

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL
MESTRADO EM ENGENHARIA CIVIL - SANEAMENTO AMBIENTAL

CARLOS RONALD PESSOA WANDERLEY

Aspergillus niger AN 400 COMO INÓCULO DE REATORES EM BATELADA PARA
REMOÇÃO DO CORANTE VERMELHO DO CONGO EM MEIO AQUOSO
SINTÉTICO

FORTALEZA-CE
2007

CARLOS RONALD PESSOA WANDERLEY

Aspergillus niger AN 400 COMO INÓCULO DE REATORES EM BATELADA PARA
REMOÇÃO DO CORANTE VERMELHO DO CONGO EM MEIO AQUOSO
SINTÉTICO

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Área de concentração - Saneamento Ambiental, da Universidade Federal de Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota – DEHA - UFC

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Glória Maria Marinho da S. Sampaio - CEFETCE

FORTALEZA-CE

2007

CARLOS RONALD PESSOA WANDERLEY

Aspergillus niger AN 400 COMO INÓCULO DE REATORES EM BATELADA PARA
REMOÇÃO DE CORANTE VERMELHO DO CONGO EM MEIO AQUOSO
SINTÉTICO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja biblioteca de Pós-Graduação do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental encontra-se à disposição dos interessados. A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita em conformidade com as normas da ética científica.

Dissertação defendida e aprovada em ____/____/____ pela banca julgadora:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof^a. Dr^a. Glória Maria Marinho Silva Sampaio (Co-orientadora)
Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará – CEFETCE

Prof. Dr. Rinaldo dos Santos Araújo
Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará – CEFETCE

À minha amada esposa, Kelly Pessoa e
ao meu amado filho, Rafael Pessoa.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que tem me proporcionado.

À minha esposa, Kelly Pessoa pelo apoio e amor incondicional e ao nosso filho, Rafael Pessoa.

Ao prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota pela orientação, amizade, dedicação, paciência, por ter me aceitado como orientando em um momento difícil do meu mestrado e ter acreditado no meu trabalho.

À prof^a. Dr^a. Glória Maria Marinho Silva Sampaio pela co-orientação, carinho, respeito, dedicação, paciência, incentivo para realização deste trabalho e, acima de tudo, pela sua amizade e pelos sábios conselhos em um momento crucial do mestrado.

Ao prof. Dr. Rinaldo dos Santos Araújo por aceitar participar da banca examinadora e pela grande ajuda e importantes sugestões nos estudos de cromatografia deste trabalho.

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará (CEFETCE), sob direção do prof. Dr. Cláudio Ricardo, pelo apoio durante a fase experimental da pesquisa, disponibilizando material, pessoal e as instalações, com destaque para o Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), Laboratório de Tecnologia Química (LTQ) e Laboratório de Química Analítica (LQA).

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento – CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos meus pais, Antônio Carlos e Valéria Albanita, aos meus irmãos, Israel e Rayanne, e à minha avó, dona Zeneida Pessoa pelo amor e torcida.

Ao meu tio e padrinho, Sérgio Pessoa pelo carinho, amizade e confiança nos meus estudos.

Ao meu avô, Osmundo Pessoa (*in memorian*), à minha tia e madrinha, Marly Pessoa (*in memorian*) e ao meu tio, Welson Pessoa (*in memorian*).

Ao meu tio, Osvaldo Pessoa pela amizade, companheirismo e horas de descontração nos finais de semana.

Ao prof. José Carlos (sogrão), dona Socorro (sogra), Kláudio (cunhado) e Karyny (cunhada) pelo carinho e incentivo.

Ao grande amigo e irmão, Ricardo Bastos pela amizade sincera, apoio, companheirismo e conselhos.

Aos grandes amigos, Edson Jr. (cumpade) e João Paulo Angelim pelas horas de descontração nas cadeiras de mestrado.

Ao grande amigo, Mário Neto pelos ensinamentos, conselhos e experiências trocadas durante grande parte do mestrado.

Ao amigo, Alex Miranda pelos ensinamentos no laboratório e preciosos conselhos durante parte do mestrado.

Aos colegas do DEHA e da EMBRAPA: Alex, Carlos Henrique, Edson Jr., Mayara, Wagner, Marianna, Ionete, Régis, João Paulo, Emília, Vanessa Ueta, Assis Bezerra, Mário Neto, Othávio Luís, Antônio, Marília, Jônas, Cláudia Caixeta, Cléa, Nicolas, Regilany, Lucinda, Liana e Giovanna.

Aos bolsistas do CEFETCE, Genilson e Marcus, que me ajudaram durante o experimento, demonstrando extrema competência.

Aos companheiros do Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM): Priscila, Germana, Paulo, Emília, Carla, Eloíza, Zuleika, Wilame, Marcus e Genilson.

Ao amigo, Alexandre pela grande ajuda na tradução do abstract.

À Dr^a. Iolanda Cristina Silveira Duarte pela análise microbiológica e identificação dos fungos.

A todo corpo docente do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) - UFC.

Aos funcionários do DEHA: Erivelton, Dália e Xavier, pelo apoio.

Aos amigos Marcelo Santos, Ivan Camuça, Artur Forte, Edney Almeida, Iala, Enderson Almeida, Anelize, Marcela, Michele, Cléber Mählmann, Thiago Hardi, Kilson Dias, Rogério Pacciulli e Eduardo Pimentel, pela grande torcida.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização da pesquisa e a elaboração deste trabalho.

“Se consegui enxergar mais longe, é porque
estava apoiado sobre ombros de gigantes.”

Isaac Newton

RESUMO

A espécie *Aspergillus niger* AN 400 foi inoculada em reatores em batelada com o objetivo de remover corante vermelho do congo de meio sintético e estudar a eficiência do tratamento na presença e ausência de glicose e o efeito da imobilização da biomassa sobre a otimização do processo. Foram utilizados 84 reatores, confeccionados em vidro e vedados com tampa rosqueável, e com volume útil de 1,5 L, sendo o ar fornecido por mini-compressores de ar. O experimento abrangeu período de 25 dias e os reatores foram agrupados de acordo com sua respectiva função em: 14 reatores de controle sem meio suporte; 14 reatores de controle com meio suporte; 14 reatores com biomassa fúngica dispersa; 14 reatores com biomassa fúngica dispersa e adição de 1 g/L de glicose; 14 reatores com biomassa imobilizada e 14 reatores com biomassa imobilizada e adição de 1 g/L de glicose. Os resultados obtidos mostraram que a maior eficiência de remoção do corante ocorreu nos reatores contendo biomassa imobilizada, com meio com glicose (87%) e meio sem glicose (85%). A glicose, na concentração utilizada, não influenciou na eficiência do processo. A remoção de matéria orgânica, em termos de DQO, não acompanhou a remoção do corante, o que foi atribuído à provável presença de subprodutos da degradação do corante e compostos excretados no meio pelos microrganismos. A imobilização da biomassa nas espumas de poliuretano foi determinante para a eficiência do processo, uma vez que os fungos estavam estabelecidos na forma de biofilme, representando um mecanismo contra o efeito tóxico do poluente.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, glicose, biomassa dispersa, biomassa imobilizada, vermelho do congo.

ABSTRACT

The species *Aspergillus niger* AN 400 has been inoculated in batch in order to remove Congo Red dye from the synthetic environment and study the treatment efficiency in the presence and absence of glucose and the biomass immobilization effect on the process optimization. It has been applied 84 reactors, produced and held in a screw top container of glass, which had a useful capacity of 1,5 L, whilst the air was supplied by small compressors. The experiment lasted a period of 25 days and the reactors without support medium; 14 control reactors with dispersed fungal biomass on which was added glucose (1 g/L); 14 reactors with immobilized fungal biomass and 14 reactors with immobilized fungal biomass on which was added glucose (1 g/L). The results obtained demonstrated that the greatest efficiency in removing the dye occurred in the reactors containing immobilized biomass in a environment with glucose concentration (87%) or not (85%). The glucose considering the utilized concentration has not performed any influence on the process efficiency. The organic matter removal which was assigned to the likely presence of by products originated by the dye and compounds expelled in the environment by microorganisms. The immobilization of the biomass in the polyurethane foams was determinant to the process efficiency as fungus was in a biofilm shape, representing a mechanism against the toxic effect of the pollutant.

Keyword: *Aspergillus niger*, glucose, dispersed biomass, immobilized biomass, congo red.

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Características dos efluentes gerados nas etapas do processo têxtil	6
Tabela 3.2: Macronutrientes e sua função no metabolismo fúngico.....	18
Tabela 3.3: Micronutrientes requeridos pelos fungos, suas fontes e funções	19
Tabela 3.4: Exemplos de materiais suporte usados em estudos de tratamento de águas residuárias	27
Tabela 3.5: Trabalhos utilizando fungos para a remoção de corantes de águas residuárias têxteis.	30
Tabela 4.1: Constituição química da solução de Vishniac	35
Tabela 4.2: Composição da água residuária sintética têxtil em cada reator	38
Tabela 4.3: Variáveis determinadas e métodos utilizados	39
Tabela 5.1: Variação da eficiência (%) de remoção do corante nos reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG.....	41
Tabela 5.2: Comparação da DQO nas amostras bruta e filtrada no 25º dia da operação em batelada.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1: Estrutura química do corante vermelho do congo (C.I. 22120).....	34
Figura 4.2: Fluxograma de desenvolvimento das etapas da pesquisa.....	34
Figura 4.3: Reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG operados em batelada para remoção de vermelho do congo em meio aquoso sintético.	37
Figura 4.4: Detalhamento do reator em batelada utilizado no experimento.	38
Figura 5.1: Variação da concentração do corante vermelho do congo ao longo do experimento em batelada para os reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG.....	40
Figura 5.2: Variação da concentração de matéria orgânica em termos de DQO nos reatores em batelada CI, CD, FI, FD, FDG e FIG.	43
Figura 5.3: Variação de biomassa, expressa em SSV, no interior dos reatores CI, CD, FI, FD, FDG e FIG.....	44
Figura 5.4: Variação do pH nos reatores CI, CD, FD, FDG, FI e FIG.....	46
Figura 5.5: Variação da cor nos reatores ao longo da batelada: (a) amostras retiradas na partida; (b) amostras retiradas após o 1º dia; (c) amostras retiradas após o 3º dia; (d) amostras retiradas no 25º dia.	48
Figura 5.6: Microscopia realizada em amostra da biomassa presente no reator FI, no 25º dia.	49

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

BTEX – Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno

C.I. – Color Index

CD – Reator Controle sem Material Suporte

CI – Reator Controle com Material Suporte

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DIFCO – Extrato de fermento

DQO – Demanda Química de Oxigênio

FD – Reator com Biomassa Fúngica Dispersa

FDG – Reator com Biomassa Fúngica Dispersa e Glicose

FI – Reator com Biomassa Fúngica Imobilizada

FIG - Reator com Biomassa Fúngica Imobilizada e Glicose

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

pH – Potencial Hidrogeniônico

ppm – Partes por Milhão

PVA – Álcool Polivinílico

R_{ATZ_0} – Velocidade de conversão de atrazina

RBF – Reator Biológico com Fungos

RBS – Reator em Batelada Seqüencial

rpm – Rotações por Minuto

SSV – Sólidos Suspensos Voláteis

TDH – Tempo de Detenção Hidráulica

UASB – Reator Anaeróbico de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo

UV-VIS – Ultravioleta Visível

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Indústrias têxteis e seus efluentes	4
3.2 Corantes têxteis	7
3.2.1 O corante vermelho do congo.....	10
3.3 Tratamento das águas residuárias têxteis	12
3.4 Fungos	16
3.5 Uso de Fungos no Tratamento de Águas Residuárias.....	21
3.5.1 Tratamento de águas residuárias têxteis por fungos	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Cultivo, produção e contagem de esporos de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.....	35
4.2 Composição da água residuária sintética têxtil	36
4.3 Imobilização do fungo	36
4.4 Montagem dos reatores	36
4.5 Análise por microscopia	39
4.6 Métodos realizados para determinação das variáveis	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
6 CONCLUSÕES	50
7 RECOMENDAÇÕES.....	51
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
Apêndice A – Cromatogramas dos reatores (CD, CI, FD, FI, FDG, FIG) no dia 0 e no 25º dia por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Gilson mod. 321, equipado com detector UV-VIS).	67

1 INTRODUÇÃO

O aumento da demanda por produtos têxteis proporcionam o crescimento do número de indústrias no setor, e, proporcionalmente, o aumento do volume de águas residuárias geradas, fazendo destas, importantes fontes de poluição ambiental. As águas residuárias têxteis são indesejáveis no ambiente, não só pela sua cor, mas principalmente, pela presença de corantes, compostos usados no tingimento dos tecidos. Estima-se que atualmente sejam consumidos mundialmente, 7×10^4 toneladas por ano dos mais diferentes corantes, dos quais 50% são perdidos nos processos industriais de tingimento e chegam no meio ambiente juntamente com suas águas residuárias (PATEL & SURESH, 2007). Isto representa uma preocupação mundial, pois a disposição inadequada no meio representa impacto negativo devido a formação de produtos carcinogênicos quando da degradação dos corantes.

As águas residuárias têxteis apresentam características variadas como consequência dos diferentes processos de tingimento, matérias-primas empregadas e controle da quantidade de substâncias utilizadas, apresentando pH na faixa entre 6 a 11, turbidez elevada, coloração dependendo do corante predominante, teor elevado de sólidos totais (1000 a 1600 mg/L) e DBO de 200 a 600 mg/L (BRAILE & CAVALCANTE, 1993; CAMPOS & DE MIO, 1996).

Os processos empregados para remoção dos corantes têxteis das águas residuárias vão desde os físicos e químicos até os biológicos, porém a aplicação destes processos depende de fatores como a estrutura molecular do corante e do custo envolvido.

Os processos biológicos são economicamente mais viáveis e, particularmente, os reatores anaeróbios têm sido utilizados no tratamento de efluentes têxteis, contudo, a degradação anaeróbia gera como subprodutos aminas carcinogênicas, que precisam ser removidas do meio por tratamento aeróbio, por exemplo.

A aplicação de tratamento aeróbio tem se mostrado eficaz na eliminação de parte das aminas aromáticas formadas quando da degradação do corante (VAN DER ZEE *et al.*, 2001).

Os fungos são capazes de reciclar compostos como lignina, celulose, quitina, melanina e queratina, além de serem altamente versáteis no metabolismo de

xenobióticos (PRENAFETA BOLDÚ, 2002) e por este motivo vêm sendo utilizados em reatores biológicos para o tratamento de diferentes águas residuárias.

