos resultantes da descoloração em sistema submerso apresentaram tanto efeito letal quanto sub-letal.

Já para a concentração de 100ppm, as taxas de germinação das amostras tratadas ficaram bem próximas a do respectivo controle. Isso já era esperado uma vez que os testes em sistema submerso mostraram que praticamente não ocorreu descoloração em nenhuma das amostras. Esse mesmo comportamento também pode ser visualizado quando se analisa o crescimento das sementes de alface, tendo as amostras tratadas apresentado valores bem próximos ao da solução controle, como mostrado na Figura 52.

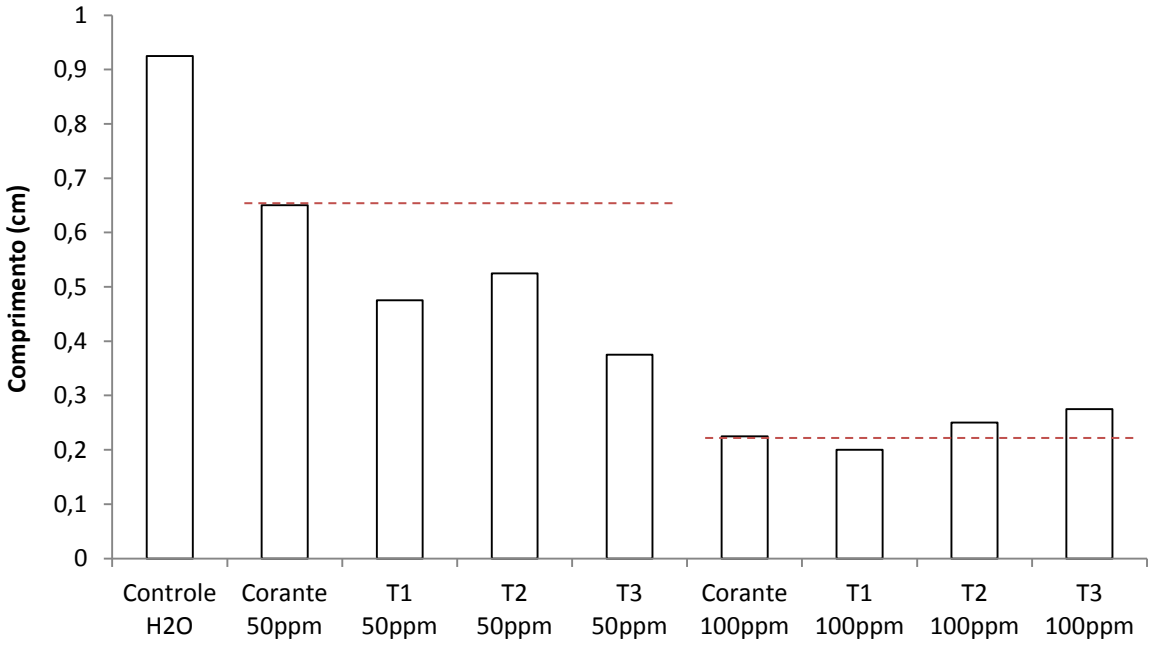


Figura 52: Crescimento vegetal médio para o corante Preto Biomax RB.

5.5.6 Oliva T Coll

No ensaio de fitotoxicidade para o corante Oliva T Coll, os resultados referentes à taxa de germinação indicaram que a presença do corante representou certa letalidade às sementes de alface, já que todas as amostras apresentaram taxa de germinação menor que o controle com água.

Além disso, foi possível perceber que o aumento na concentração do corante também ocasionou maior letalidade, pois o percentual de germinação da amostra com corante a 100ppm foi menor que o da amostra com corante a 50ppm, como pode ser visualizado na Figura 53.

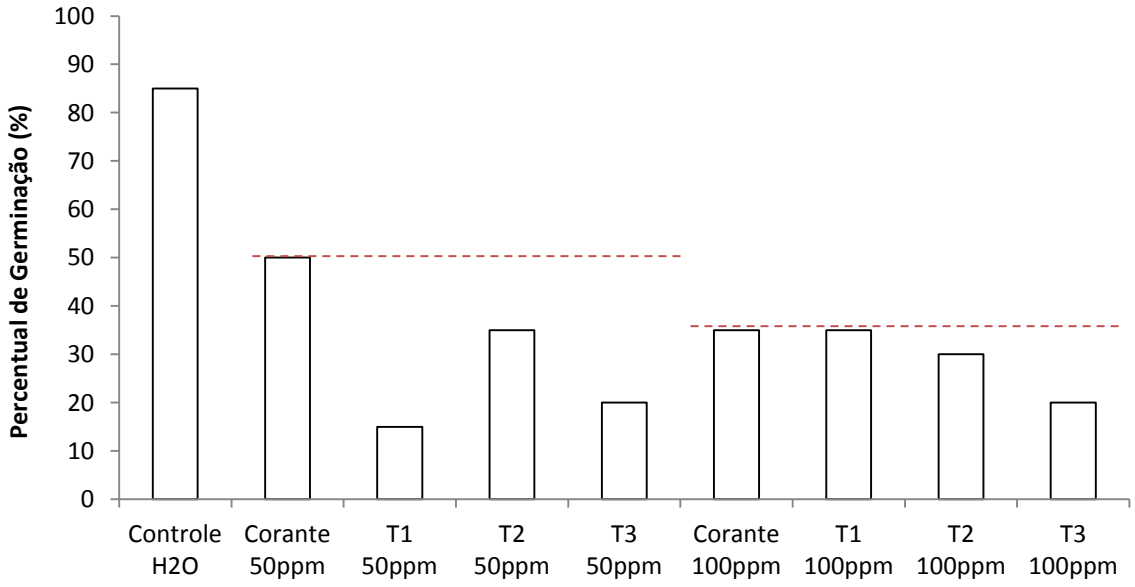


Figura 53: Taxa de germinação do teste de fitotoxicidade para o corante Oliva T Coll.

Na concentração de 50ppm, as amostras que passaram pelo tratamento em sistema submerso mostraram-se mais tóxicas que seu respectivo controle, com taxas de germinação de 15%, 35% e 20% contra os 50% da solução não tratada. Já para a concentração de 100ppm, as taxas de germinação das amostras tratadas ficaram bem próximas a da solução de corante não submetida à degradação pelo fungo, exceto pela triplicata T3 que se mostrou ligeiramente mais tóxica. Justamente essas amostras apresentaram elevada descoloração, demonstrando que os produtos gerados são mais tóxicos que o próprio corante.

Os resultados referentes ao crescimento vegetal estão apresentados na Figura 54.

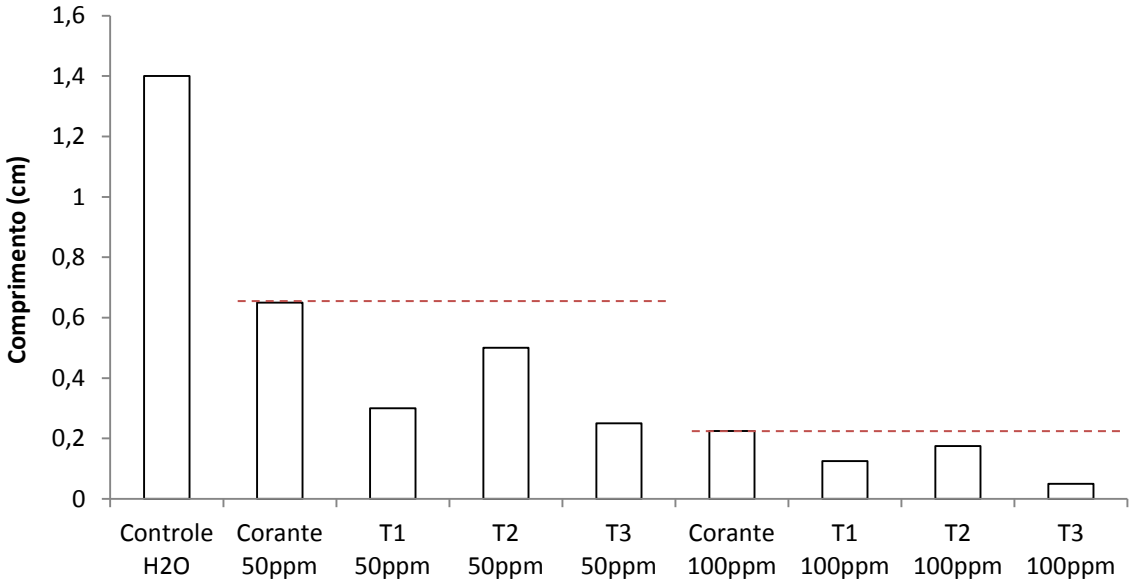


Figura 54: Crescimento vegetal médio para o corante Oliva T Coll.

Como é possível perceber, as amostras que passaram pela fermentação em sistema submerso também apresentaram menor crescimento vegetal quando comparado com o corante original. Assim, esses resultados comprovam que os produtos resultantes da degradação são mais tóxicos que o próprio corante, apresentando tanto efeito letal às sementes de alface quanto sub-letal ao prejudicar seu desenvolvimento.

6 CONCLUSÃO

- Considerando as percentagens de descoloração por sistema submerso, a proposta de utilização do fungo *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 para a remoção dos corantes pode ser considerada como uma alternativa promissora para os processos de biorremediação de efluentes têxteis utilizando fungo filamentoso.

- As percentagens de remoção de cor utilizando os corantes na concentração de 100ppm foram menores que aquelas observadas na concentração de 50ppm, confirmando a influência do aumento da concentração do corante na capacidade de descoloração.

- A concentração média de biomassa nos ensaios em sistema submerso variou de 2,00 g L^{-1} a 3,40 g L^{-1}, evidenciando a alta capacidade de crescimento fúngico mesmo em condições não otimizadas.

- A significativa adsorção dos corantes no micélio fúngico observada durante a fermentação indica que o processo de descoloração foi influenciado pela capacidade de fixação do corante à biomassa, sendo esse possivelmente o principal mecanismo envolvido na remoção de cor.

- Não foi detectada atividade para a enzima lacase, indicando que o fungo não foi capaz de produzi-la nas condições experimentais adotadas.

- A avaliação da toxicidade em semente de *Lactuca sativa* indicou que as amostras submetidas à fermentação em sistema submerso para os corantes *Reactive Black* 5, *Direct Yellow* 27 e Vermelho Remazol BS se mostraram menos tóxicas; enquanto que para os corantes *Reactive Red* 120, Preto Biomax RB e Oliva T Coll os extratos tratados se mostraram mais tóxicos.

- O aumento da toxicidade verificado nos testes com semente de alface para algumas amostras submetidas à fermentação em sistema submerso sugere que o corante tenha sido degradado em moléculas mais tóxicas. Isso confirma que, além do processo de adsorção, algum outro mecanismo enzimático atuou no processo de descoloração.

7 PROPOSTAS PARA PESQUISAS FUTURAS

- Execução de novos ensaios visando à otimização do processo de descoloração de corantes pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium* ME-*446*, abordando fatores como: concentração de inóculo, composição do meio, temperatura e velocidade de agitação.

- Realização de ensaios enzimáticos para identificar e quantificar a atividade de outras enzimas que possam estar envolvidas no processo de descoloração de corantes pelo fungo.

- Confirmar a biodegradação dos corantes a partir da identificação dos compostos intermediários resultantes do processo em sistema submerso.

- Estudo da potencialidade de outros fungos e possibilidade de prática de um consórcio fúngico para obter uma melhor remoção de cor.

- Estudo do desempenho do *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 em um efluente têxtil real.

- Realizar ensaios em um biorreator de bancada para verificar a influência da ampliação de escala em uma possível aplicação na indústria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQUIM. Associação Brasileira de Indústrias Químicas. Disponível em: <http://www.abiquim.or.br>. Acesso em: 08 out. 2017.

Abit. Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. Disponível em: <http://www.abit.org.br/ >. Acesso em: 19 out 2017.

ADOSINDA, M., MARTINS, M., FERREIRA, I. C., SANTOS, I. M., QUEIROZ, M. J., LIMA, N. **Biodegradation of bioaccessible textile azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium*.** Journal of Biotechnology, v. 89, p. 91–98, ago. 2001.

ALCÂNTARA, M. R., DALTIN, D**. A química do processamento têxtil.** Química Nova, v.19, p. 320-330. 1996.

ALMEIDA, A.C.M. PEDRO, R.J. CORSO, C.R. **Remoção de corante têxtil por turfa nativa através de adsorção em diferentes concentrações hidrogeniônicas.** Arquivos do Instituto Biológico, v.71, p.1-749. 2004.

ALMEIDA, E. J. R. **Estudo da biorremediação dos azo corantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B por fungos filamentosos em solução simples e solução ninária associado a testes de toxicidade com *Lactuca sativa* e *Artemia salina*.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 2013.

ALVIN, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A; LIMA, C. A. de A.; BARBOSA, S. **Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium* cepa L**. Ambi-Agua, Taubaté, v. 6, p. 255-265. 2011.

ANDRADE, R. C. B.; SOUZA, M. F. L.; COUTO, E. C. G. **Influência de efluentes têxteis e alimentícios sobre o metabolismo e propriedades físicas e químicas do rio Piauitinga (Sergipe).** Química. Nova, v. 21, p. 424-427. 1998.

ATLAS, R.M.; CERNIGLIA, C.E. **Bioremediation of petroleum pollutants. Diversity and environmental aspects of hydrocarbon biodegradation**. BioScience. v. 45, p. 332-338. 1995.

BAÊTA, B. E. L. **Tratamento de efluentes de indústria têxtil utilizando reatores anaeróbios de membrana submersa (SAMBR) com e sem carvão ativado em pó (CAP).** Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Outro Preto, Minas Gerais. 2012.

BANAT, I. M.; NIGAM, P.; SINGH, D.; MARCHANT, R. **Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review.** Bioresource Technology, v. 58, p. 217-227. 1996.

BANKS, M. K.; SCHULTZ, K. E. **Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils.** Water Air and Soil Pollution, v. 167, p 211-219. 2005.

BARBOSA, L. **A indústria têxtil e de confecções no Brasil e no mundo.** Brasil Têxtil 2012, Projetex - Projetos e Assessorias Têxteis LTDA. Recife. 2013.

BARCELLOS, I.O. **Química Têxtil II.** 183 p., Blumenau. 2004.

BASTIAN, E. Y. O.; ROCCO, J. L .S. **Guia Técnico Ambiental da Indústria Têxtil - Série P + L.** São Paulo: CETESB: SINDITÊXTIL. 2009.

BEZERRA, F.D. **Análise retrospectiva e prospectiva do setor têxtil no Brasil e no nordeste.** Informe Macroeconomia, Indústria e Serviços, Fortaleza, Ano VIII, n. 2. 2014.

BITENCOURT, M. P. **Reaproveitamento do lodo gerado no processo de tratamento dos efluentes de lavanderia (tingimento e lavagem).** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Maringá, Paraná. 2002.

BLACKSMITH INSTITUTE. **The world's worst pollution problems: assessing health risks at hazardous waste sites.** 2012. Disponível em: < http://www.worstpolluted.org>. Acessado em: 20 nov 2017.

BONONI, V. L. R. **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas.** Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 184 p. 1999.

BOURBONNAIS, R. E.; PAICE, M. G. 1990. **Oxidation of non-phenolic substrates: An expanded role for laccase in lignin biodegradation.** FEBS Letters, v. 267, p. 99-102. 1990.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais.** 18 ed., São Paulo: CETESB. 1993.

BROWN, M. A.; DEVITO, S. C. **Predicting azo dye toxicity.** Critical Reviews in Environmental Science and Technology, v. 23, p. 249-324. 1993.

BUMPUS, J. A. *et al.* **Oxidation of persistent environmental pollutants by a white-rot fungus.** Science, v. 228, n. 4706, p. 1434-1436. 1985.

BYBERG, R.; COBB, J. **Comparison of photocatalytic degradation of dyes in relation to their structure.** Environmental Science and Pollution Research, v. 20, p. 3570-3581. 2013.

CAMERON, M. D.; TOMIFEEVSKI, S.; AUST, D.S. **Enzimology of *Phanerochaete chrysosporium* with respect to the degradation of recalcitrant compounds and xenobiotics.** Applied and Environmental Microbiology, v. 54, p. 751-758. 2000.

CAMMAROTA, M. C. **EQB-485 Engenharia do Meio Ambiente.** Notas de aula – Tratamento de efluentes líquidos. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2011.

CARVALHO, C. C. **Produção de ligninases por basidiomicetos através de fermentação em estado sólido, caracterização e aplicação das enzimas.** Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 2005.

CATANHO, M. et al. **Avaliação dos tratamentos eletroquímico e fotoeletroquímico na degradação de corantes têxteis.** Química Nova, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 983-989. 2006.

CHAGAS, E. P.; DURRANT, L. R. **Decolorization of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajor caju*.** Enzyme and Microbial Technology, v. 29, n. 8-9, p. 473-477. 2001.