O uso de fungos em reatores biológicos se constitui em uma tecnologia alternativa e inovadora, a qual vem em crescente expansão, sendo utilizada para o tratamento de diversos efluentes industriais, como os de laticínios (SÁ, 1997; RODRIGUES, 1999), da indústria de beneficiamento da castanha de caju (SAMPAIO, 2001; FACÓ, 2002), de pesticidas (SAMPAIO, 2005) e efluentes industriais contendo fenóis (FADIL *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2007).

Algumas espécies fúngicas são bastante empregadas na remoção de compostos de difícil degradação devido a sistemas enzimáticos específicos, tais como: ligninase, manganês peroxidase, citocromo P450 monooxigenase, entre outros.

A espécie *Aspergillus niger*, escolhida para ser estudada nesta pesquisa, pode ser encontrada em todo o mundo, sendo observada em uma grande variedade de habitats, e coloniza inúmeros substratos (CORAL *et al.* 2002; EPA, 1997; PAPAGIANNI & MOO-YOUNG, 2002; PASHOVA *et al.* 1999).

Muitas pesquisas na área ambiental têm sido desenvolvidas com essa espécie com resultados promissores (FACÓ *et al.*, 2003; GARCIA *et al.*, 2000; SÁ, 1997; SAMPAIO *et al.*, 2004; SANTAELLA, 1997; SANTOS *et al.*, 2006; RODRIGUES & SANTAELLA, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2004; VASSILEV *et al.*, 1997).

A imobilização de células fúngicas em material suporte para uso em leito de reatores é uma técnica simples e que pode resultar em maior eficiência de tratamento, haja vista que se estabelece tempo maior de contato entre o microrganismo e o alimento, no caso a água residuária. Considerando a habilidade dos fungos em degradar compostos recalcitrantes, esta pesquisa visa à utilização da espécie *Aspergillus niger* AN 400 para tratamento de meio aquoso sintético contendo corante vermelho do congo, a fim de comparar a eficiência do processo quando do uso de células imobilizadas e dispersas, tanto para a remoção do corante quanto de matéria orgânica carbonácea.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a remoção de corante vermelho do congo pela espécie *Aspergillus niger* AN 400 utilizada como inóculo de reatores em batelada.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da glicose sobre o crescimento de biomassa dispersa no interior de reatores em batelada;
- Verificar a influência da glicose sobre a eficiência de redução da concentração do corante e de matéria orgânica carbonácea em reatores em batelada com biomassa dispersa e imobilizada;
- Comparar a eficiência de remoção de corante e de matéria orgânica, quando do uso de biomassa dispersa e imobilizada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Indústrias têxteis e seus efluentes

De acordo com Gorini (2000), o Brasil é o décimo maior produtor mundial de fios, tecidos e malhas, principalmente, de algodão; neste último segmento, de malhas de algodão, o país perde apenas para os Estados Unidos e para a Índia, ocupando a terceira posição dentre os produtores mundiais.

O parque industrial têxtil no Brasil ocupa lugar de destaque e gerou, em 1997, 1,5 bilhões de empregos, respondendo por 14% do total de empregos no setor industrial. Atualmente, verifica-se a tendência a um crescimento contínuo, sobretudo, devido aos elevados investimentos tecnológicos promovidos na década de 1990 para a modernização do setor, impulsionados pela demanda mundial (GORINI, 2000).

No Brasil, apesar das regiões Sudeste, maior produtora de fios sintéticos, e Sul, produtora de tecidos para cama, mesa e banho, serem detentoras do maior número de indústrias têxteis, o setor cresceu na região Nordeste, particularmente, na década de 1990, na produção de fios e tecidos de algodão, sendo ainda a maior consumidora brasileira desses produtos (GORINI, 2000).

Segundo Guaratini & Zanoni (2000), 75% das indústrias do ramo estão localizadas nas regiões sul, principalmente, no Estado de Santa Catarina, sudeste, nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, e nordeste, nos Estados do Ceará, Pernambuco e Bahia. De acordo com Gorini (2000), o complexo têxtil brasileiro não apenas aumentou sua produtividade em função do grande esforço de investimento na qualidade do produto, mas também devido a melhores serviços e adequação ambiental, o que é de extrema importância, considerando-se que há a necessidade de minimizar impactos ambientais causados pelas atividades nelas realizadas.

Oportunamente, embora essas indústrias apresentem relevante contribuição para a economia do país, os efluentes por elas gerados são um dos que apresentam maiores potenciais de poluição dentre os outros despejos industriais, considerando tanto o aspecto qualitativo, em função dos compostos nele presentes, como quantitativamente, ou seja, em relação ao volume produzido (KUMARI & ABRAHAM, 2007).

Em relação à utilização de água, essas indústrias apresentam como principais características o grande consumo para a produção de tecido e, conseqüentemente, a geração de elevados volumes de águas residuárias. Tem-se que, no processo de acabamento, são necessários 100 litros de água para produzir-se 1 tonelada de tecido (SILVA FILHO, 2006).

Segundo Pazarlioglu *et al.* (2005), os processos têxteis são consumidores de grande volume de água e de corantes sintéticos, gerando efluentes volumosos e complexos, com elevada carga orgânica, aliada ao alto teor de sais inorgânicos.

Assim, qualitativamente, uma das grandes preocupações relacionadas a este setor reside no fato desses efluentes apresentarem em sua constituição compostos de difícil degradação, como é o caso dos corantes e de outros produtos químicos. Por outro lado, mesmo quando a água residuária é submetida ao tratamento, os corantes ficam adsorvidos no lodo gerado, impedindo seu reaproveitamento e representando um novo problema ambiental (VULCZAR, 2005).

As águas residuárias têxteis são caracterizadas por flutuações extremas em suas características, observadas em variáveis físicas e químicas como DQO, DBO, pH, cor e salinidade, dependendo da etapa do processo realizado na indústria (DOS SANTOS *et al.*, 2007), o que exige seu tratamento antes da disposição em corpos hídricos devido danos aos mesmos, bem como à Saúde Pública, devido a aspectos relacionados à toxicidade e ao potencial carcinogênico dos compostos nelas presentes (FU & VIRARAGHAVAN, 2002).

Outrossim, por serem efluentes coloridos, os efluentes têxteis afetam substancialmente o processo de fotossíntese que ocorre nos corpos hídricos receptores e também a vida aquática devido a presença de metais, cloretos e outros compostos (CHAPMAN & KIMSTACH, 1996).

No processo têxtil, ocorrem etapas de engomagem, desengomagem, desmulscificação, branqueamento, mercerização e tingimento, de modo que o efluente em cada uma dessas etapas apresenta características específicas, conforme mostrado na Tabela 3.1.

Segundo Dos Santos *et al.* (2007), a engomagem é a primeira etapa do processo, caracterizada pela adição de agentes específicos como amido e álcool polivinílico (PVA), os quais têm a função de deixar a fibra mais resistente; a etapa subsequente é a desengomagem, responsável pela remoção de materiais

provenientes da engomagem, a qual é seguida pela etapa de desemulsificação. Na desemulsificação ocorre a adição de compostos alcalinos, como o hidróxido de sódio, a fim de retirar impurezas das fibras, promovendo a hidrólise de óleos naturais, gorduras e surfactantes. Na etapa de branqueamento há a eliminação de coloração indesejável na fibra, a qual é conseguida com uso de hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio.

Tabela 3.1: Características dos efluentes gerados nas etapas do processo têxtil

Processo	DQO (g/L)	DBO (g/L)	pH	Volume de água usado (L/Kg)
Engomagem	4,6 – 4,9	1,7 – 5,2	–	3 – 9
Desemulsificação	8,0	0,1 – 2,9	10 – 13	26 – 43
Branqueamento	6,7 – 13,5	0,1 – 1,7	8,5 – 9,6	3 – 124
Mercerização	1,6	0,05 – 0,1	5,5 – 9,5	232 – 308
Tingimento	1,1 – 4,6	0,01 – 1,8	5 – 10	8 – 300

FONTE: Dos Santos *et al.* (2007).

Após o branqueamento, é realizada a mercerização, etapa caracterizada pela adição de solução alcalina seguida de banho ácido para melhorar a capacidade de pigmentação das fibras na etapa de tingimento, quando há a adição de corante, o que exige o consumo de volume grande de água, não apenas durante a imersão das fibras em banhos com corantes, mas também nos procedimentos de enxágüe (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

De acordo com Guaratini & Zanoni (2000), o tingimento envolve como procedimento final a etapa de lavagem em banhos correntes para retirada do excesso de corante original e de corante hidrolisado, não fixado à fibra nas etapas precedentes. A etapa de tingimento é de fundamental importância para o sucesso comercial dos produtos têxteis.

Além da padronagem, beleza e cor, o consumidor exige que o produto tenha características como grau elevado de fixação em relação à luz, lavagem e transpiração, tanto inicialmente como após uso prolongado. Para garantir essas propriedades, as substâncias que conferem coloração à fibra devem apresentar alta

afinidade e uniformidade na coloração, resistência aos agentes desencadeadores do desbotamento e ainda possuir viabilidade econômica (GUARANTINI & ZANONI, 2000).

As exigências do mercado resultaram na síntese de milhões de compostos químicos coloridos nos últimos 100 anos, dos quais, cerca de 100.000 são produzidos em escala industrial. Essa diversidade é justificada, uma vez que cada fibra a ser colorida requer corantes com características definidas (GUARANTINI & ZANONI, 2000).

O grande problema em relação à demanda por corantes é que, da produção mundial, 800.000 toneladas/ano, cerca de 10% chega ao meio ambiente juntamente com efluentes industriais descartados em corpos hídricos receptores (PALMIERI *et al.*, 2005).

Mesmo utilizando corantes de alta capacidade de fixação, as operações de tingimento exercem forte impacto ambiental, uma vez que cerca de 20% dos corantes empregados nesse processo é perdido no processo (GUARANTINI & ZANONI, 2000).

3.2 Corantes têxteis

Até a metade do século XIX, os corantes utilizados no tingimento de tecidos derivavam de folhas, ramos, raízes e frutos ou flores de várias plantas e substâncias extraídas de animais, sendo que em 1856, na Alemanha, foi sintetizado o primeiro corante para uso industrial (GUARANTINI & ZANONI, 2000).

Os corantes presentes nas águas residuárias têxteis são facilmente detectados a olho nu, sendo visíveis a concentrações de 1 ppm (mg/L), o que pode resultar em vantagens e desvantagens, pois uma pequena quantidade lançada em meio aquático pode causar mudança acentuada na coloração de rios e lagos, e também pode ser detectada facilmente pelo público e autoridades que controlam problemas ambientais (GUARANTINI & ZANONI, 2000).

Os corantes têxteis de origem sintética possuem estrutura molecular complexa, o que torna sua biodegradação mais difícil (FU & VIRARAGHAVAN, 2002). Estas moléculas possuem grupos de átomos responsáveis pela cor, denominados de cromóforos, e de grupos de substâncias que possuem a

capacidade de aumentar a cor devido aos cromóforos presentes, chamados de auxocromos (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

Os cromóforos mais importantes são os do grupo azo ($-N=N-$), carbonila ($C=O$), nitro (NO_2) e nitroso ($-N=O$) e, dentre os auxocromos, os dos grupos etila, nitro, amino, sulfônico, hidroxila, metóxi, etóxi, cloro e bromo (CHRISTIE, 2001).

Os corantes azo, caracterizados pela presença de uma ou mais ligação ($-N=N-$), são a maior fração de corantes utilizada mundialmente, representando cerca de 60% a 70% do total de corantes produzido no mundo (CARLIELL *et al.*, 1995).

De acordo com Guarantini & Zanoni (2000), os corantes podem ser classificados em função de sua estrutura química em:

- Corantes reativos: possuem um grupo eletrofílico (reativo) capaz de formar ligação covalente polar com grupos hidroxila das fibras celulósicas, com grupos amino, hidroxila e tióis das fibras protéicas e também com grupos amino das poliamidas. Esta classe é formada por grande número de corantes, dentre os quais se destacam os azo e antraquinônicos como grupos cromóforos e grupos clorotriazinila e sulfatoetilsulfonila como grupos reativos, de modo que a reação nesses corantes se processa diretamente através da substituição do grupo nucleofílico do corante pelo grupo hidroxila da celulose. Em geral, são corantes de solubilidade elevada em água e com o estabelecimento de ligação covalente entre o corante e a fibra, conferem ao tecido maior estabilidade;

- Corantes diretos: são corantes solúveis em água e capazes de tingir fibras de celulose (algodão e viscose) por interações de Van der Waals. A afinidade do corante é aumentada por uso de eletrólitos pela planaridade na configuração da molécula do corante ou pela presença de dupla ligação conjugada que aumenta a adsorção do corante sobre a fibra. Esta classe de corantes é formada principalmente por corantes contendo mais de um grupo azo (diazó, triazo, etc.) ou pré-transformados em complexos metálicos;

- Corantes azóicos: compostos coloridos, insolúveis em água, geralmente sintetizados sobre a fibra durante o processo de tingimento a partir do

uso de um agente de acoplamento, geralmente naftol, que apresenta alta afinidade pela celulose;

- Corantes dispersivos: são corantes insolúveis em água, aplicados em fibras de celulose e outras fibras hidrofóbicas por suspensão (partículas entre 1 a 4 micras), de modo que, durante o processo, ocorre a hidrólise do corante e a forma insolúvel é lentamente precipitada na forma dispersa (finamente dividida) sobre o acetato de celulose. É comum o emprego de agente dispersante com longas cadeias, como auxiliar do processo, para facilitar o contato entre o corante e a fibra hidrofóbica. São particularmente empregados para tingimento de fibras sintéticas como acetato, nylon e poliéster;

- Corantes ácidos: são corantes aniônicos que possuem de um a três grupos sulfônicos que tornam a molécula solúvel em água. São de fundamental importância para aplicação em lã, seda e em fibras de poliamida sintética;

- Corantes à cuba: são compostos praticamente insolúveis em água e compreendem os corantes baseados nos índigos, tioindigóides e antraquinóides. Podem apresentar grupo carbonila situado no grupo etilênico ou em subunidades alicíclicas. Possuem capacidade de fixação excelente;

- Corantes a enxofre: são corantes caracterizados por apresentarem, após a aplicação, compostos macromoleculares com pontes de polissulfetos ($-S_n-$), tornam-se solúveis após pré-redução em banho de ditionito de sódio, e são reoxidado subsequente sobre a fibra pelo contato com o ar. São empregados na tintura de fibras celulósicas, conferindo-lhes as cores preta, verde oliva, azul marinho e marrom e possuem boa fixação;