CHANG, L. W.; MEIER, J. R.; SMITH, M. K. **Application of plant and earthworm bioassay to evaluate remediation of a lead-contaminated soil.** Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 32, p. 166-171. 1997.

CHAPLA, T. E.; CAMPOS, J. B. **Allelopathic evidence in exotic guava (*Psidium guajava* L.).** Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 53, p. 1359-1362. 2010.

CHIRON, S; ALBA, A. F.; RODRIGUEZ, A.; CALVO, E. G. **Pesticide chemical oxidation: State-of-the-art**. Water Research, v. 34, p. 366-377. 2000.

CHU, H. C.; CHEN, K. M. **Reuse of activated sludge biomass: Removal of basic dyes from wastewater by biomass**. Process Biochemistry, v. 37, p. 595 - 600. 2002.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução n° 430/11. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluente.** Brasília, SEMA. 2011. Disponível em: <http://www.mma.gov.br>. Acesso em: 17 out 2017.

COGO, M. C**. Estudo de caracterização e disposição dos recursos de uma indústria têxtil do estado do Rio Grande do Sul.** Química Nova, v. 34, p. 68-72. 2011.

COUTO, S. R.; RIVELA, I.; MUNOZ, M. R.; SANROMAN, A. **Stimulation of ligninolytic enzyme production and the ability to decolourise Poly R-478 in semi-solid-state cultures of *Phanerochaete chrysosporium*.** Bioresource Technology, v. 74, p. 159-164, set.2000.

CRINI, G. **Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review**. Bioresource Technology, v. 97, n. 9, p. 1061-1085. 2006.

CUNHA, B. M. **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaios de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina* e *Lactuca sativa*.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

DE JONG, E.; FIELD, J. M.; DE BONT, J. A. M.. **Aryl alcohols in the physiology of ligninolytic fungi.** FEMS Microbiology Reviews, v. 13, p. 153-188. 1994.

DIETRICH, D.; HICKEY, W. J.; LAMAR, R. **Degradation of 4,4'- dichlorobiphenyl, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl, and 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*.** Applied and Environmental Microbiology, v. 61, p. 3904-3909. 1995.

DINIZ, G. F. D. **Emprego de fungos na descoloração e redução da toxicidade de corantes têxteis.** Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Agrônoma) - Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas. 2015.

DOS SANTOS, A. B.; CERVANTES, F.J.; VAN LIER, J. B. **Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewater: perspectives for anaerobic biotechnology.** Bioresource Technology, v. 98, p. 2369-2385. 2007.

DUENSER, H. **Textile wastewater treatment**. Indian Textile Journal, v.102, p. 80-96. 1992.

EERD, L. L. V., HOAGLAND, R. E., ZABLOTOWICZ, R. M., HALL, J. C. **Pesticide metabolism in plants and microorganism.** Weed Sciences, v. 51, p. 472-495. 2003.

EL BOURAIE, M.; EL DIN, W. S. **Biodegradation of reactive black 5 by *Aeromonas hydrophilastrain* isolated from dye-contaminated textile wastewater.** Sustainable Environment Research, v. 26, p. 209-216. 2016.

ENAYATIZAMIR, N.; TABANDEH, F.; RODRIGUEZ-COUTO, S.; YAKHCHALI, B.; ALIKHANI, H. A.; MOHAMMADI, L. **Biodegradation pathway and detoxification of the diazo dye reactive black 5 by *Phanerochaete chrysosporium*.** Bioresource Technoogy, v. 102, p. 10359-10362. 2011.

ESPÓSITO, E.; AZEVEDO, J.L. **Fungos: Uma introdução a Biologia, Bioquímica e Biotecnologia.** 2 ed, Caxias do Sul: EDUCS. 2010.

FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; HERNANDO, D.; AGUERA, A.; CACERES, J.; MALATO, S. **Toxicity assays: a way for evaluating AOPs efficiency.** Water Research, v. 36, p. 4255-4262. 2002.

FIEMG. Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais e Fundação Estadual do Meio Ambiente. **Guia Técnico Ambiental da Indústria Têxtil.** 2014. Disponível em: <http://www.feam.br. Acesso em: 20 nov 2017.

FJÄLLBORG, B.; LI, B.; NILSSON, E.; DAVE, G. **Toxicity identification evaluation of five metals performed with two organisms (*Daphnia magna* and *Lactuca sativa*).** Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 50, p. 196-204. 2006.

FREITAS, A. M. **Utilização de processos oxidativos avançados para remediação de águas contaminadas por toxinas produzidas por cianobactérias.** Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2008.

FREITAS, K. R. **Caracterização e reuso do efluente do processo de beneficiamento da indústria têxtil.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2002.

FUJITA, R.M.L.; JORENTE, M.J. **A indústria têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural.** ModaPalavra E-Periódico, v.8, n.15, p.153 - 174, jan./jul. 2015.

GARCIA, T. A. **Purificação e caracterização das lacases de *Pycnoporus sanguineus*.** Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília. 2006.

GINOS, A.; MANIOS, T.; MANTZAVINOS, D. **Treatment of olive mil effluents by coagulation-flocculation-hydrogen peroxide oxidation and effect on phytotoxicity.** Journal of Hazardous Materials, v. B133, p. 135-142. 2006.

GLENN, J. K.; GOLD, M. H. **Decolorization of several dyes by a lignin degrading basidiomycete *Phanerochaete Chrysosporium*.** Applied and Environmental Microbiology, v. 45, p. 1741-1747. 1983.

GONG, R.; DING, Y.; LI, M.; YANG, C. **Utilization of powdered peanut hull as biosorbent for removal of anionic dyes from aqueous solution**. Dyes Pigments, v. 64, p. 187-192. 2005.

GOTEX SHOW. **Panorama do setor têxtil e de confecção.** 2017. Disponível em: < http://gotexshow.com.br/mercado/>. Acessado em: 18 out 2017.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V.B. **Corantes têxteis**. Química Nova, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 71-78, jan. 2000.

HALLER, M. **Tratamento de efluentes.** Textilia, São Paulo: Editora Brasil Têxtil Ltda, v. 7, p. 48-49. 1993.

HAMMEL, K. E. *et al.* **Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons and dibenzo[p]dioxins by *Phanerochaete chrysosporium*.** Journal of Biological Chemistry, v. 261, n. 36, p. 16948-16952. 1991.

HARAZONO, K.; WATANABE, Y.; NAKAMURA, K. **Decolorization of azo dye by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete sordida* and by its manganese** peroxidase. Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 95, p. 455-459. 2003.

HART, E. **Reciclagem de água, um programa economicamente viável e tecnicamente inovativo.** Tecnologia Meio Ambiente. Química Têxtil, v. 1, p. 07-10. 1994.

HASSEMER, M. E. N. **Oxidação fotoquímica – UV/H2O2 – para degradação de poluentes em efluentes da indústria têxtil.** Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2006.

HASSEMER, M. E. N. SENS, M. L. **Tratamento do efluente de uma indústria têxtil: Processo físico-químico com ozônio e coagulação/floculação.** Engenharia Sanitária e Ambiental, Brasil, v. 7. 2002.

HATAKKA, A. **Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation**. FEMS Microbiology Reviews, v. 13, p. 125-135. 1994.

HIBBETT, D. S. et al. **A higher-level phylogenetic classification of the fungi**. Mycological Research, v. 111, p. 509-547. 2007.

INABA, S.; TAKENAKA, C. **Effects of dissolved organic matter on toxicity and bioavailability of cooper for lettuce sprouts.** Environment International, v. 31, p. 603-608. 2005.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Termo de referência para a constituição de um GT para discutir sobre parâmetros, padrões e gestão de efluentes.** Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/EFABF603/Ofi_08_2008DIQUAIBAMA_Completo.pdf>. Acesso em: 17 out 2017.

INEA. Instituto Estadual do Ambiente. **Diretriz DZ-205.R-6. Diretriz de controle de carga orgânica em efluentes líquidos de origem industrial.** Rio de Janeiro. 2007. Disponível em: <http://www.inea.rj.gov.br>. Acesso em: 17 out 2017.

INEA. Instituto Estadual do Ambiente. **Norma Técnica NT-202.R 10. Estabelece os critérios e padrões para lançamento de efluentes líquidos.** Rio de Janeiro. 1986. Disponível em: <http://www.inea.rj.gov.br>. Acesso em: 17 out 2016.

KADAM, A. A. TELKE, A. A. JAGTAP, S. S.; GOVINDWAR, S. P. **Decolorization of adsorbed textile dyes by developed consortium of *Pseudomonas* sp. SUK1 and *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146 under solid state fermentation.** Journal of Hazardous Materials, v. 189, p. 486-494. 2011.

KAUSHIK, P.; MALIK, A. **Fungal dye decolourization: recent advances and future potential.** Environment International, v. 35, p. 127-141. 2009.

KHAN, S.; MALIK, A. **Degradation of reactive black 5 dye by a newly isolated bacterium *Pseudomonas entomophila* BS1.** Canadian Journal of Microbiology, v. 62, p. 220-232. 2016.

KHELIFI, E. et al. **Aerobic decolourization of the indigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors.** Journal of Hazardous Materials, v. 152, n. 2, p. 683-689. 2008.

KIRBY, N.; MULLAN, G. Mc; MARCHANT, R. **Decolourisation of an artificial textile effluent by *Phanerochaete chrysosporium.*** Biotechnology Letters**,** v. 17, p. 761-764, jul. 1995.

KIRK, T. K.; FARRELL, R. L. **Enzymatic ‘‘combustion’’: the microbial degradation of lignin.** Annual Review of Microbiology, v. 41, p. 465-505. 1987.

KNIE, J. L. W.; LOPES, B. W. E. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis: FATMA/GTZ. 2004.

KOMILIS, D. P.; TZIOUVARAS, I. S. **A statistical analysis to assess the maturity and stability of six composts.** Waste Management, v. 29, p. 1504-1513. 2009.

KUMARAN, N. S.; DHARANI, G. **Decolorization of textile dyes by white rot fungi *Phanerocheate chrysosporium* and *Pleurotus sajor-caju***. Journal of Apllied Technology in Environmental Sanitation, v. 1, n. 4, p. 361-370. 2011.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURAN, N. **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis.** Química Nova, v. 25, p. 78-82. 2002.

LAGUNAS, F. G.; LIS, M. J. **Tratamento de efluentes na indústria têxtil algodoeira.** Química Têxtil, São Paulo: ABQCT, v. 50, p. 6-15. 1998.

LAITANO, K. S.; MATIAS, W. G. **Testes de toxicidade com *Daphnia magna*: uma ferramenta para a avaliação de um reator experimental UASB.** Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology, v. 1, p. 43-47. 2006.

LEÃO, M. M. D.. **Controle ambiental na indústria têxtil: acabamento de malhas.** 1 ed., Projeto Minas Ambiente, Belo Horizonte: Segrad, 356 p. 2002.

LEE, Y. H.; PAVLOSTATHES, S. G. **Decolorization and toxicity of reactive anthraquinone textile dyes under methanogenic conditions.** Water Research, v. 38, p. 1838-1852. 2004.

LEITE, A. S. **Indústria têxtil: mapeamento dos grupos estratégicos para uma análise estrutural**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.

MACHADO, L. L. **Utilização de compósito carvão/Fe2O3 e pirita como catalisadores da peroxidação de efluentes têxteis.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2007.

MARTÍ, E.; SIERRA, J.; SÁNCHEZ, M.; CRUAÑAS, R.; GARAU, M. A. **Ecotoxicological test assessmente of soils polluted by chromium (VI) or pentachlorophenol.** Science of the Total Environment, v. 378, p.53-57. 2007.

MATHUR, N.; BHATNAGAR, P.; BAKRE, P. **Assessing mutagenicity of textile dyes from Pali (Rajasthan) using AMES bioassay.** Applied Ecology and Environmental Research, v. 4, p. 111-118. 2005.

MELO, A. R. **Uso integrado e eficiente da água nas indústrias têxteis catarinenses.** Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2008.

MIQUELANTE, F. A. **Prospecção de fungos filamentosos halotolerantes para uso na descoloração de corantes têxteis.** Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

MONTEIRO, M. S.; LOPES, T.; MANN, R. M.; PAIVA, C.; SOARES, A. M. V. M.; SANTOS, C. **Microsattellite instability in *Lactuca sativa* chronically exposed to cádmium.** Mutation Research, v. 672, p. 90-94. 2009.

MOREIRA, S. L. N. **Enzimas lignofílicas produzidas por *Psilocybecastanella* CCB444 em solo contaminado com hexaclorobenzeno**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 2006.

NIEBISCH, C.H. **Biodegradação do corante têxtil remazol azul por *Lentinus crinitus, Lepista sordida* e *Hydnopolyporus fimbriatus*.** Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2009.

OLIVEIRA, L. H. S.; BARRETO, M. B.; VITALLLI, V. M. V.; MACHADO, K. M. G.; MATHEUS, D. R. **Descoloração de corantes sintéticos por basidiomicetos tropicais brasileiros.** Naturalia, Rio Claro, v.33, p. 85-99. 2010.

OLIVEIRA, S. C.; VON SPERLING, M. **Análise da confiabilidade de estações de tratamento de esgotos.** Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 12, n. 4, p. 389-388, out./dez. 2007.

O'NEILL, C. et al. **Colour in textile effluents-sources, measurement, discharge consents and simulation: a review.** Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 74, n. 11, p. 1009-1018. 1999.

ORLANDELLI, R. C.; SPECIAN, V.; FELBER, A.C.; PAMPHILE, J.A. **Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações**. Revista Saúde e Biologia, v.7, n.3, p.97-109, set./dez. 2012.

PALÁCIO, S. M.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; OLIVEIRA, C. C.; BORBA, F.H.; SILVA JR., F. G. **Toxicity assessment from electro-coagulation treated-textile dye wastewaters by bioassays**. Journal of Hazardous Materials, v. 172, p. 330-337. 2009.

PAUL, J.; KADAM, A. A.; GOVINDWAR, S. P.; KUMAR, P.; VARSHNEY, L. **An insight into the influence of low dose irradiation pretreatment on the microbial decolouration and degradation of Reactive Red-120 dye.** Chemosphere, v. 90, p.1348-1358. 2013.

PEDROSA, I, **Da cor à cor existente.** 10° ed. Rio de Janeiro, SENAC Nacional – SENAC Editoras, p. 256. 2009.

PEIXOTO, F.; MARINHO G.; RODRIGUES, K. **Corantes têxteis: Uma Revisão.** HOLOS, v. 5, n. 29, p. 98-106. 2013.

PEREIRA, G. S. **Materiais e Processos Têxteis.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Santa Catarina. 2009.

PERES, C. S.; ABRAHÃO, A. J. **Características e sistemas de tratamento de águas residuais das indústrias têxteis.** Química Têxtil, v. 21, p. 73-80. 1998.

PERMPORNSAKUL, P.; PRASONGSUK, S.; LOTRAKUL, P.; EVELEIGH, D. E.; KOBAYASHI, D. Y.; IMAI, T.; PUNNAPAYAK, H. **Biological treatment of reactive black 5 by resupinate white rot fungus Phanerochaete sordida PBU 0057.** Polish Journal of Environmental Studies, v. 25, n. 3, p. 1167-1176. 2016.

PIZATO, E. **Avaliação da capacidade de remoção de corante têxtil pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI em efluente sintético e industrial.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná. 2013.

PUERARI, R. C. **Avaliação toxicológica de nanopartículas de óxido de cromo (III) em minicrustáceo *Daphnia magna*, bactéria *Aliivibrio fischeri* e semente de *Lactuca sativa*.** Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2014.

QUADROS, S. S. **Tratamento e reutilização de efluentes têxteis gerados no tingimento de tecidos de algodão.** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Regional de Blumenau, Santa Catarina. 2005.

RAMALHO, P. A. C. F. **Degradation of dyes with microorganisms: Studies with Ascomycete yeasts.** Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade do Minho, Portugal. 2005.

RIBEIRO, L. G. **Introdução à tecnologia têxtil.** Rio de Janeiro: Editora SENAI/CETIQT. 2005.

RIZZO, A. C.; LEITE, S. G. F.; SORIANO, A. U.; SANTOS, R. L. C.; SOBRAL, S. G. L. **Biorremediação de solos contaminados por petróleos: ênfase no uso de biarretores**. Belo Horizonte: CETEM/MCT. 2006.

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.** ElSevier, Coloraine, v. 77. 2001.

SAFNI, S.; DELIZA, D.; ANGGRAINI, D.; DEWI, R .S.; ULIA, H.; WELLIA, D.V. **Degradation of direct red-81 and direct yellow-27 by photolysis with UV-light and solar irradiation using C-N-codoped TiO_2.** Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, v. 8, p. 30-35. 2016.

SANIN, L. B. B. **A indústria têxtil e o meio ambiente**. Química Têxtil, p. 13-34, mar. 1997.