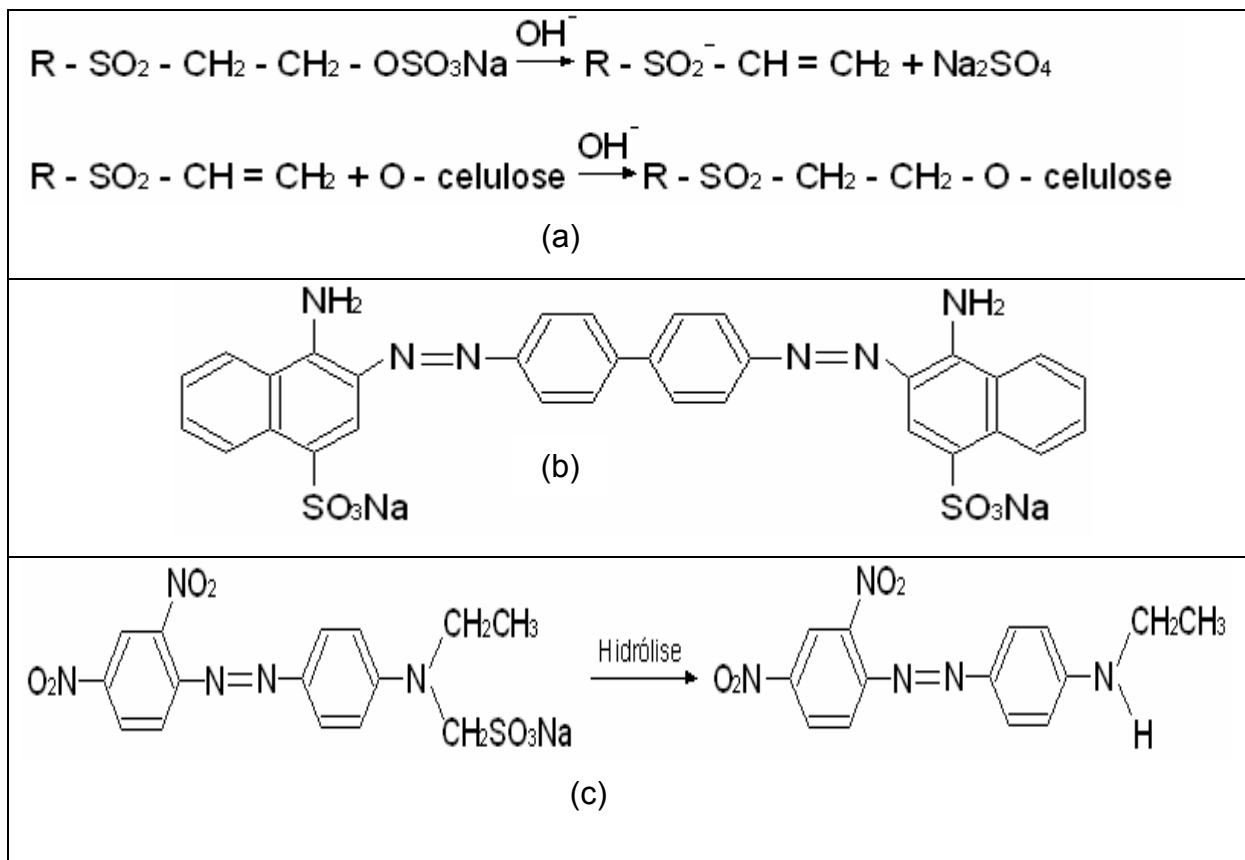
- Corantes pré-metalizados: estes corantes têm como característica uma hidroxila ou carboxila na posição orto em relação ao cromóforo azo, permitindo a formação de complexos com íons metálicos. Apresentam como agravante a presença de metais, particularmente, cromo, nos despejos, representando um impacto adicional ao meio ambiente;

o Corantes branqueadores: estes corantes apresentam grupos carboxílicos, azometínicos (-N=CH-) ou etilênicos (-CH=CH-) aliados a sistemas benzênicos, naftalênicos, pirênicos e a outros anéis aromáticos que proporcionam reflexão por fluorescência na região de 430 a 440 nm quando excitados por luz ultra-violeta.

Na Figura 3.1 estão apresentados exemplos de corante tipo reativo, azóico direto, dispersivo, ácido, à cuba, a enxofre, pré-metalizado e branqueador.

3.2.1 O corante vermelho do congo

O vermelho do congo é exemplo de corante diazo direto, foi o primeiro corante sintético produzido para tingimento do cotton, sendo muito sensível a ácidos e sua cor muda de vermelho para azul na presença de ácidos inorgânicos (pH abaixo de 5), é ainda encontrado em efluentes têxteis, de papel, da indústria do plástico, entre outros;



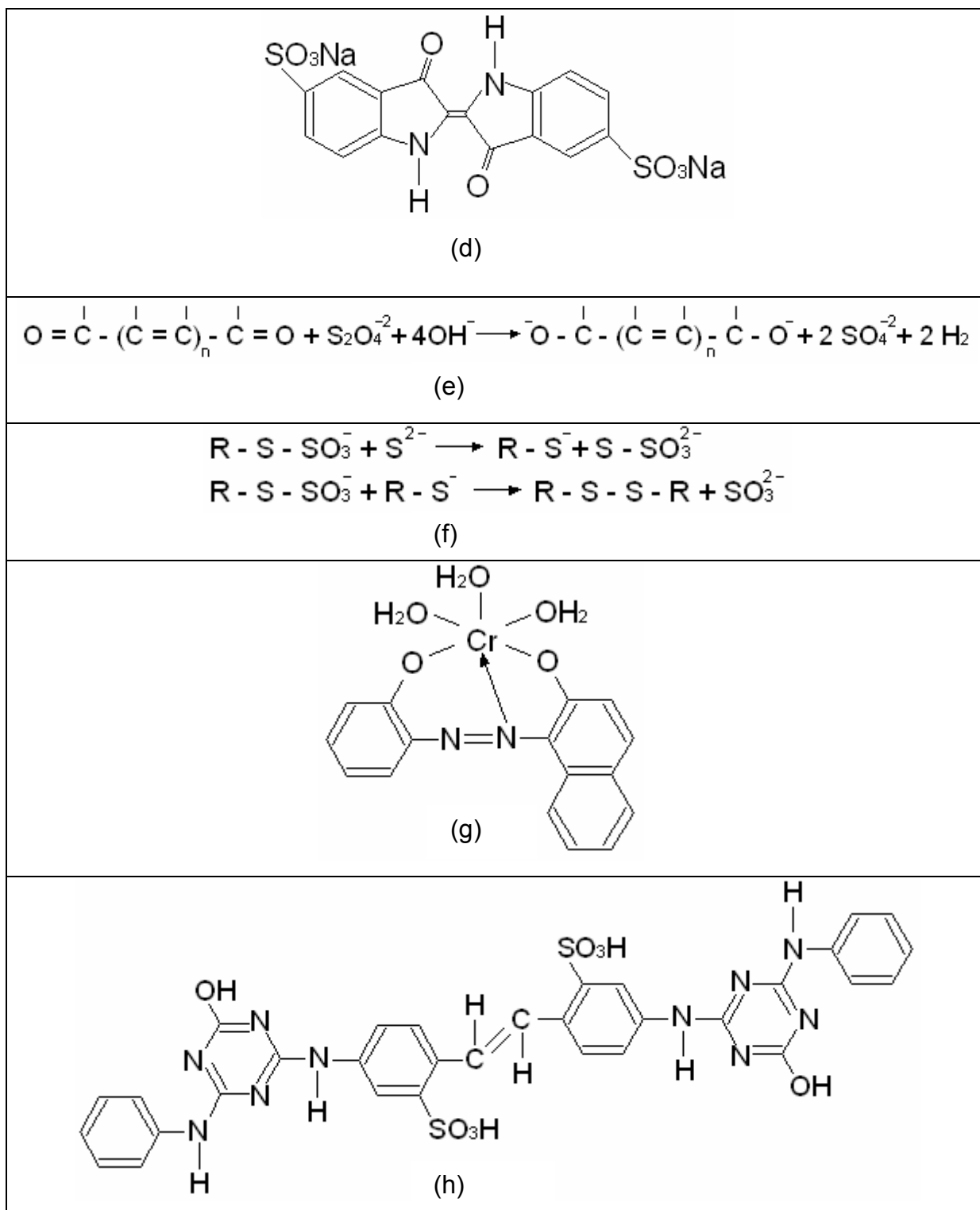


Figura 3.1: (a) corante reativo em água; (b) direto vermelho 28 (vermelho do congo); (c) dispersivo vermelho de Ionamina KA; (d) ácido azul 74; (e) à cuba reagindo com ditionito de sódio; (f) corante a enxofre com íon sulfeto formando pontes de dissulfeto; (g) pré-metalizado cromo/corante; (h) branqueador fluorescente 32. FONTE: adaptado de Guaratini & Zanone (2000).

3.3 Tratamento das águas residuárias têxteis

As águas residuárias têxteis são uma mistura complexa de várias substâncias poluentes, de organoclorados a metais associados aos corantes utilizados nos processos têxteis (CONNELY *et al.*, 1999).

A remoção da cor dos efluentes têxteis tem recebido atenção nos últimos anos devido ao aumento da conscientização e da rigidez das normas ambientais (GUARANTINI & ZANONI, 2000), sendo empregados tanto métodos físicos, químicos e biológicos, porém, a estrutura molecular complexa dos corantes têxteis torna difícil sua degradação pelos métodos de tratamento biológicos convencionais e por processos físicos e químicos (FU & VIRARAGHAVAN, 2002).

De acordo com McMullan *et al.* (2001), os sistemas de tratamento disponíveis não são eficientes, pois são incapazes de remover completamente os corantes recalcitrantes e outros resíduos orgânicos presentes nessas águas residuárias.

Dentre os métodos físicos e químicos utilizados citam-se: a coagulação, a adsorção, a radiação ultravioleta, a filtração por membrana, a fotocatalise e ozonização, entre outros (ASSADI & JAHANGIRI, 2001; SINGH *et al.*, 2007; PATEL & SURESH, 2007), porém as maiores limitações encontradas estão relacionadas ao custo e a geração de grandes quantidades de lodo que necessitam de tratamento adequado antes de sua disposição final (STOLZ, 2001).

Na coagulação, são empregados sais como os de ferro e alumínio, além de polímeros que funcionam como auxiliares do processo, formando-se flocos com os corantes. Posteriormente, os flocos são separados do meio líquido, o que pode ser realizado mediante filtração, sedimentação ou por flotação (BRAÚNA, 2007).

Segundo Hao *et al.* (2000), a coagulação é um método eficaz para a remoção de corantes dispersivos, mas pode não remover os compostos altamente solúveis (VANDEVIVERE *et al.*, 1998), porém verifica-se a existência de polímeros que apresentam caráter tóxico, potencialmente mais prejudiciais ao ecossistema aquático que os próprios corantes (FIGUEIREDO *et al.*, 2005).

A filtração com uso de membranas se constitui em um método muito eficiente quanto à remoção de todos os tipos de corante. As membranas possuem boa resistência a temperatura e ao ataque de microrganismos, porém o que

inviabiliza a tecnologia ainda são os altos custos de implantação e manutenção e a exigência de que o afluyente tenha baixa turbidez a fim de garantir maior vida útil das membranas (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

Carvão ativado é comumente usado para remoção de corantes por adsorção, sendo muito eficiente na remoção de corantes ácidos e catiônicos. Particularmente este adsorvente, não é eficiente para a adsorção de corantes reativos, diretos e dispersivos. O percentual de remoção, neste caso, dependerá das características da água residuária, estrutura molecular da molécula do corante, e das propriedades do adsorvente. Em termos, o maior inconveniente do uso do carvão ativado é seu alto custo (ROBINSON *et al.*, 2001).

A ozonização é um dos métodos químicos mais utilizados por apresentar eficiência razoável no tratamento de efluentes têxteis (HASSEMER & SENS, 2002) e apresenta como vantagem o fato de não produzir o aumento do volume de efluente e de lodo, uma vez que se trata de um gás, entretanto, cita-se como desvantagem o baixo tempo de vida, em torno de 20 minutos, bem como seu custo elevado (ROBINSON *et al.*, 2001).

Segundo Robinson *et al.* (2001), o uso de radiação ultravioleta vem despertando interesse dentre os tratamentos químicos, sendo também utilizado em associação com agentes oxidantes, como H₂O₂ e O₃ (PETERNEL *et al.*, 2006) que promovem a oxidação do corante a partir das altas concentrações do radical hidroxila. A grande vantagem reside na não produção de lodo e ausência de odores desagradáveis produzidas no meio.

De modo geral, o emprego de métodos físicos e químicos é mais indicado quando o volume de água residuária é pequeno, sendo o maior fator limitante para seu uso o fator econômico.

Com relação aos métodos biológicos, os custos envolvidos são menores e, embora métodos aeróbios sejam utilizados (KUMARI & ABRAHAM, 2007), Kasinath *et al.* (2003) relata que, em geral, sistemas aeróbios convencionais, como lodos ativados e filtros biológicos, têm sido pouco eficientes na remoção de corantes sintéticos recalcitrantes.

Efluentes com baixa concentração de corantes dispersivos ou diretos podem ser tratados com sucesso por lodos ativados, pois esses tipos de compostos podem ser adsorvidos ou floculados, contudo, a maior parte dos corantes

descartados com efluentes têxteis não são facilmente adsorvidos ao lodo aeróbio (FRIJTERS *et al.*, 2006).

Os sistemas biológicos anaeróbios apresentam como maior problema a formação de aminas aromáticas de potencial tóxico e carcinogênico durante a clivagem da ligação azo, presente na maioria dos corantes utilizados (LOURENÇO *et al.*, 2001). Em condições anaeróbias não ocorre a mineralização completa dos corantes azo, somente há a redução do corante e a formação destas aminas, com subsequente perda da cor (BRAÚNA, 2007).

De acordo com Frijters *et al.* (2006), sistemas anaeróbio/aeróbio são mais eficientes no tratamento dos efluentes têxteis, pois neste caso ocorre remoção de corantes no reator anaeróbio e as aminas resultantes são adequadamente removidas no reator aeróbio a partir de processos de mineralização, polimerização e adsorção. Esta degradação é de suma importância, pois as aminas são muito mais tóxicas que o próprio corante que as originou. Apesar disso, observa-se que embora os resultados obtidos com a combinação de condições anaeróbia/aeróbia nem sempre satisfaz completamente a remoção de cor dos efluentes têxteis, principalmente em função da grande variação molecular nas estruturas dos corantes empregados na indústria.