SANTHI, T.; MANONMANI, S. **Uptake of cationic dyes from aqueous solution by biosorption using granulized *Annona squmosa* seed.** Journal of Chemistry, v. 6, p.1260-1266. 2009.

SANTOS, G. C.; CORSO, C. R. **Comparative analysis of azo dye biodegradation by *Aspergillus oryzae* and *Phanerochaete chrysosporium*.**Water, Air & Soil Pollution, v. 225, p. 1-11. 2014.

SHAH, V.; BELOZEROVA, I. **Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds**. Water Air and Soil Pollution, v. 197, p. 143-148. 2009.

SILVA, J. H.; MONTEIRO, R. T. **Degradação de xenobióticos por fungos filamentosos isolados de areia fenólica**. Revista Brasileira de Ciências do Solo, Viçosa, v. 24, p. 669-674. 2000.

SILVA, R. R.; COELHO, G. D. **Fungos: principais grupos e aplicações biotecnológicas.** São Paulo: Instituto de Botânica. 2006.

SILVA, K. K. de O. S. **Caracterização do efluente líquido no processo de beneficiamento do índigo têxtil.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2007.

SILVEIRA, S. S. B.; SANTANA, F. S. P. **Poluição Hídrica**. In: MARGULIS, S. (ed.) Meio Ambiente: Aspectos Técnicos e econômicos. Rio de Janeiro: IPEA/PNUD. 1990.

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

SOARES, J. L. **Remoção de corantes têxteis por adsorção em carvão mineral ativado com alto teor de cinzas.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 1998.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. **Ensayo de Toxicidad aguda com semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*).** In: CASTILLO, G. (ed.) Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluacion de Calidad de Águas: Estandarización, intercalibracíon, resultados y aplicaciones. Canadá: IDRC/IMTA, v. 4, p. 71-79. 2004.

SOLER, C. R. **Tratamento de efluente de indústria têxtil por reator biológico com leito móvel.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná. 2013.

SOUZA, S. A. M., STEIN, V. C., CATTELAN, L. V., BOBROWSKI, V. L., ROCHA, B. H. G. **Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais**. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v. 5, n. 1. 2005.

SPADARO, J. T.; GOLD, M. H.; RENGANATHAN, V. **Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*.** Applied and Environmental Microbiology,v. 58, p. 2397-2401, ago. 1992.

STORTI, S. **Relatório Interno Marisol**. 2001.

SU, W.; LIN, C. **Fungal e bacterial synergism enhanced decolorization of reactive red 120 by response surface methodology.** International Biodeterioration & Biodegradation, v. 82, p. 1-8. 2013.

SUDHA, M. SARANYA, A. SELVAKUMAR, G. SIVAKUMAR, N. **Microbial degradation of azo ayes: a review.** International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, v. 3. 2014.

SYED, K.; YADAV, J. S. **Review: P450 monooxygenases (P450ome) of the model white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*.** Critical Review in Microbiology, v. 38, p. 339-63. 2012.

TASKIN, M.; ERDAL, S. **Reactive dye bioaccumulation by fungus *Aspergillus niger* isolated from the effluent of sugar fabric-contaminated soil.** Toxicology and Industrial Health, v. 26, p. 239-47. 2010.

TERAMOTO, H,; TANAKA,H,;WARIISHI,H. **Fungal cytochrome P450s catalyzing hydroxylation substituted toluenes to form their hydroxmethyl derivatives.** Microbiology Letters, v. 23, p. 255-260. 2004.

THURSTON, C. F. **The structure and function of fungal laccases.** Microbiology, v. 140, p. 19-21. 1994.

TIEPO, E. N.; CORRÊA, A. X. R.; RESGALLA JR., C.; COTELLE, S.; FÉRARD, J.; RADETSKI, C. M. **Terrestrial short-term ecotoxicity of a green formicide.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 73, p. 939-943. 2010.

TOLEDO, R. A. S. **Tecnologia da Reciclagem**. Química Têxtil, p. 8-14, mar. 2004.

TOTHILL, I. E.; TURNER, A. P. F. **Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment.** TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 15, p. 178-188. 1996.

TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 4 ed., São Paulo: Editora Atheneu. 2004.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAK KA, A.; ITAVAARA, M. **Biodegradation of lignin in a compost environment: a review.** Bioresource Technology, v. 72, p. 169-183. 2000.

VALLE, C. E. **Como se prepara as normas ISO 14000.** Qualidade ambiental: O desáfio de ser competitivo protegendo o meio ambiente, 2 ed., São Paulo: Pioneira. 2000.

WANG, Z.; XIAO, B.; SONG, L.; WU, X.; ZHANG, J.; WANG, C. **Effects of microcystin-LR, linear alkylbenzene sulfonate and their mixture on lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds and seedlings.** Ecotoxicology, v. 20, p. 803-814. 2011.

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. **White-rot fungi and their enzymes for treatment of industrial dye effluents.** Biotechnology Advances, v. 22, p. 161-187. 2003.

WTO. **World Trade Statistical Review 2017**. 2017. Disponível em: <https://www.wto.org>. Acessado em: 18 out 2017.

YANG, S.; SODANEATH, H.; LEE, J.; JUNG, H.; CHOI, J.; RYU, H. W.; CHO, K. **Decolorization of acid, disperse and reactive dyes by *Trametes versicolor* CBR43.** Journal of Environmental Science and Health, v. 52, p. 862-872. 2017.

YESILADA, O.; ASMA, D.; CING, S. **Descolorisation of the textile dye by fungal pellets**. Process Biochemistry, v. 38, p. 933-938. 2003.

ŽALTAUSKAITĖ, J.; ČYPAITĖ, A. **Assessment of landfill leachate toxicity using higher plants.** Environmental Research - Engineering and Management, v. 46, n. 4, p. 42-47. 2008.

ZANONI, M. V. B.; CARNEIRO, P. A. **O descarte dos corantes têxteis**. Ciência Hoje, v. 29, n. 174, p. 62-63. 2001.

APÊNDICE A – MANUSCRITO

Decolorization of Textile Dyes by *Phanerochaete chrysosporium* Under Submerged System

Alana Pereira de Almeida[1], Rodrigo Pires do Nascimento[1]*, Bernardo Dias Ribeiro[2]

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Escola de Química, Av. Athos da Silveira Ramos, 149, 21941-909, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

[1]Laboratório de Ecologia e Processos Microbianos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

[2]Laboratório de Engenharia de Sistemas Biológicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

*Corresponding author. Mailing address: Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Bloco E, E-108, 21941-909, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Phone: + 55 21 3938-8863. E-mail: rodrigopires@eq.ufrj.br

Este manuscrito será submetido à revista *International Biodeterioration & Biodegradation*.

ABSTRACT

The textile industry can be considered as one of the most polluting industrial sectors in the world, generating a high volume of effluents which are often released into the environment without the proper treatment or complete dye removal. Azo dyes, which are characterized by azo groups (—N═N—), are frequently used in the textile industry. Particular concern should be given to its toxicity and difficulty of degradation. Among the different wastewater treatment methods available, biological treatment has been extensively studied. The aim of the present study was to evaluate the biodegradation potential of *Phanerochaete chrysosporium* to decolorize different azo dyes under submerged fermentation at the concentrations of 50 µg mL^{-1} and 100 µg mL^{-1}. Biodegradation tests were performed within 10 days. Aliquots were removed at determined time intervals (3, 5, 7 and 10 days) and the absorbance values obtained with UV-VIS spectrophotometry were used to determine the percentage of dye discoloration. The toxicity of the solution after the biodegradation test was evaluated in *Lactuca sativa* seeds. *P. chrysosporium* demonstrated considerable potential regarding the biodegradation of dyes in wastewater. These results may contribute toward improving effluent treatment systems in the textile industry.