Lourenço *et al.* (2001) utilizaram combinação de situação anaeróbia/aeróbia em quatro reatores em batelada seqüencial (RBS), com volume total de 1 L, para remoção de cor de meio sintético contendo os corantes *Remazol Brilliant Violet 5R* e *Remazol Black B*. Os reatores foram inoculados com lodo proveniente de uma unidade de lodos ativados que tratava água residuária doméstica e industrial, tendo-se procedido à sua aclimação durante um mês. Os reatores foram alimentados com meio sintético sem adição de corante, contendo em sua composição 862 mg/L de *hydrolyzed Emsize E1*, 143 mg/L de NH_4Cl , 760 mg/L de KH_2PO_4 e 915 mg/L de Na_2HPO_4 . Quando da partida, o meio sintético foi preparado adicionando-se 5 g/L de corante, de modo que o primeiro reator (RBS1) foi alimentado com meio sintético contendo o corante *Remazol Brillhant Violet 5R*, e o segundo reator (RBS2), não recebeu adição do corante, funcionando como controle. De forma semelhante, o terceiro reator (RBS3) foi alimentado com meio contendo corante *Remazol Black B*, enquanto o quarto reator (RBS4) foi utilizado como controle. Foi obtido 90% de remoção de cor no reator RBS1, durante ciclo de 24 h,

das quais 10 h ocorreram sob aeração, e tempo de retenção celular de 15 dias. Em contrapartida, a maior redução de cor obtida no reator RBS3 foi de 75%, mantendo-se as mesmas condições operacionais do reator RBS1. Esse percentual não aumentou, mesmo quando o tempo de retenção celular foi elevado para 20 dias. Os autores verificaram que durante o estudo da remoção do corante *Remazol Black B*, mesmo aumentando o período de aeração, as aminas aromáticas geradas na fase anaeróbia não foram degradadas completamente na fase aeróbia e relataram ser muito mais complexa a remoção de cor do meio que possuía o referido corante.

Shaw *et al.* (2002) empregaram reator em batelada seqüencial no tratamento de água residuária sintética têxtil. O reator apresentava volume total de 10,5 L e possuía entrada para afluente e saída para o efluente, localizadas respectivamente, na parte inferior e superior do reator. O ar foi fornecido por difusores de ar, na base do reator e sistema de pás agitadoras (40 rpm) promoviam agitação no meio. O reator foi operado em ciclo de 24 h, dividido em operações de enchimento (15 minutos), condições anaeróbias (18,5 h), condições aeróbias (30 minutos), sedimentação (4,25 h) e esvaziamento (30 minutos). A água residuária sintética foi preparada com base na composição de indústrias têxteis, possuindo 2,67 g/L de amido, 400 mg/L de álcool polivinílico, 270 mg/L de carboximetil celulose, 533 mg/L de *Remazol Black B*, 26,7 g/L de NaCl, 1 g/L de Na₂CO₃ e 110 mg/L de NaOH e complexo de nutrientes. Apesar da remoção de cor de 94%, verificou-se que produtos da degradação do corante causaram instabilidade do sistema, de modo que aminas aromáticas produzidas na fase anaeróbia pela quebra do corante não foram mineralizadas por completo na fase aeróbia.

Frijters *et al.* (2006) trataram com sucesso efluente têxtil, oriundo da etapa de branqueamento, em um sistema anaeróbio/aeróbio. O sistema foi formado por reator anaeróbio de leito fluidificado de 70 m³, seguido de reator aeróbio, com volume total de 450 m³, que funcionava como unidade de polimento do efluente anaeróbio. O reator de leito fluidizado possuía dois compartimentos, cada qual com separador de fases (líquido, gás e lodo), apresentando tempo de detenção hidráulica de 48 h e tempo de retenção celular de 12 dias. O afluente foi acidificado antes de adentrar o reator anaeróbio, a fim de permanecer com pH entre 6 e 7. A remoção de matéria orgânica alcançada pelo sistema, em termos de DQO, foi de 80% a 90%. No reator anaeróbio foi atingido percentual de remoção de 35% a 55%. Em relação à

variável cor, o sistema apresentou eficiência de 80% a 95% de remoção, sendo a mesma principalmente removida no reator anaeróbio, porém, foi observado que, em determinados períodos, ocorria aumento da cor do efluente aeróbio, o que foi atribuído à oxidação incompleta de amins aromáticas.

Assim, embora os sistemas anaeróbio/aeróbio alcancem bons percentuais de remoção de cor e matéria orgânica, o efluente final ainda apresenta subprodutos indesejáveis capazes de por em risco o meio ambiente e o homem, surgindo à necessidade de aprimorar esse sistema, particularmente no que se refere à etapa aeróbia final.

3.4 Fungos

Os fungos são organismos eucarióticos e heterotróficos, unicelulares (leveduras) ou pluricelulares (filamentosos ou bolores) e de maioria aeróbia. Os bolores possuem filamentos chamados de hifas, cujo conjunto é denominado de micélio. As hifas são estruturas tubulares que são originadas a partir de um único esporo reprodutivo (PAPAGIANNI, 2004) e podem ser simples ou ramificadas e se dividir em compartimentos celulares por meio de septos (LACAZ *et al.*, 1998).

As leveduras se diferenciam dos fungos filamentosos por apresentarem predominantemente a forma unicelular, serem células mais simples e crescerem e se reproduzirem mais rapidamente que estes (ARAÚJO *et al.*, 2001).

Os fungos filamentosos podem crescer na forma de “*pellets*”, quando as hifas formam pequenas esferas, ou na forma filamentosa, quando as hifas ficam dispersas no meio. A forma de crescimento depende da espécie do fungo, da composição do meio, da presença ou ausência de agitação, de variáveis como pH e oxigênio dissolvido e da quantidade de inóculo utilizada (concentração de esporos e massa de micélio) (PAMBOUKIAN, 1997).

De acordo com Esposito & Azevedo (2004), os fungos possuem grande versatilidade adaptativa que permite sua colonização nos mais variados habitats e a capacidade de suportar condições extremas. São componentes primários da microflora do solo e vivem ainda nos vegetais e na água, com grande disseminação na natureza, em consequência da produção de propágulos, sendo o ar atmosférico uma das vias de disseminação. Os fungos mais freqüentes das regiões do Brasil

pertencem aos gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Helmithosporium* e *Trichoderma* (BITTON, 1994; TRABUSI *et al.*, 1999).

O crescimento ótimo dos fungos ocorre em meios ácidos (pH em torno de 5) (BITTON, 1994). Segundo Griffin (1994), o pH ideal para crescimento dos fungos é entre 4 e 6, sendo que, dependendo da espécie em questão, a faixa ótima de pH pode assumir valores mais específicos devido a retirada diferenciada de cátions e ânions durante o transporte de substrato.

Os fungos necessitam de água para o seu desenvolvimento, embora, na ausência de umidade, possam sobreviver em estado latente ou produzir esporos (PELCZAR *et al.*, 1996; TRABUSI *et al.*, 1999).

Em relação à temperatura, os fungos podem crescer em uma larga faixa, com limites que se encontram entre 0°C e 62°C, havendo espécies psicrófilas, mesófilas e termófilas. (PELCZAR *et al.*, 1996; TRABUSI *et al.*, 1999).

Nutricionalmente, as exigências dos fungos podem ser divididas em duas categorias: micronutrientes (concentrações iguais ou menores que 10⁻⁶ mol/L) e macronutrientes (concentrações em torno de 10⁻³ mol/L). Entre os macronutrientes estão: carbono, hidrogênio, oxigênio, fósforo, potássio, nitrogênio, enxofre e magnésio — o carbono é o elemento principal em combinação com hidrogênio, oxigênio e nitrogênio (GRIFFIN, 1994).

Segundo Esposito & Azevedo (2004), o carbono participa na composição elementar da biomassa fúngica de tal modo que, qualitativamente, o faz o macroelemento mais importante em um meio de cultura. Alguns fungos utilizam compostos complexos que contêm carbono, porém outros são mais seletivos em seus requisitos. Os compostos de carbono usados pelos fungos são os mais variados, podendo-se citar: hidratos de carbono (glicose, sacarose, maltose, frutose), mono, di e trissacarídeos, celulose, substâncias pécticas (polissacarídeos de alta massa molar componentes da parede celular de vegetais), entre outras.

Em relação ao nitrogênio, o mesmo é um importante macronutriente, presente em aproximadamente 16% da massa seca dos fungos, e ainda em duas estruturas macromoleculares importantes: as proteínas e os ácidos nucléicos. Não existem fungos cuja capacidade de fixar N₂ tenha sido provada e o íon amônio é mais utilizado entre as formas inorgânicas de nitrogênio. A grande maioria dos

fungos é capaz de usar essa forma de nitrogênio (como NH_3 a pH alcalino) sob a forma de sais inorgânicos e orgânicos como sulfatos, cloretos carbonatos, fosfatos, tartaratos e acetatos (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

Segundo Sangtjean & Schmidt (2002), fungos utilizam amônia e nitrato em velocidades diferentes, sendo que espécies como *Aspergillus niger* são capazes de utilizar simultaneamente nitrato e amônia, ainda que a velocidade de consumo de nitrogênio amoniacal seja superior à de nitrato, principalmente em meios alcalinos (AINSWORTH & SUSSMAN, 1966).

Na Tabela 3.2 está mostrada a função de alguns macronutrientes no metabolismo fúngico (GRIFFIN, 1994).

Tabela 3.2: Macronutrientes e sua função no metabolismo fúngico.

Elemento	Fonte	Função
Enxofre	K_2SO_4	Síntese de aminoácidos Vitaminas
Fósforo	KH_2PO_4	Síntese de ácidos nucleicos Transferência de energia Metabolismo intermediário
Nitrogênio	$\text{NaNO}_3, \text{NH}_4\text{Cl}$	Síntese de aminoácidos Nucleotídeos Vitaminas
Magnésio	MgCl_2	Atividade enzimática Síntese de ácidos nucleicos
Potássio	$\text{KCl}, \text{K}_2\text{HPO}_4$	Atividade enzimática Metabolismo de carboidratos

Fonte: Rodrigues (2006).

O gênero *Aspergillus*, primeiramente descrito em 1729, possui 11 grupos identificados e classificados em patogênicos e não-patogênicos. Dentre os não-patogênicos, a espécie *Aspergillus niger* é a que tem recebido maior atenção (RAO & VIRARAGHAVAN, 2002), devido a suas aplicabilidades industriais, possuindo boa capacidade de fermentação e habilidade em secretar variedade de proteínas e metabólitos secundários (KYRIACOU *et al.*, 2005).

Com relação ao fósforo, o mesmo pode ser suprido sob a forma de fosfato, sendo o hidrogeno fosfato de potássio (K_2HPO_4) o sal mais empregado

(CARLILE & WATKINSON, 1994). O enxofre, por sua vez, é geralmente fornecido ao meio como sulfato, pois quase todos os fungos são capazes de assimilá-lo nessa forma (GRIFFIN, 1994).

Entre os micronutrientes, ferro, cobre, zinco, manganês e molibdênio são os mais requeridos pelos fungos como co-fatores das enzimas, entretanto, estes elementos podem ser tóxicos em concentrações superiores às requeridas para o crescimento (10^{-6} a 10^{-9} M) (CARLILE & WATKINSON, 1994).

Na Tabela 3.3 estão mostradas fontes e funções respectivas de micronutrientes para o metabolismo fúngico (GRIFFIN, 1994).

Tabela 3.3: Micronutrientes requeridos pelos fungos, suas fontes e funções

Elemento	Fonte	Função
Cobre	CuSO ₄	Atividade enzimática
Ferro	FeCl ₃ FeSO ₄	Citocromos Apoenzimas
Manganês	MnCl ₂	Atividade enzimática Síntese de ácidos nucleicos
Molibdênio	Na ₂ MoO ₄	Atividade enzimática Metabolismo do nitrato
Zinco	ZnCl ₂	Atividade enzimática e metabolismo de ácidos orgânicos e outros intermediários

Fonte: Rodrigues (2006).

Para que possam se desenvolver, os fungos necessitam preferencialmente de carboidratos simples como a glicose. Contudo, sacarose, maltose e fontes mais complexas como amido e celulose podem ser empregadas como fontes de carbono (PRENAFETA BOLDÚ, 2002).

De acordo com Esposito & Azevedo (2004), os fungos dispõem de vários mecanismos para utilizar as mais diversas fontes de carbono e energia para o seu crescimento. Em termos ambientais, essa característica é altamente apreciável, por serem organismos fundamentais para transformação e degradação de compostos recalcitrantes, muito deles agressivos ao meio. Essa habilidade pode ser empregada em diversos processos de tratamento de efluentes industriais, bem como em solos e até mesmo em tratamento de ar contaminado.

A capacidade dos fungos de utilizar compostos complexos como corantes está relacionada à secretação de enzimas extracelulares como peroxidases e fenoloxidasas. As peroxidases são hemoproteínas que catalisam reações na presença de peróxido de hidrogênio (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

As enzimas são biocatalisadores, ou seja, têm a função de acelerar as reações químicas do metabolismo, sendo muito específicas quanto à sua função. Enzimas como peroxidase e fenoloxidase podem atuar sobre poluentes recalcitrantes por meio de precipitação ou transformação desses em outros produtos, permitindo melhor tratamento final do resíduo (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

Segundo Prenafeta Boldú (2002), quando da utilização de compostos de alto peso molecular, com estrutura em anel aromático, os fungos geralmente degradam esses compostos por co-metabolismo, em geral, fazendo uso dos sistemas enzimáticos como o citocromo P450 monoxigenase e lignolítico.

Segundo Scharf *et al.* (2000)¹ *apud* Sampaio (2005), citocromo P450 monoxigenase constitui uma família de enzimas que ocorre em todos os organismos celulares, e participa do metabolismo de xenobióticos. Reações importantes são conduzidas por este sistema enzimático: adição de oxigênio – hidroxilação por incorporação de um átomo de oxigênio a partir do O₂ ao substrato; redução do átomo de oxigênio com NADPH; epoxidação; peroxidação; desaminação; desalogenação; redução de grupos nitro, azo, N-óxido, peróxido e epóxido; clivagem de ligações C-C. Substratos para este sistema enzimático incluem: esteróides, xenobióticos, hidrocarbonetos poliaromáticos, nitrosaminas, ácidos graxos, cetonas, entre outros (GRIFFIN, 1994).

As enzimas lignolíticas foram descobertas em 1983, em culturas da espécie *Phanerochaete chrysosporium*, espécie de fungo da degradação branca, citando-se como exemplo as enzimas ligninases, peroxidases e lacases (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

¹SCHARF, M. E., SIEGFRIED, B. D., MEINKE, L. J., WRIGHT, R. J., CHANDLER, L. D. **Cytochrome P450-mediated N-demethylation activity and induction in insecticide-resistant and susceptible western corn rootworm population (*Coleoptera: Chrysomelidae*)**. Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 37, p. 137 – 143, 2000.

As ligninas peroxidases contêm um grupo prostético que é a ferroprotoporfirina IX (heme) e exige a presença de peróxido de hidrogênio para sua atividade catalítica, sendo capaz de mineralizar grande variedade de compostos aromáticos e recalcitrantes. Com relação às lacases, essas enzimas são fenoloxidasas produzidas pela maioria dos fungos Basidiomicetos (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

3.5 Uso de Fungos no Tratamento de Águas Residuárias

De acordo com Rodrigues (2006), o uso de fungos na remoção de poluentes começou a ser estudado nos últimos trinta anos do século XX e um dos primeiros trabalhos que se tem notícia foi com uso de *Saccharomyces cerevisiae* para remoção de lindano e dieldrin por Voermman e Tammes em 1969, seguido do trabalho de Iyengar e Prabhakararao em 1973, que estudaram a degradação de heptacloro por fungos do gênero *Aspergillus*, contudo, foi nas últimas décadas que houve incremento nas pesquisas de biodegradação por fungos.

Os fungos dos gêneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Epicocum*, *Geotrichum* e *Trichoderma* foram testados por Santaella (1993), em reatores de leito fixo e fluxo ascendente, com o objetivo de tratar águas naturais com cor elevada devido à presença de substâncias húmicas. Dentre os meios suportes estudados, como o carvão ativado e a manta de poliamida, a manta foi escolhida como melhor opção para o reator de fluxo contínuo. A autora concluiu que, com tempo de detenção hidráulica de 20 dias e fonte primária de carbono de 0,5 g/L, 80 % das substâncias húmicas foram removidas por ação fúngica.

Vinciguerra *et al.* (1995) utilizaram a espécie fúngica *Lentinus edodes* para reduzir as características poluidoras de efluentes de indústria de produção de azeite de oliva em um processo não otimizado (baixas concentrações de co-substrato, ausência de ar ou oxigênio), a fim de simplificar o tratamento e diminuir a produção de biomassa fúngica. O inóculo foi obtido pela permanência dos fungos em placa de Petri com meio de cultura Ágar Dextrose Batata por 1 semana, a 28°C. Após este período, o inóculo foi transferido para erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de um meio com a seguinte composição: 5 g/L de glicose e 2 g/L de extrato de fermento (DIFCO). O pH do meio foi tamponado em 5,5 com uma mistura de

KH_2PO_4 e K_2HPO_4 . Após 4 dias de incubação o meio foi homogeneizado. Para os testes, foi preparada uma solução do mesmo meio, no qual foi adicionado o efluente diluído, previamente esterilizado e centrifugado, e 5% da solução homogeneizada do inóculo. As amostras foram incubadas a 30°C, sob agitação de 140 rpm por 12 dias. Em um período de 4 dias foram obtidos 75% de redução de carbono orgânico total, 66% de redução de fenóis totais e 45% de descoloração.

Sá (1997), ao estudar o poder de degradação das espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechslera sp*, no tratamento de água residuária de uma indústria de laticínios, utilizando reator de leito fixo e fluxo ascendente, obteve reduções de DQO de 82%, 84%, 81%, 74%, e 49% para os tempos de detenção hidráulica (TDH) de 31, 21, 11, 5 e 2 horas, respectivamente. Óleos e graxas foram removidos com eficiência de 90% no TDH de 5 horas. Em escala laboratorial, analisou-se ainda o poder de degradação das espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Drechslera sp*, na água residuária de uma indústria de laticínio, em duas etapas: operação em batelada e operação em fluxo contínuo, utilizando um reator de leito fixo e fluxo ascendente. A autora, quando comparou as duas operações, concluiu que o processo contínuo para tratamento do efluente da indústria de laticínio foi a melhor opção. O experimento mostrou remoção de 69 % de compostos causadores de DQO para o reator em batelada, com aumento de amônia e ortofosfato e redução dos níveis de sulfato, nitrito e nitrato. Não foi verificado a remoção sistemática dos nutrientes: nitrito, nitrato e ortofosfato, e sim uma tendência à síntese de amônia.

Fitz-Gibbon *et al.* (1998) estudaram o efeito do ácido gálico, do ácido vanílico e do melaço na biorremediação de água residuária de destilaria por ação dos fungos *Geotrichum candidum*, *Coriolus vesicolor*, *Phanerochaete cryosporium* e *Mycelia sterilia*. Melaço é um dos subprodutos mais importantes formados na produção de etanol. É um poluente potencial das águas, por colorir rios e reduzir a oxigenação das águas, chegando a possuir uma DQO de 90000 mg/L. Desta forma, os autores prepararam, em seu experimento, placas de Petri com meio de cultura Sabouraud (pH 5) contendo os ácidos gálico e vanílico (concentração final de 100 mM) e com o melaço (0 a 100% v/v) para realização do experimento. Todas as placas foram inoculadas com discos de 5 mm de cada fungo no ágar. As placas inoculadas foram incubadas em temperatura de 30 a 37°C por 5 dias. Os resultados

mostraram que todos os fungos estudados tiveram seu crescimento inibido pela presença do ácido gálico e do ácido vanílico, exceto a espécie *Geotrichum candidum*. As espécies *Phanerochaete chrysosporium* e *Geotrichum candidum* tiveram sua taxa de crescimento aumentada por aumento da concentração de melaço (acima de 50% v/v) e apresentaram remoção de 53% de cor depois de 10 dias de incubação, entretanto *Coriolus vesicolor* e *Mycelia sterilia* foram inibidos quando a concentração de melaço ficou em torno de 5% (v/v).

Gharsallah *et al.* (1999) trataram água residuária de indústria de azeite de oliva, rica em compostos fenólicos, utilizando a espécie *Phanerochaete chrysosporium*, como pré-tratamento de sistema anaeróbio. O experimento em batelada foi realizado com a água residuária concentrada (100.000 mg DQO/L), em recipiente de 5 L, durante 7 dias. Os autores observaram que, no final do experimento, houve remoção de 50% de matéria orgânica, de modo que, os compostos fenólicos com baixas massas moleculares foram prioritariamente degradados, enquanto que os de alto peso molecular foram lentamente despolimerizados.

Prenafeta Boldú (2002) estudou o isolamento e crescimento de fungos em hidrocarbonetos aromáticos voláteis, utilizando tolueno como única fonte de carbono e energia. O autor empregou três técnicas de enriquecimento: cultura em meio sólido, em meio líquido e biofiltro de ar. Como inóculo foram utilizados solos poluídos com BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno), solo de posto de gasolina e água contaminada com BTEX. Cinco espécies de fungo foram selecionadas: *Ladophialophora* sp MYA – 2335 (T1), *Ladophialophora* sp MYA – 2336 (T2), *Pseudeurotium zonatum* MYA – 2337 (T3), *Exophiala* sp (T4) e *Leptodontidium* sp (T5). Para verificar o crescimento das espécies em meio com tolueno, foi empregada uma cultura submersa estática, e entre 5 e 10 dias houve completa depleção do tolueno.

Sampaio (2005) avaliou a remoção de metil paration - insetisida e atrazina - herbicida presentes em água, em reatores em batelada com fungos, na presença e ausência de glicose. A autora utilizou como inóculo esporos de *Aspergillus niger* AN 400. A remoção de metil paration foi de 97% nos reatores sem glicose e 94% nos reatores com glicose, com 32 dias de reação. Um modelo cinético de primeira ordem representou bem a velocidade de decaimento de metil paration nesta fase,

principalmente, nos reatores que continham glicose. Para os experimentos sem adição de glicose, a constante cinética foi de $0,063 \pm 0,005 \text{ h}^{-1}$, enquanto que para os experimentos com glicose a constante foi de $0,162 \pm 0,014 \text{ h}^{-1}$. Dessa forma, a adição de glicose resultou efetivamente em aumento na velocidade de conversão do insetisida. Na fase experimental, com atrazina e esporos de *Aspergillus niger* AN 400, a presença do substrato primário (glicose) não teve influência na remoção de atrazina, sendo que os percentuais de remoção foram muito próximos aos percentuais encontrados nos reatores sem glicose. O estudo cinético, na fase com atrazina e esporos, revelou que para os experimentos sem a adição de glicose, o valor da velocidade de conversão de atrazina (R_{ATZ_0}) foi $0,023 \text{ d}^{-1}$, enquanto que para os experimentos com glicose a R_{ATZ_0} foi $0,022 \text{ d}^{-1}$, de modo que a adição de glicose, aparentemente, não influenciou significativamente a velocidade de remoção do herbicida por *Aspergillus niger* AN 400.

Rodrigues (2006) utilizou *Aspergillus niger* AN 400 como inóculo de dois reatores contínuos com escoamento ascendente. Os reatores contínuos possuíam volume total de 4,45 L e receberam meios suportes de manta de polipropileno (R1) e espuma de poliuretano (R2), tendo sido mantidos sob as mesmas condições operacionais, durante 399 dias, divididos em três tempos de detenção hidráulica: 8 h, dividido em duas fases de alimentação (Fase I – alimentação complementada com glicose e Fase II – alimentação sem complementação de glicose); 4 h e 6 h. As maiores remoções de fenol ocorreram durante o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 h, independente da presença de glicose (0,5 g/L) no afluente, obtendo-se, na Fase I, remoções médias de fenol de $99,5\% \pm 2$ em R1 e de $98\% \pm 5$ em R2 e, na Fase II, $99,6\% \pm 1$ em R1 e $92\% \pm 23$ em R2. No tempo de detenção hidráulica de 4 h, a remoção média de fenol ficou em torno de 50%, em ambos os reatores. Com o tempo de detenção hidráulica de 6 h, houve melhora na eficiência de remoção, atingindo $72\% \pm 35$ em R1 e $78\% \pm 25$ em R2. Análises microscópicas revelaram que os fungos cresceram bem nos suportes empregados, porém o uso de espuma de poliuretano provocou maiores problemas operacionais. Apesar dos bons resultados de remoção de matéria orgânica e de fenol, houve crescimento excessivo de biomassa no interior dos reatores contínuos, o que resultou na colmatação do leito, indicando necessidade de se procurar melhor ajuste nutricional do meio para controlar a geração da mesma.

Santos *et al.* (2006) estudaram a influência do tempo de detenção hidráulica (TDH) em um sistema contínuo constituído de um reator anaeróbio tipo UASB seguido de um reator biológico com fungos (RBF) para tratar efluente de uma indústria de beneficiamento de castanha de caju. O estudo foi realizado com sete ciclos temporais (8h e 2h, 8h e 1h, 4h e 8h, 4h e 6h, 4h e 4h, 4h e 2h e 4h e 1h), e se avaliou a influência do TDH na redução de DQO e remoção de amônia, nitrato e ortofosfato, nos reatores UASB e RBF, separadamente, e também no sistema. O reator UASB apresentou remoção de DQO em todas as etapas estudadas (8 h e 2 h, 8 h e 1h, 4 h e 8 h, 4 h e 6 h, 4 h e 4 h, 4 h e 2 h, 4h e 1h): 64,8%, 60,6%, 48,1%, 82,9%, 54,8%, 68,9% e 69,0%, respectivamente. A maior eficiência de redução de DQO, considerando o sistema (UASB-RBF) como um todo, foi de 93,8% na etapa de 4h e 2h. Uma combinação que apresentou melhores resultados, levando em conta boas remoções obtidas e baixo TDH foi a etapa de 4h (TDH do reator UASB) e 2h (TDH do RBF), apresentando reduções de: 93,8% de DQO, 86,7% de nitrato, 38,3% de amônia e 16% de ortofosfato.

3.5.1 Tratamento de águas residuárias têxteis por fungos

Na remoção biológica de cor de efluentes, o uso de fungos constitui uma alternativa de tratamento aeróbio, verificando-se a existência de dois mecanismos de atuação: a adsorção do corante pelo micélio do fungo e a degradação oxidativa da molécula do corante (MOHORCIC *et al.*, 2006).

Conneely *et al.* (1999) relataram que na degradação dos corantes primeiramente ocorre a bioadsorção, seguida da biodegradação, porém, no caso dos fungos, a degradação do corante envolve a ação de enzimas extracelulares, ao contrário das bactérias, onde atuam enzimas intracelulares (PARSHETTI *et al.*, 2007).

Oportunamente, não apenas tem sido observado nos estudos de tratamento de águas residuárias o uso de biomassa viva, mas também de biomassa morta, o que, segundo Sekhar *et al.* (1998), minimiza problema de toxicidade e a necessidade de adição de nutrientes para os microrganismos. Neste caso, porém, cita-se como aspecto negativo o fato do poluente ficar apenas adsorvido à biomassa, não ocorrendo sua assimilação e transformação em material celular.

Assim, pode não haver uma solução real do problema, a não ser que o poluente envolvido possa ser recuperado e posteriormente reutilizado para fins específicos (RODRIGUES, 2006).

Neste contexto, a maior parte das pesquisas sobre remoção de compostos orgânicos ocorre com emprego de células vivas, quando o poluente é removido do meio por degradação (KAPOOR *et al.*, 1999; RAO e VIRARAGHAVAN, 2002).

De acordo com Park *et al.* (2007), na década passada houve um grande incremento nas pesquisas com fungos visando a degradação de poluentes, devido a capacidade desses microrganismos de degradar uma gama de compostos de estrutura molecular variada. Os pesquisadores têm focado duas linhas de estudo: degradação de um corante pela aplicação de diferentes espécies e capacidade de uma única espécie na degradação de vários poluentes.

Assim, a aplicação de fungos em reatores biológicos no tratamento de diferentes águas residuárias industriais desponta como uma área com perspectivas promissoras, em face dos bons resultados alcançados, conforme relatos de Rodrigues (1999), Fu e Viraraghavan (2002), Sampaio (2005), Rodrigues (2006), Silva Filho (2006), Parshetti *et al.* (2007) e Rodrigues *et al.* (2007).

O potencial dos fungos em degradar diferentes compostos é devido à capacidade destes microrganismos de produzir grande número de enzimas (LUKE e BURTON, 2001), motivo pelo qual se tem intensificado a aplicação de fungos em reatores biológicos visando o tratamento de águas residuárias industriais, uma vez que os mesmos melhoram a eficiência global de remoção de vários poluentes (GARCIA *et al.*, 1997; D'ANNIABLE *et al.*, 2004). Quando do emprego de fungos em reatores, no caso dos fungos filamentosos, a ramificação do micélio é um aspecto positivo, pois funciona como um mecanismo complementar no processo de degradação, uma vez que a penetração da hifa no meio pode propiciar maior contato enzimático com o substrato, devido à elevada relação superfície: célula (WALLSTRÖM *et al.*, 2002).

A imobilização de células fúngicas é importante no processo biológico de tratamento de águas residuárias, pois permite que o microrganismo permaneça mais tempo em contato com o poluente. Em geral são utilizados como meio suporte os mais diferentes materiais, como mostrado na Tabela 3.4.