Keywords Bioremediation, textile dyes, filamentous fungi, *Phanerochaete chrysosporium*

1. INTRODUCTION

The wastewater of textile industry is one of the major source of pollution worldwide. The pollutants found in this effluent are primarily persistent organic substances, such as dyes and salts, giving the effluent a low degree of biodegradability (Fu et al., 2011). Dyes are visible compounds that, when released into the environment, can cause the appearance of color in rivers, hindering the penetration of sunlight and thereby reducing the process of photosynthesis among different organisms in these ecosystems (Wang et al., 2005). Furthermore, such compounds can be toxic, carcinogenic or mutagenic to various life forms (Suteu et al., 2009; Zaharia et al., 2009). Azo dyes are the class of dyes with the largest number of representatives, comprising of about 60-70% of all textile dyestuffs used (Hunger, 2003; Van der Zee et al., 2003). The main characteristic of azo dyes is the presence of one or more azo bond (—N═N—) in their structure which, added to sulfonated substitutions, contribute to its resistance (Martins et al., 2001; Stolz, 2001; Hu and Wu, 2001). Conventional physiochemical techniques for dye effluent treatment are inefficient in the removal of color, as well as produce excess of sludge and are ineffective for broad range of dyes (Robinson et al., 2001; Singh et al., 2015). In an attempt to mitigate these disadvantages, bioremediation processes have emerged as a self-sustained and eco-friendly approach. *Phanerochaete chrysosporium* is the most widely studied white rot fungus in terms of the biodegradation of xenobiotic (Robinson et al., 2001). This microorganism has been used in the biodegradation of gaseous chlorobenzene (Wang et al., 2008), the pesticide endosulfan (Kullman and Matsumura, 1996), the insecticide heptachlor (Arisoy and Kolankaya, 1998), and a number of different dyes (Cripps et al., 1990; Paszczynski and Crawford, 1995; Martins et al., 2001; Wesenberg et al., 2003; Santos et al., 2009). The ligninolytic system of this fungus is represented mainly by the enzymes laccase, lignin peroxidase, and manganese peroxidase, which are produced in media containing limited sources of carbon and nitrogen. These enzymes have the ability to depolymerize lignin and a variety of other compounds (Stolz, 2001; Teixeira et al., 2010). Thus, the aim of the present study was to evaluate the biodegradation potential of *P. chrysosporium* to decolorize different textile dyes under submerged fermentation and examine the effect of dye concentration in this process. The toxicity of the solution after the biodegradation test was also evaluated in *Lactuca sativa* seeds to investigate if the intermediates formed are more toxic than the parent dyes.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Dyes.

Reactive Black 5 (RB5) (Color Index 20505 and CAS 17095-24-8), Reactive Red 120 (RR120) (Color Index 292775 and CAS 61951-82-4) and Direct Yellow 27 (DY27) (Color Index 13950 and CAS 10190-68-8) were azo dyes obtained from the Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc. Chemical structures of these dyes are shown in Fig. 1.

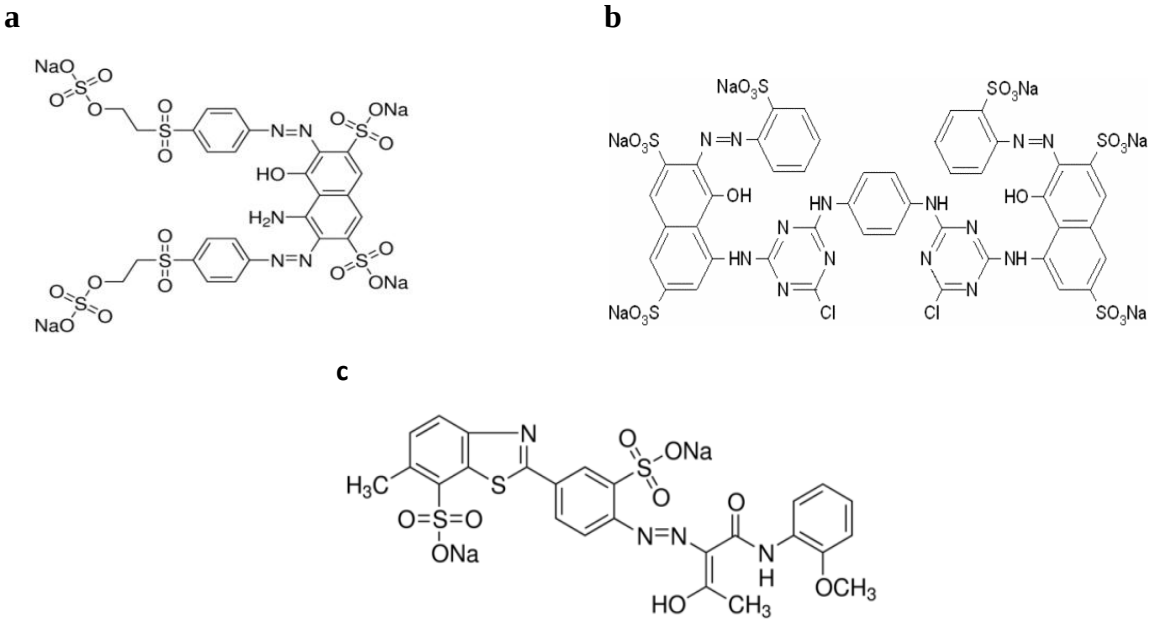


Fig. 1 Chemical structures of RB5 (a), RR120 (b) and DY27 (c).

2.2. Microorganism and culture conditions.

P. chrysosporium ME-446 was obtained from the American Type Culture Collection (ATTC). The fungal strain was routinely maintained and propagated in Petri dishes with potato dextrose agar (PDA) medium. The culture was grown at 28°C for 10 days for obtaining fungal biomass.

2.3. Dye biodegradation test in liquid medium.

Two slots of *P. chrysosporium* on PDA (approximately 5 cm) were transferred to 500 mL Erlenmeyer flasks containing 120 mL potato dextrose broth enriched with trace element solution ($CuSO_4$ 0.2 g L^{-1}; $ZnSO_4$ 0.14 g L^{-1}; $FeSO_4$ 0.5 g L^{-1}; $MnSO_4$ 0,16 g L^{-1}) and supplemented with 50 µg mL^{-1} and 100 µg mL^{-1} of the textile dyes, in triplicate. The flasks were incubated in the dark at 28ºC and 180 rpm for 10 days. Non-inoculated culture medium

was used as control. Aliquots (3 mL) were removed at determined time intervals (3, 5, 7 and 10 days), centrifuged at 8,000 rpm for 10 min and were analyzed using a UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1800). The scan occurred at wavelengths of 700 to 200 nm in quartz cuvettes with an optical path of 5 mm, using distilled water as blank. The discoloration efficiency was calculated based on the absorbance changes at the wavelengths corresponding to maximum absorbance (Parshetti et al., 2007; Taha et al., 2014):

$$\eta = (A_0 - A)/A_0 \text{ x } 100\% \qquad \text{Eq.1}$$

where η is the discoloration efficiency; A_0 is the initial absorbance, and A is the final absorbance.

2.4. Toxicity assessment with seeds from *L. sativa*.

Considering the high degree of sensitivity of plants to toxic substances, the aim of the toxicity assessment was to determine the inhibition effect in seeds from *L. sativa* (Feltrin®) after the biodegradation treatments. For such, Petri dishes were lined with filter paper, to which 10 seeds and 4 mL of the test solution were added. The plates were individually wrapped in plastic film to avoid the evaporation of moisture and placed in a climatic chamber at 28 °C in the absence light for 10 days. The negative control was distilled water and untreated dye solutions at a concentration of 50 ppm and 100 ppm were also tested. Two replicates were performed for each solution. At the end of the exposure period, the number of germinated seeds was counted and expressed as the percentage germination. The length of the plantlets was also measured.

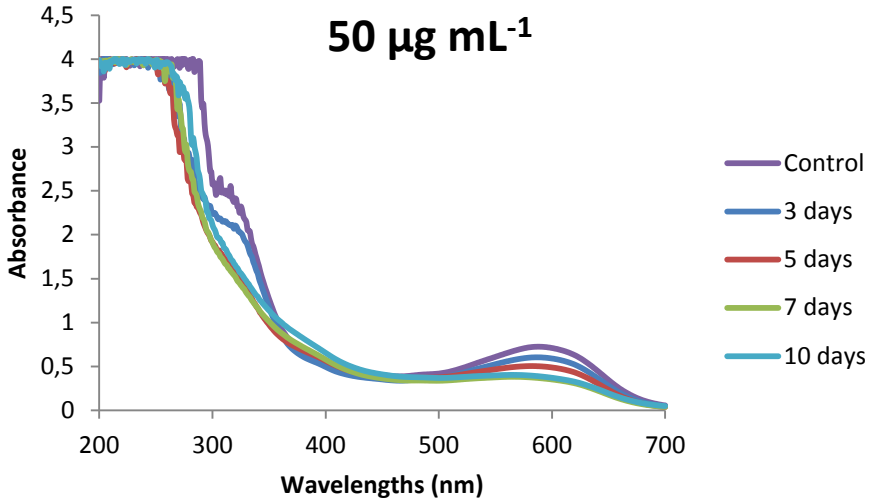
3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Dye biodegradation test in liquid medium

Subpanels a and b of Fig. 2 display the absorption spectra of samples treated with *P. chrysosporium* for the dye RB5 at concentrations of 50 µg mL-1 and 100 µg mL-1, respectively. The spectra correspond to the control and after 3, 5, 7 and 10 days of treatment with the fungus. The changes in the absorbance values allow the identification of evidence of biodegradation. It was possible to observe the absorbance at 597 nm, that is the wavelength

corresponding to the chromophore group, and the absorbance at 320 nm, that is the wavelength corresponding to the azo group, decreased with each scan for both concentrations, demonstrating the removal of the dye from the solution. At dye concentration of 50 µg mL^{-1}, the maximum discoloration efficiency was approximately 50% after 7 days, remaining constant until the end of treatment. However, at dye concentration of 100 µg mL^{-1}, a discoloration efficiency of 90% was obtained after 10 days of treatment, proven by the disappearance of the chromophore peak.

a



b

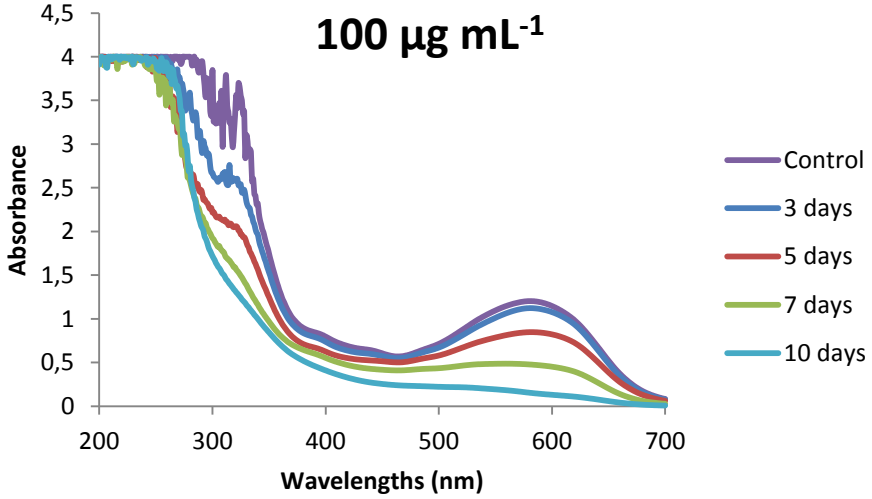
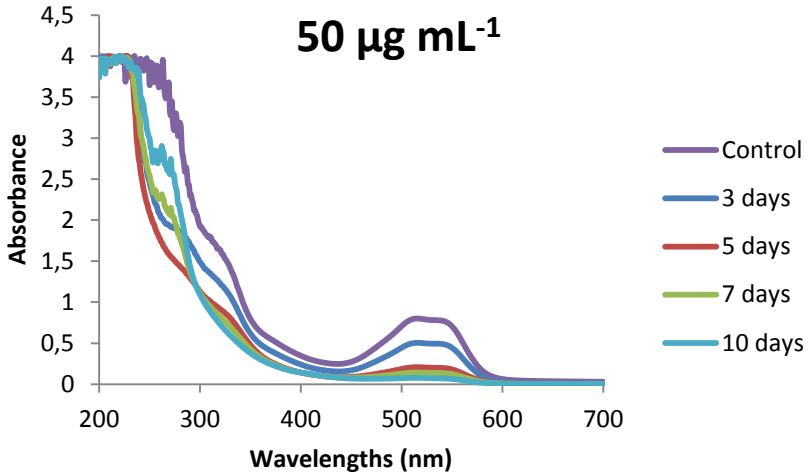


Fig. 2 Absorption spectra of RB5 at concentration of 50 µg mL^{-1} (a) and 100 µg mL^{-1} (b) after interaction with *P. chrysosporium*, with scans performed at 3, 5, 7 and 10 days.

For the dye RR120 at concentration of 50 µg mL^{-1}, a considerable discoloration was observed already with 3 days of treatment, as demonstrated in Fig. 3a by the decrease in the chromophore peak at 512 nm, indicating the fungus was able to break bonds of the dye molecule within a short contact time. The discoloration efficiency was gradually increased over the time, reaching the maximum value of 95% after 10 days of treatment, when the chromophore peak completely disappeared. Changes in the absorbance values at 320 nm were also observed, suggesting that the molecular structure of the dye has changed. On the other hand, at dye concentration of 100 µg mL^{-1}, no greater removal occurred even after 10 days of treatment, as shown in Fig. 3b. In this case, the degradation ability was totally influenced by the dye concentration. Wesenberg et al., 2003; Jin et al., 2007; Ilyas and Rehman, 2013 have discussed the effects of increasing initial dyes concentrations on discoloration efficiency by various fungal strains.

a



b

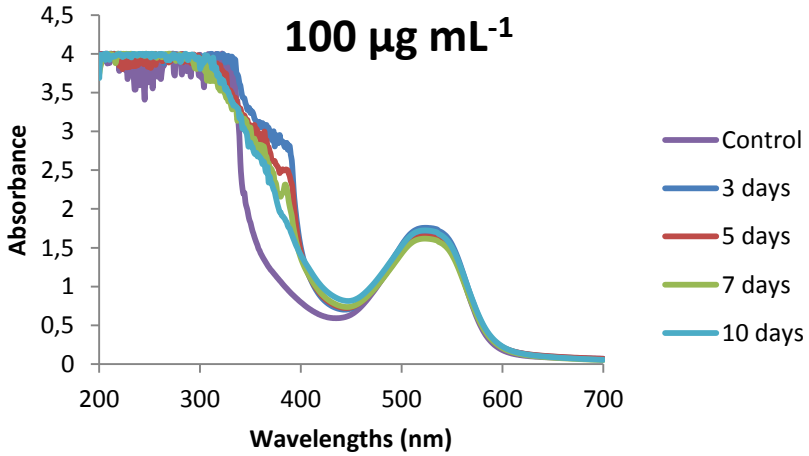
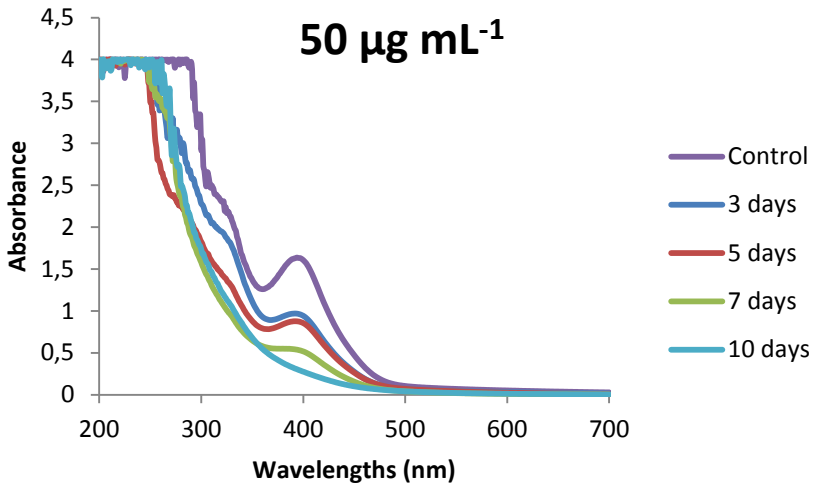


Fig. 3 Absorption spectra of RR120 at concentration of 50 µg mL^{-1} (a) and 100 µg mL^{-1} (b) after interaction with *P. chrysosporium*, with scans performed at 3, 5, 7 and 10 days.

The fungus *P. chrysosporium* was also able to decolorize the dye DY27 in both concentrations tested, as demonstrated in Fig. 4. After 3 days of treatment at dye concentration of 50 µg mL^{-1}, the samples treated demonstrated a different spectrum from the control, with the chromophore peak (393 nm) considerably smaller. The maximum discoloration efficiency of approximately 76% was obtained after 10 days of treatment. Increasing the concentration to 100 µg mL^{-1}, the maximum discoloration efficiency was about 53% for the same period of time, confirming the relationship between concentration and degradability. The absorbance values at 320 nm, that is the wavelength corresponding to the azo group, were also decreased, suggesting that the molecular structure of the dye has changed.

a



b

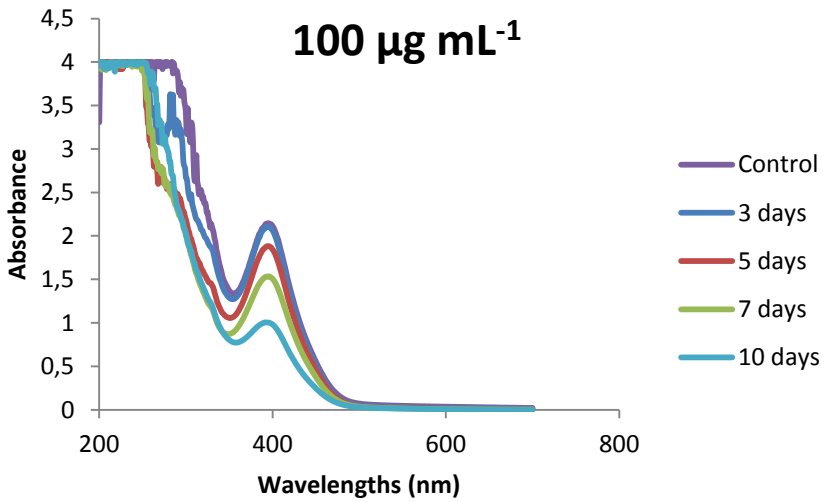


Fig. 4 Absorption spectra of DY27 at concentration of 50 µg mL^{-1} (a) and 100 µg mL^{-1} (b) after interaction with *P. chrysosporium*, with scans performed at 3, 5, 7 and 10 days.