Segundo Rodrigues (2006), a imobilização pode ocorrer naturalmente ou ser induzida, de modo que a maioria dos fungos tende a aderir firmemente às superfícies devido à excreção de polissacarídeos com propriedades adesivas que fazem parte da matriz polimérica que envolve o biofilme.

Tabela 3.4: Exemplos de materiais suporte usados em estudos de tratamento de águas residuárias

Meio Suporte	Fungo	Pesquisador
Espuma de poliuretano	<i>Geotrichum candidum</i>	Kim & Shoda (1999)
Tela de celulose	<i>Aspergillus niger</i>	Sankapal & Kulkarni (2002)
Tela de poliéster	<i>Aspergillus niger</i>	Villena & Gutiérrez-Correa (2003)
Espuma de poliuretano	<i>Aspergillus niger</i>	Mukhopadhyay <i>et al.</i> (2005)

Fonte: Rodrigues (2006).

Na adesão artificial ou induzida, os microrganismos são fixados nos interstícios de um material fibroso ou poroso com a ajuda de um gel ou membrana, ou seja, os microrganismos são retidos fisicamente. Já a imobilização natural é caracterizada pela aderência do microrganismo às superfícies ou a outros organismos por ligação química (COUTO *et al.*, 2004).

A capacidade de secretar polissacarídeos com propriedades adesivas permite que os fungos sejam capazes de aderir firmemente aos meios suportes (PETRE *et al.*, 1999). Segundo esses autores, fungos filamentosos apresentam grande afinidade por superfícies inorgânicas e orgânicas, porém os mecanismos de aderência ainda não se encontram esclarecidos.

A imobilização de células permite maior eficiência de remoção de compostos tóxicos pelos fungos, em relação a sistemas de tratamento com

biomassa dispersa, pois além do maior tempo de permanência no sistema, o microrganismo encontra-se mais adaptado (DI IACONI, 2002). A formação de biofilme aderido à superfície do material suporte ocorre com predomínio deste sobre culturas livres em suspensão, sendo crucial a utilização de suportes inertes que assegurem a retenção da biomassa no reator, resultando no aumento do tempo de retenção celular e da eficiência do reator (ALVES, 1999).

Particularmente, pode-se citar como vantagens da utilização de reatores com biomassa imobilizada a simplicidade de operação, a capacidade para suportar choques de carga orgânica, a baixa produção de sólidos e a baixa demanda de energia para operação (JOU & HUANG, 2003). O maior problema da imobilização de fungos em meios suporte para uso em reatores é a falta de mecanismos efetivos para controle da espessura do biofilme, o que pode contribuir para limitações à transferência de massa e à obstrução do leito (colmatação do sistema), implicando em problemas operacionais que resultam na perda de eficiência do tratamento, o que ocasiona eventuais remoções do excesso de biomassa, conforme observado por Rodrigues (2006), ou, até mesmo, retirada parcial ou total do meio suporte (FREITAS NETO, 2007).

Na degradação do corante em meio natural, ocorre à formação final de dióxido de carbono, amônia e água, após a clivagem das ligações do corante. *Phanerochaete chrysosporium* e *Trametes versicolor* têm sido uma das espécies de fungos mais estudadas para remoção de cor de efluentes têxteis devido a capacidade de secretar enzimas lignina e manganês peroxidases (RADHA *et al.*, 2005).

Estes autores estudaram a remoção dos corantes laranja ácido, vermelho ácido 114 e vermelho do congo, com concentrações variando de 0,02 a 0,4 g/L, por *Phanerochaete chrysosporium*. Os autores adicionaram individualmente os corantes em frascos de 250 mL contendo 100 mL de meio sintético inoculado com $3,2 \times 10^5$ células. O experimento foi realizado sob agitação de 60 rpm, durante sete dias, a 35°C. A determinação da concentração de corante foi medida por espectrometria, trabalhando-se com pH variando de 2 a 7 e temperatura de 20 a 45°C. Em menos de dois dias, o corante laranja ácido foi removido do meio devido a ação das enzimas peroxidases e oxidases produzidas pelo fungo, porém a maior remoção ocorreu para os corantes vermelho do congo e vermelho ácido 114, respectivamente de 90% para

concentração inicial de 0,02 g/L. Em geral, para todos os corantes, o percentual de remoção foi superior a 75%.

Balan e Monteiro (2001) estudaram a remoção do corante índigo azul ($C_{12}H_8O_2N_2$) pelos fungos *Phellinus gilvus*, *Pycnoporus sanguineus* e *Pleurotus sajor-caju*. Os fungos foram cultivados durante 7 dias em meio com extrato de malte para obtenção do micélio (0,6 mg de massa seca), que foi adicionado em frascos de erlenmeyer (250 mL) contendo 60 mL do meio descrito, conforme Pontecorvo *et al.* (1997), e corante (0,02% v/v), como única fonte de carbono. Os frascos foram mantidos no escuro, em cultura estática, à temperatura entre 25°C e 30°C, durante 4 dias. Nas primeiras 24 h, foi visualmente observada a remoção de cor do meio, sendo que não houve alteração no controle. A maior remoção de cor foi alcançada por *Phellinus gilvus* (100%), seguidos por *Pl. sajor-caju* (94%), *Py. sanguineus* (91%) e *Ph. chrysosporium* (75%).

Parshetti *et al.* (2007) utilizaram a espécie *Aspergillus ochraceus* em estudo de remoção de cor de meio contendo 0,1 g/L de corante reativo *Blue 25*. Foram realizados testes espectrofotométricos e visuais que mostraram que a remoção de cor ocorreu a partir de adsorção ao micélio fúngico, seguida da degradação. Os meios sintéticos empregados foram preparados com água destilada acrescida de glicose (1%) – meio I; água destilada acrescida de peptona (1%) – meio II; água destilada acrescida de glicose (1%) e peptona (1%) – meio III e água destilada tamponada com fosfato de potássio (50 mM, pH 7,4) – meio IV. Os meios foram transferidos para seis reatores em batelada de 250 mL, contendo biomassa de *Aspergillus ochraceus* e o corante à 30°C, sendo que três reatores com os meios I, II, III e IV foram mantidos sob condições estáticas e outros três, sob agitação (150 rpm). Foram realizadas análises por cromatografia, a fim de identificar os subprodutos formados, e por espectrofotometria para determinação do percentual do corante adsorvido ao micélio. Os autores observaram ser a agitação importante para obtenção de maiores eficiências de tratamento, tendo-se obtido melhores resultados com o uso de glicose, com tempo de adsorção de 4 h e de degradação de 7 dias. No meio contendo peptona, os resultados foram inferiores, obtendo-se tempo de adsorção de 10 h e de degradação de 15 dias. No meio III, o tempo de adsorção chegou a 5 h e a de degradação a 11 dias, sendo esse resultado atribuído à presença de glicose no meio.

Na Tabela 3.5 estão apresentados alguns trabalhos utilizando fungos para a remoção de corantes de águas residuárias têxteis.

Tabela 3.5: Trabalhos utilizando fungos para a remoção de corantes de águas residuárias têxteis.

Cultura	Corante	Mecanismo	Referência
<i>A. sojae B-10</i>	Amaranth	Não determinado	Ryu e Weon (1992)
<i>C. versicolor</i>	Verde ácido 27	Biodegradação e biossorção	Knapp <i>et al.</i> (1995)
<i>Trametes versicolor</i>	Índigo carmim	Biodegradação (ligninases)	Young e Yu (1997)
<i>Aspergillus feotidus</i>	Vermelho remazol	Biossorção	Sumathi e Phatak (1999)
<i>A. niger</i>	Azul básico 9	Biossorção	Fu e Viraraghavan (2000)
<i>Phellinus gilvus</i> , <i>Pl. sajor-caju</i> , <i>Py. sanguineus</i> e <i>Ph. chrysosporium</i>	Índigo azul	Não determinado	Balan e Monteiro (2001)
<i>A. niger</i>	azul básico 9, azul ácido 29, vermelho do congo e vermelho dispersivo 1	adsorção	Fu e Viraraghavan (2002)
<i>A. niger</i> AN-400	Preto pirazol 1500	Não determinado	Silva Filho <i>et al.</i> (2006)
<i>A. niger</i> AN-400	Azul marinho BL 250	Não determinado	Silva Filho <i>et al.</i> (2006)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Azul reativo 25	Biodegradação e biossorção	Parshetti <i>et al.</i> (2007)
<i>Irpex lacteus</i>	Laranja reativo 16	Biodegradação	Svobodová <i>et al.</i> (2007)

FONTE: adaptado de Fu e Viraraghavan (2001) e Rodrigues (2006).

Couto *et al.* (2004) estudaram a remoção de índigo carmim (solução aquosa de 0,07 g/L) utilizando *Trametes hirsuta* imobilizado em esponja de aço. O meio suporte foi previamente submetido à autoclave por 20 minutos a 121°C. Um reator biológico, de 1 L, operado em batelada, foi inoculado com o fungo e alimentado com o meio descrito por Abdulla *et al* (2000), adicionado de 3 g/L de glicose, 0,025 g/L de NH₄Cl e 1 mM de sulfato de cobre para estimular o sistema enzimático na produção de lacase. O experimento foi conduzido em triplicata, mantendo-se a temperatura em 30°C. Em 3 dias, o corante foi removido quase que totalmente.

Fu e Viraraghavan (2002) utilizaram biomassa morta de *Aspergillus niger* em estudo de adsorção de quatro diferentes corantes têxteis: azul básico 9, azul ácido 29, vermelho do congo e vermelho dispersivo 1. A espécie foi cultivada em meio de crescimento específico, conforme Fu e Viraraghavan (2000) e o micélio foi posteriormente separado por filtração em peneira de 150 µm e lavado com água deionizada. A biomassa recebeu pré-tratamento antes de ser utilizada, sendo transformada em partículas de dimensões menores ou iguais a 300 µm, mediante uso de pilão, e em seguida submetida a diferentes tratamentos durante 6 h e a 125 rpm, resultando em resíduos denominados de M1 (com imersão em metanol e ácido clorídrico); M2 (com imersão em formaldeído e ácido fórmico) e M3 (com imersão em fosfito e nitrometano). A biomassa que sofreu extração de lipídio a quente, segundo a metodologia descrita por Tobin *et al.* (1990), foi denominada de M4 (com extração de lipídio com acetona) e M5 (com extração de lipídio com benzeno). Experimentalmente, foram adicionados 0,2 g de biomassa pré-tratada em 75 mL de solução contendo corante (50 mg/L) em frascos de 125 mL, vedados com filme plástico, que permaneceram sob agitação a 125 rpm, durante 48 h. A concentração dos corantes foi medida a pH 7,6, por espectrometria. A maior remoção de azul básico 9 (98%) ocorreu no frasco contendo biomassa M2, o que foi atribuído à propriedade do ânion carboxilato, presente no resíduo da biomassa M2 devido ao pré-tratamento, de se ligar ao corante. Os maiores percentuais de remoção obtidos para as metodologias M1, M3, M4 e M5, respectivamente de 78%, 19%, 16% e 26%. Com relação à remoção de vermelho do congo, não houve remoção significativa de corante pelo uso de nenhuma das biomassas pré-tratadas, com reduções variando de 19% a 56%. Já a maior remoção de vermelho dispersivo I ocorreu na presença

das biomassas tratadas por M3 (100%). Os autores relataram que a capacidade de bioadsorção do corante pelo fungo estaria relacionada à estrutura molecular do corante e os pré-tratamentos aplicados na biomassa de *Aspergillus niger* resultaram em diferentes resultados de adsorção.

Silva Filho (2006) utilizou reator de escoamento contínuo, com volume de 3,5 L, inoculado com *Aspergillus niger* e material suporte de manta agulhada de poliamida para tratamento de água residuária sintética têxtil contendo 40 mg/L de corante preto pirazol 1500 e 25 mg/L de corante azul marinho BL250, os quais foram adicionados em água. O reator foi operado por período de três meses. A concentração de corante foi medida por espectrometria. As maiores reduções da concentração foram de 68% e 69%, respectivamente, para os corantes azul marinho BL250 e preto pirazol 1500, percentuais esses que são considerados baixos, melhores resultados poderiam ter sido alcançados, se o meio fosse provido de nutrientes e de fonte primária de carbono.

Svobodová *et al.* (2007) estudaram a degradação do corante reativo laranja 16 pelo fungo *Irpex lacteus*. Os fungos, após crescimento em placas contendo ágar foram transferidos para erlenmeyer de 250 mL contendo 20 mL de meio mineral com limitação de nitrogênio, onde permaneceram por 7 dias, a 28°C. Os fungos foram imobilizados em espuma de poliuretano, cortada em cubos de 1 cm³ que serviram de material suporte para reator biológico de 0,6 L de volume útil. Ao reator foi adicionado 150 mg/L de corante laranja e a vazão de circulação adotada foi de 5 mL/min. A concentração do corante foi medida por espectrometria (200 nm a 800 nm), a atividade enzimática pelos métodos álcool veratril e DMAB/MBTH, respectivamente, para determinação de lignina peroxidase e manganês peroxidase e a determinação de subprodutos por cromatografia. A concentração de matéria orgânica, em termos de DQO foi também determinada. Após 24 h, foi obtido 80% de remoção do corante, embora o decréscimo de DQO não tenha sido significativa. Os subprodutos presentes no meio foram identificados como sendo o 6-acetoamido-3,4-dioxo-3,4-dihidronaftaleno-2-sulfonato e (E)-2-(4-acetoamidofenil)-1-carboxieteno-sulfonato.

Eichlerová *et al.* (2007) utilizaram o fungo *Dichomitus squalens* em estudo visando a remoção dos corantes laranja G e azul remazol brilhante R de meio líquido e sólido, para concentrações de 0,5 g/L e 3 g/L. Os autores verificaram que a

espécie foi eficiente na remoção de cor, tanto no meio líquido como no sólido e em condições estáticas e sob agitação, em período de 14 dias. A presença dos corantes reduziu a produção de biomassa e causou modificações na estrutura morfológica do micélio, principalmente, no meio sólido. A produção de biomassa foi menor nas culturas que permaneceram sob condições estáticas, porém, em relação à remoção de cor, os resultados foram similares, independente da presença ou não de agitação, obtendo-se quase 100% de remoção do corante laranja G e de 94% a 98% de remoção do corante azul remazol brilhante R, a partir das concentrações em estudo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em regime de batelada, constituído por 28 reatores com função de controle e 56 com inóculo de *Aspergillus niger* AN 400. Estudou-se a eficiência do tratamento de água residuária sintética têxtil nos reatores com fungos em duas situações de crescimento, disperso e imobilizado, e na presença e ausência de glicose como fonte primária de carbono. O potencial de remoção do corante pela espécie fúngica foi avaliado e monitorado durante 25 dias.