3.2. Toxicity assessment with seeds from *L. sativa*

The results obtained in the toxicity bioassay are presented in Table 1. We can see that the presence of the dyes represented certain lethality to the lettuce seeds and hindered its growth, since all the samples presented germination rate and vegetal growth lower than the control with water even after the treatment with the fungus. In addition, it was possible to notice that the increase in dye concentration also caused higher toxicity. By establishing the relationship between these indices and the phytotoxicity of the set, we can conclude that treated samples for RB5 and DY27 were less toxic than the respective control, indicating that the dyes degradations generated non-toxic metabolites. Instead, treated samples for RR120 were more toxic, signalizing that the degradation generated more toxic intermediates than the original dye molecule. This can be explained by the fact that RR120 has a very complex chemical composition with several aromatic rings and two azo groups. Santos and Corso, 2014 confirmed that the degradation of the dye Direct Blue 71, which has three azo bonds, by the fungus *P. chrysosporium* generated as primary metabolites toxic amines from FTIR spectra. Besides that, chlorotriazinyl group present in its chemical structure are known for its toxicity.

Table 1 Toxicity assessment with seeds from *L. sativa*

Dyes / Test Solution	**Germinated Seeds (%)**			**Vegetal Growth (cm)**		
	RB5	RR120	DY27	RB5	RR120	DY27
Negative control (distilled water)	100	80	100	1,15	1,48	1,8
Dye solution control at 50 µg mL^{-1}	50	45	60	0,45	0,55	1,0
Dye solution control at 100 µg mL^{-1}	35	25	40	0,3	0,25	0,87
Dye solution at 50 µg mL^{-1} after treatment	62	22	73	0,6	0,27	1,48
Dye solution at 100 µg mL^{-1} after treatment	70	18	55	0,71	0,08	1,2

4. CONCLUSION

The current study has demonstrated that the fungus *P. chrysosporium* was an efficient decolourizer of azo dyes Reactive Black 5, Reactive Red 120 and Direct Yellow 27. It was verified the influence of the initial dye concentration on the degradation efficiency by the fungus. UV-Vis spectrophotometer analyses confirm the susceptibility of the dyes tested to degradation by *P. chrysosporium.* Toxicity tests indicated that the degradation products of Reactive Black 5 and Direct Yellow 27 were non-toxic, demonstrating considerable potential for the treatment of textile effluents through biodegradation. On the other hand, degradation of Reactive Red 120 generated toxic metabolites, requiring deeper studies.

ACKNOWLEDGMENT

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

Arisoy, M., Kolankaya, N., 1998. Biodegradation of heptachlor by *Phanerochaete chrysosporium* ME 446: the toxic effects of heptachlor and its metabolites on mice. Turkish Journal of Biology, 22, 427–434.

Cripps, C., Bumpus, J. A., Aust, S. D., 1990. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. Applied and Environmental Microbiology, 56, 1114–1118.

Fu, Z., Zhang, Y., Wang, X., 2011. Textiles wastewater treatment using anoxic filter bed and biological wriggle bedozone biological aerated filter. Bioresource Technology, 102, 3748–3753.

Hu, A. T. L.,Wu, S. C., 2001. Assessment of the azo dye RP2B on the growth of a nitrogen Fixing cyanobacterium: Anabaena sp. Bioresource Technology, 77, 93–95.

Hunger, K., 2003. Industrial dyes: chemistry, properties, applications. Weinheim: Wiley-VCH.

Kullman, S. W., Matsumura, F., 1996. Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan. Applied Environmental Microbiology, 62, 593–600.

Ilyas, S., Rehman, A., 2013. Decolorization and detoxification of Synozol red HF-6BN azo dye, by *Aspergillus niger* and *Nigrospora* sp. Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng. 10 (1), 12-22. http://dx.doi.org/10.1186/1735-2746-10-12.

Jin, X. C., Liu, G. Q., Xu, Z. H., Tao, W. Y., 2007. Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6. Appl. Microbiol. Biotechnol. 74 (1), 239-243. http://dx.doi.org/10.1007/s00253-006-0658-1.

Martins, M. A. M., Ferreira, I. C., Santos, I. M., Queiroz, M. J., Lima, N., 2001. Biodegradation of bioaccessible textile azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. Journal of Biotechnology, 89, 91–98.

Parshetti, G. K., Kalme, S. D., Gomare, S. S., Govindwar, S. P., 2007. Biodegradation of Reactive blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. Bioresour. Technol. 98 (18), 3638-3642. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.017S.

Paszczynski, A., Crawford, R. C., 1995. Potential for bioremediation of xenobiotic compounds by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Biotechnology Progress, 11, 368–379.

Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., Nigam, P., 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. Bioresour. Technol. 77 (3), 247-255. c10.1016/S0960-8524(00)00080-8.

Santos, G. C., Pedro, R. J., Rodrigues, H. D. P., Mitter, E. K., & Corso, C. R., 2009. Análise de biodegradabilidade dos corantes têxteis procion blue MX-G e crystal scarlet em solução ácida por P*hanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus oryzae*. O Biologico, 71, 192.

Santos, G. C., Corso, C. R. , 2014. Comparative Analysis of Azo Dye Biodegradation by *Aspergillus oryzae* and *Phanerochaete chrysosporium*. Water Air Soil Pollut, 225, 2026. http://dx.doi.org/10.1007/s11270-014-2026-6

Singh, R. L., Singh, P. K., Singh, R. P., 2015. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes: A review. Int. Biodeterior. Biodegrad. 104, 21-31. http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.04.027.

Stolz, A., 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. Applied Microbiology and Biotechnology, 56, 69–80.

Suteu, D., Zaharia, C., Muresan, A., Muresan, R., Popescu, A., 2009. Using of industrial waste materials for textile wastewater treatment. Environ. Eng. Manag. J. 8 (5), 1097-1102.

Taha, M., Adetutu, E. M., Shahsavari, E., Smith, A. T., Ball, A. S., 2014. Azo and anthraquinone dye mixture decolourization at elevated temperature and concentration by a newly isolated thermophilic fungus *Thermomucor indicaeseudaticae*. Int. J. Environ. Sci. Technol. 2 (1), 415e423. http://dx.doi.org/10.1016/ j.jece.2014.01.015.

Teixeira, R. S. S., Pereira, P. M., Ferreira-Leitão, V., 2010. Extraction and application of laccases from shimeji mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) residues in decolorization of reactive dyes and a comparative study using commercial laccase from *Aspergillus oryzae*. Enzyme Research, 2010, 1–8.

Van der Zee, F. P., Bisschops, I. E. A. E., Blanchard, V. G., Bouwman, R. H. M., Lettinga, G., Field, J. A., 2003. The contribution of biotic and abiotic processes during azo dye reduction in anaerobic sludge. Water Research, 37, 3098–3109.

Wang, C., Xi, J. Y., Hu, H. Y., Wen, X. H., 2008. Biodegradation of gaseous chlorobenzene by white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Biomedical and Environmental Sciences, 21474–478.

Wang, S., Boyjoo, Y., Choueib, A., Zhu, Z. H., 2005. Removal of dyes from aqueous solution using fly ash and red mud. Water Research, 39, 129–138.

Wesenberg, D., Kyriakides, I., Agathos, S. N., 2003.White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. Biotechnology Advances, 22, 161–187.

Zaharia, C., Suteu, D., Muresan, A., Muresan, R., Popescu, A., 2009. Textile wastewater treatment by homogeneous oxidation with hydrogen peroxide. Environ. Eng. Manag. J. 8 (6), 1359-1369.