O corante utilizado no experimento foi o vermelho do congo (Figura 4.1), $\lambda_{\text{máx.}} = 500 \text{ nm}$, obtido comercialmente pela VETEC.

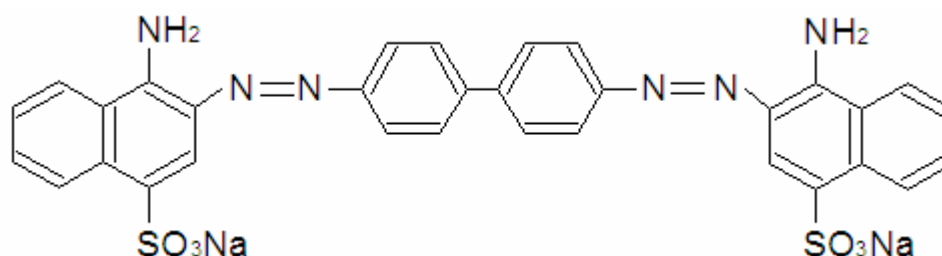


Figura 4.1: Estrutura química do corante vermelho do congo (C.I. 22120).

Na Figura 4.2 está apresentado o fluxograma com o desenvolvimento das etapas pertinentes à pesquisa.

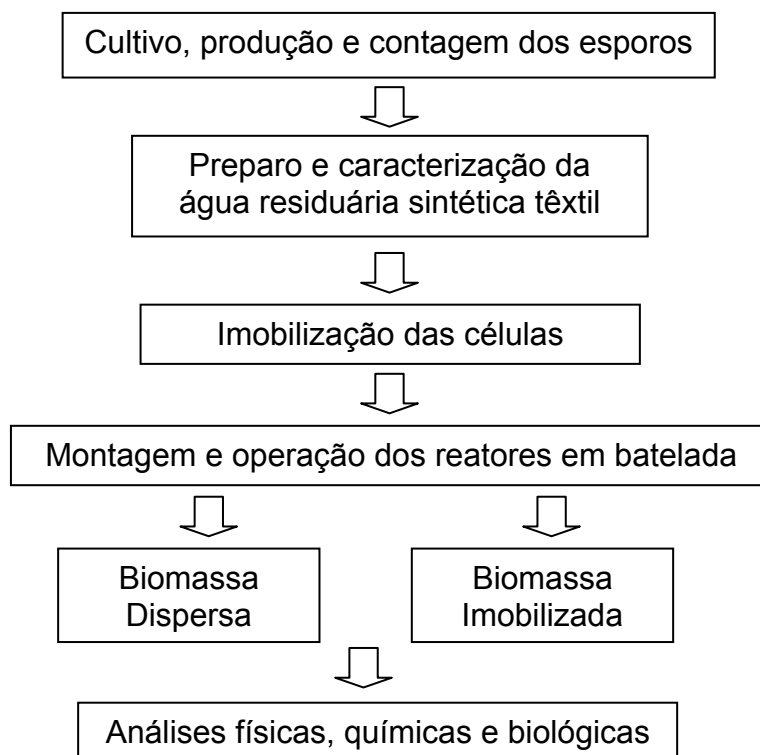


Figura 4.2: Fluxograma de desenvolvimento das etapas da pesquisa.

4.1 Cultivo, produção e contagem de esporos de *Aspergillus niger* AN 400

O cultivo e produção da espécie fúngica foi realizado de acordo com os procedimentos descritos em Sampaio (2005). A espécie *Aspergillus niger* AN 400 foi cultivada em placas de Petri com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose acrescido de 1 mL da solução de Vishniac por litro de meio de cultura e 50 mg de cloranfenicol/L, antibiótico para evitar a proliferação das bactérias.

As placas foram colocadas em uma caixa de isopor, a qual foi previamente limpa e desinfetada utilizando-se solução de hipoclorito de sódio a 10%, pelo período de três dias, mantida à temperatura média de 28°C. Na Tabela 4.1 está apresentada a constituição da solução de Vishniac.

Tabela 4.1: Constituição química da solução de Vishniac

Produto Químico	Concentração (g/L)
EDTA – etileno diamino tetracético	10,00
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	4,40
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,00
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,32
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,32
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	0,22
CaCl ₂ · 2H ₂ O	1,47
FeSO ₄ · 7H ₂ O	1,00

FONTE: Sampaio (2005).

Os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 foram removidos das placas com 4 mL de solução Tween 80 e transferidos para tubos de ensaio. Para contagem dos esporos foi preparada uma suspensão de esporos utilizando 50 µL de suspensão de esporos, previamente agitados em homogeneizador tipo Vórtex, acrescido de 950 µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida, 20 µL da solução preparada foram transferidos para uma câmara de Neubauer, onde se procedeu a contagem dos esporos em microscópio óptico. Para efeito de cálculo do número de esporos, foi empregada a equação 4.1.

$$\text{esporos/mL} = \text{esporos contados} \times \text{diluição} \times 2,5 \times 10^5 \quad (4.1)$$

4.2 Composição da água residuária sintética têxtil

A água residuária foi preparada com água destilada acrescida de 30 mg/L do corante vermelho do congo, 50 mg/L de cloranfenicol, para inibição de bactérias, e 1 mL/L de solução Vishniac, com nutrientes para os fungos.

4.3 Imobilização do fungo

A imobilização em espuma de poliuretano foi realizada com adição de esporos de *Aspergillus niger* AN 400 ($2,0 \times 10^6$ esporos/mL) em reservatório de 20 L, contendo água destilada autoclavada, glicose (10 g/L), Vishniac (1 mL/L), cloranfenicol (50 mg/L) e cubos de espumas de poliuretano, com aresta de 1,5 cm, tendo sido os mesmos autoclavados. O meio foi mantido sob aeração mecânica, promovida por mini-compressores de ar. Após 10 dias, a biomassa formada, aderida aos cubos de poliuretano, foi utilizada como inóculo nos reatores em batelada.

4.4 Montagem dos reatores

Foram montados reatores em batelada (Figura 4.3), os quais apresentavam volume total de 3,5 L e volume útil de 1,5 L. Os reatores possuíam parte superior vedada por tampa rosqueável e entrada de ar, que era fornecido por mini-compressores e difundidos no meio líquido por pedra porosa. Na Figura 4.4 está apresentado o esquema com detalhamento do reator em batelada, no caso com material suporte e biomassa imobilizada.

Os experimentos foram realizados em duplicata, de modo que, de um total de 84 reatores, 28 operaram como controle, 28 operaram com biomassa dispersa e 28 operaram com biomassa imobilizada em material suporte de espuma de poliuretano cortada em cubos com 1,5 cm de aresta e densidade de $21,2 \text{ kg/m}^3$, sendo a imobilização realizada conforme o procedimento descrito no item 4.3.

Os reatores com biomassa dispersa apresentavam-se agrupados da seguinte forma: 14 reatores de controle sem material suporte (CD); 14 reatores com

biomassa fúngica dispersa (FD) e 14 reatores com biomassa fúngica dispersa e glicose (FDG). Nos reatores FDG, a glicose foi adicionada como co-substrato na concentração de 1 g/L.

Semelhantemente, os reatores que apresentavam biomassa imobilizada, foram organizados em grupos de controle, sem glicose e com glicose disponível no meio, sendo: 14 reatores de controle com material suporte sem biomassa imobilizada (CI); 14 reatores com biomassa fúngica imobilizada (FI) e 14 reatores com biomassa fúngica imobilizada e glicose (FIG), adicionada ao meio na concentração de 1 g/L.



Figura 4.3: Reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG operados em batelada para remoção de vermelho do congo em meio aquoso sintético.

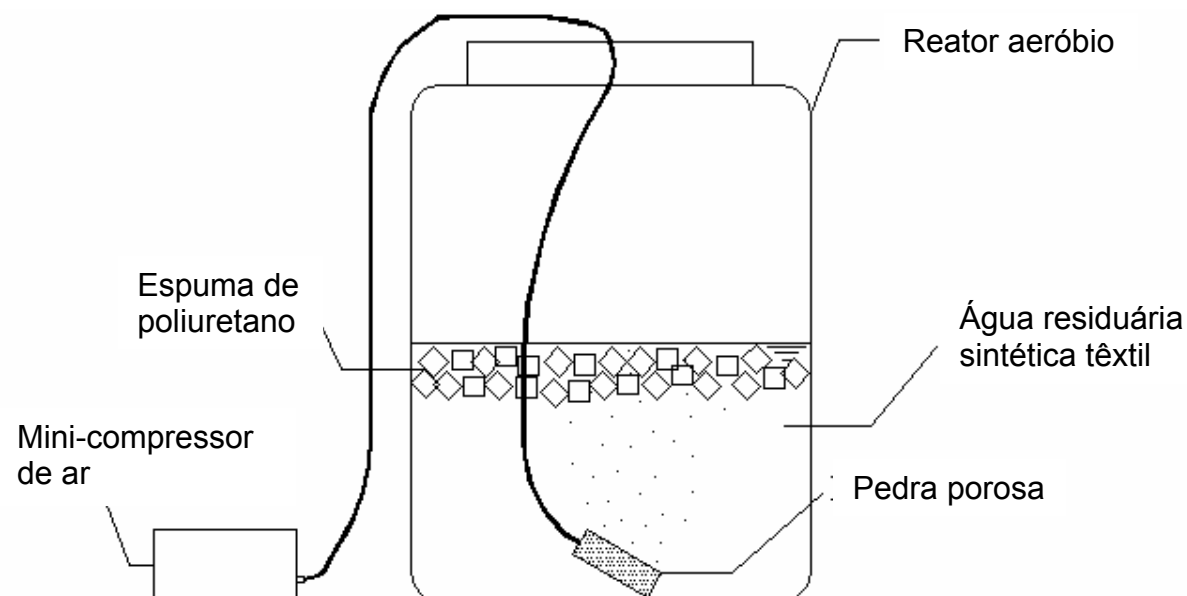


Figura 4.4: Detalhamento do reator em batelada utilizado no experimento.

Na Tabela 4.2 está apresentado a composição da água residuária sintética têxtil em cada reator da presente pesquisa.

Tabela 4.2: Composição da água residuária sintética têxtil em cada reator

Reatores	Cloranfenicol (50 mg/L)	Glicose (1 g/L)	Vermelho do congo (30 mg/L)	Vishniac (1mL/L)	Fungo	Espumas de poliuretano (7 g/reator)	Água destilada
Controle disperso (CD)	X	–	X	X	–	–	X
Controle imobilizado (CI)	X	–	X	X	–	X	X
Fungo disperso (FD)	X	–	X	X	X	–	X
Fungo imobilizado (FI)	X	–	X	X	X	X	X
Fungo disperso + glicose (FDG)	X	X	X	X	X	–	X
Fungo imobilizado + glicose (FIG)	X	X	X	X	X	X	X

(–) Ausência; (X) Presença

4.5 Análise por microscopia

No final da operação dos reatores, amostras da biomassa foram preparadas e submetidas à análise microbiológica, com o objetivo de confirmar a presença da espécie inicialmente inoculada.

Para facilitar a microscopia, a biomassa aderida em amostras dos meios suportes foi removida e diluída, em água destilada esterilizada (120°C e 1 atm), a 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} e, em seguida, 1 mL de cada diluição foi colocado em placas de Petri contendo meio de cultura Sabouraud. As placas foram mantidas à temperatura ambiente ($27 \pm 1^\circ\text{C}$), durante o período de uma semana, para verificação do crescimento.

Alíquotas das diluições foram fixadas em lamínulas com ágar para a realização da microscopia, utilizando microscópio LEICA de contraste de fases e fluorescência, acoplado à câmara com captura de imagem e software Pro-plus.

4.6 Métodos realizados para determinação das variáveis

As análises realizadas e os respectivos métodos utilizados estão mostrados na Tabela 4.3. A determinação das variáveis foi realizada conforme descrito em APHA (1995), exceto a concentração de corante, que foi determinada por uso de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Gilson modelo 3210, equipado com detector UV-VIS). A separação dos compostos foi realizada em coluna C18 Hichrom 5 nas seguintes condições: modo isocrático com fase móvel metanol/água (70/30 v/v), $\lambda = 270 \text{ nm}$, $Q = 1 \text{ mL/min}$ e volume de injeção igual a 20 μL . O tempo de corrida foi de 20 minutos.

Tabela 4.3: Variáveis determinadas e métodos utilizados

Variável	Método
DQO	Espectrofotométrico
pH	Potenciométrico
Corante	Cromatografia
SSV	Volatilização a 550°C

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A água residuária sintética têxtil, antes da adição do inóculo foi caracterizada e possuía os seguintes valores de parâmetros: concentração de corante de 30 mg/L, matéria orgânica, em termos de DQO, de 67 mg/L – meio sem glicose – e 1530 mg/L – meio com 1 g/L de glicose, e pH 7.

Na Figura 5.1 está apresentada a variação da concentração de corante ao longo do experimento para os reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG.

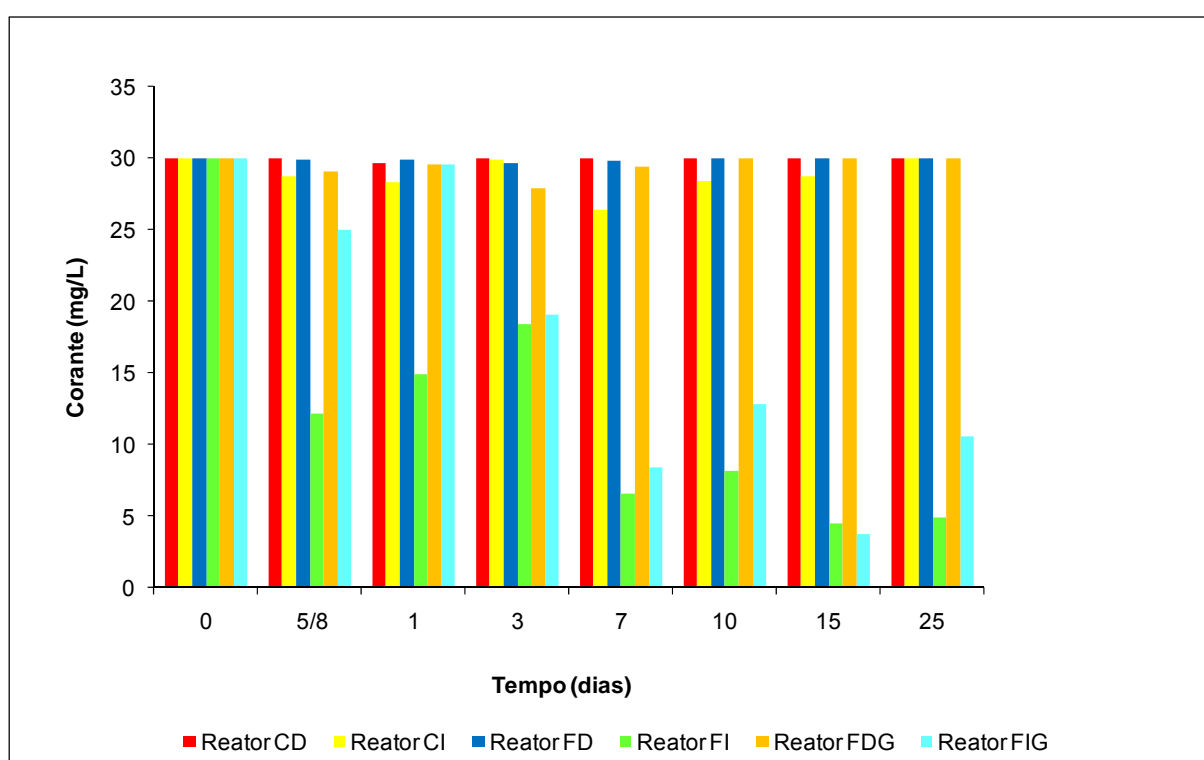


Figura 5.1: Variação da concentração do corante vermelho do congo ao longo do experimento em batelada para os reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG.

Segundo Sumathi e Manju (2000), os fungos geralmente necessitam de co-substrato para remoção de corante, sendo incapazes de utilizar corantes têxteis, de modo a produzir resultado satisfatório de tratamento, sem a presença de glicose ou outra fonte mais fácil de carbono.

Contrariamente, neste trabalho, tanto nos reatores FI (sem glicose) quanto nos FIG (com glicose), onde a biomassa se encontrava imobilizada em espumas de poliuretano, foram obtidas as maiores eficiências de remoção de

corante, indicando que a presença de glicose não foi preponderante para a diminuição da concentração de corante no meio líquido.

No 3º dia de batelada foram registrados percentuais de remoção de corante de 38,5% e 36%, respectivamente, nos reatores FI e FIG, sendo que as maiores reduções da concentração do vermelho do congo ocorreram no 15º dia, em torno de 87% nos reatores FIG e 85% nos reatores FI.

Nos reatores de controle CI, houve diminuição da concentração de corante, correspondente a um percentual máximo de 12%, no 7º dia, porém essa ligeira redução da concentração pode ser atribuída ao corante que provavelmente ficou adsorvido à espuma de poliuretano.

Na Tabela 5.1 está mostrada a variação da eficiência de remoção do corante nos reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG.

Tabela 5.1: Variação da eficiência (%) de remoção do corante nos reatores CD, CI, FD, FI, FDG e FIG.

Tempo(dias)	Eficiência de remoção (%)					
	CD	CI	FD	FDG	FI	FIG
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5/8	1,0	4,2	0,4	3,1	59,5	16,7
1	0,0	5,7	0,2	1,5	50,4	1,5
3	0,0	0,4	1,0	7,0	38,5	36,0
7	0,0	12,0	0,6	1,8	78,0	72,0
10	0,0	5,3	0,0	0,0	73,0	57,0
15	0,0	4,2	0,0	0,0	85,0	87,0
25	0,0	0,0	0,0	0,0	83,6	64,0

Semelhantemente, nos reatores que possuíam biomassa dispersa, verificou-se que a presença de glicose também não influenciou na obtenção de melhores eficiências de remoção de corante e os percentuais de remoção de corante foram muito inferiores aos dos reatores onde a biomassa se encontrava imobilizada, sendo apenas de 7% e 1%, respectivamente, nos reatores FDG e FD no 3º dia de operação.

No reator de controle CD, verificou-se que não houve redução da concentração de vermelho do congo.

Os melhores percentuais de eficiência obtidos nos reatores FIG e FI foram atribuídos ao fato do crescimento microbiano, nesses reatores, ser do tipo aderido, ou seja, com formação de biofilme. Assim, a melhor eficiência observada nos reatores com biomassa imobilizada estaria relacionada à criação de micro-ambientes específicos que garantiriam a maior estabilidade dos fungos no interior dos reatores, além de melhor contato entre os microrganismos e o substrato (ALVES, 1999).

Embora exista relação entre a estrutura molecular do corante e sua remoção de efluentes têxteis, a maioria das pesquisas tem relatado que a presença de co-substrato pode influenciar, tanto de forma positiva como negativa, na degradação do corante pelos fungos (KNAPP *et al.*, 1995).

Ambrósio e Campos-Takaki (2004) ao estudarem a remoção do corante laranja II de meio contendo 20 g/L de sacarose e 10 g/L de peptona (meio I) e outro, contendo 10 g/L de peptona (meio II), usando *Cunningamella elegans*, em cultura dispersa, determinaram que o corante laranja II foi eficientemente removido do meio I, com eficiência de 83%, em 96 h, enquanto que no meio onde o fungo não dispunha de sacarose, apenas de peptona, a remoção foi muito inferior, de apenas 43%, em 72 h. Complementarmente, esses mesmos autores, ao utilizar *Cunningamella elegans* para remoção de corante laranja II em meio contendo sacarose e ausência de peptona (meio III), obtiveram remoção de corante ligeiramente superior, a qual foi de 88%, em 96 h. Assim, foi possível constatar que o co-substrato apresentou importante valor na obtenção de bons resultados de remoção do corante pelo fungo, o que não ocorreu nesta pesquisa.

Por outro lado, Sampaio (2005) ao utilizar a espécie *Aspergillus niger* AN 400 para remoção de metil paration de meio contendo água e glicose, em reator de leito fixo e escoamento contínuo, observou inibição da remoção do pesticida quando do aumento da concentração de glicose adicionada ao meio. Neste caso, a autora obteve remoção de metil paration de 40% para 0,5 g/L de glicose, ocorrendo redução da eficiência para 35%, quando a glicose foi adicionada na concentração de 1 g/L de glicose, resultado que mostra inibição dos fungos pela presença de maior concentração de substrato.

Leitão *et al.* (2006) utilizou culturas da espécie fúngica *Penicillium chrysogenum*, enriquecidas com glicose em concentração de 3%, observaram

inibição do consumo de fenol, presente em meio sintético na concentração inicial de 250 mg/L de fenol.

Desta forma, verifica-se que a obtenção de boa eficiência de tratamento pelo uso da glicose pode estar relacionada, dentre outros fatores, ao tipo de microrganismo utilizado, bem como ao tipo de efluente.

Em relação à variação de matéria orgânica, em termos de DQO bruta, verificou-se aumento da concentração inicial em todos os reatores estudados (Figura 5.2), o que pode ser resultado da formação de subprodutos decorrentes da utilização do corante pelos fungos.

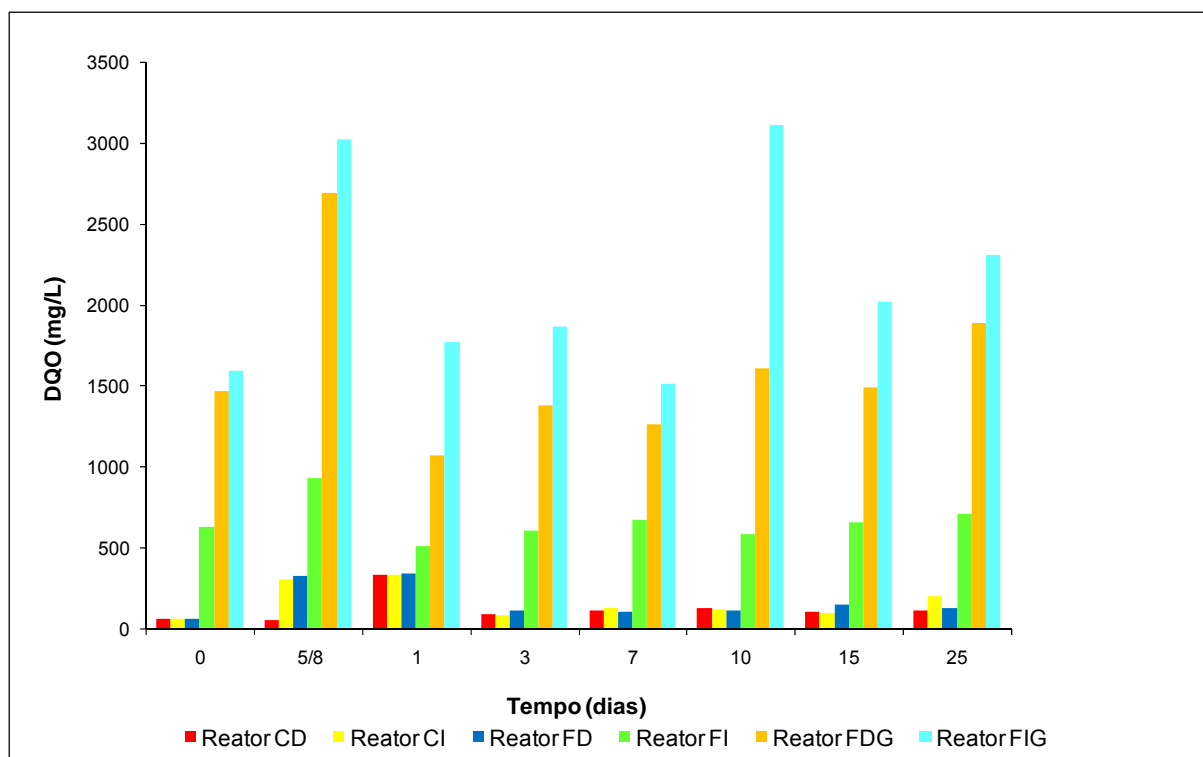


Figura 5.2: Variação da concentração de matéria orgânica em termos de DQO nos reatores em batelada CI, CD, FI, FD, FDG e FIG.

Dados de DQO filtrada obtidos no último dia da batelada mostraram que a diferença entre DQO bruta e filtrada desse dia não foi grande, conforme apresentado na Tabela 5.2, indicando que, possivelmente, a pouca eficiência da redução da concentração de DQO estaria relacionada com a presença de subprodutos formados no meio, ou mesmo, à substâncias excretadas pelos fungos oriundas do seu metabolismo.

Tabela 5.2: Comparação da DQO nas amostras bruta e filtrada no 25º dia da operação em batelada.

Reator	DQO (mg/L)	
	Amostra Bruta	Amostra Filtrada
CI	121	129
CD	208	127
FD	131	154
FDG	1887	1803
FI	716	693
FIG	2307	2013

A excreção de metabólitos durante a síntese ou produção de biomassa é relatada na literatura. A fonte de carbono, ao ser utilizada pelos fungos na síntese de biomassa, produz energia e metabólitos que podem ser acumulados no interior da célula ou excretados (WITTEVEEN, 1993; SOUZA *et al.*, 2005; RODRIGUES, 2006).

Na Figura 5.3 está apresentada a variação de biomassa no interior dos reatores, expressa em termos de SSV.

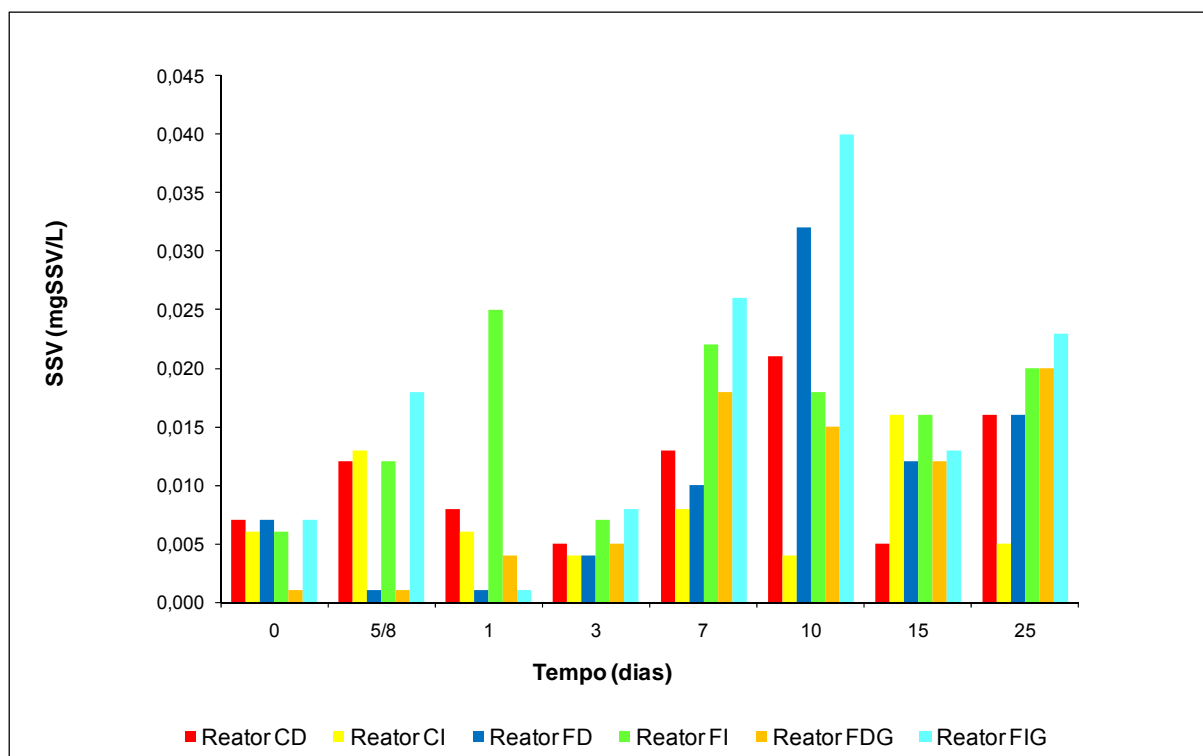


Figura 5.3: Variação de biomassa, expressa em SSV, no interior dos reatores CI, CD, FI, FD, FDG e FIG.

A variação de biomassa no interior dos reatores FDG e FD foi similar, indicando que a presença da glicose, na concentração utilizada, não promoveu crescimento diferenciado no reator FDG, o que se refletiu na eficiência de remoção do corante, de 7% e 1%, respectivamente, em FDG e FD no 3º dia de batelada, quando a biomassa, em termos de SSV, no interior dos reatores foi de 0,05 mg/L em ambos os reatores.

Valores maiores de SSV foram encontrados por Rodrigues *et al.* (2007) ao utilizar *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada para tratamento de meio sintético com fenol. A autora obteve produção máxima de biomassa de 6 mg/L, na ausência de glicose, e de 127 mg/L, nos reatores que receberam adição de glicose. A melhor eficiência ocorreu quando da adição de glicose no meio, a uma concentração de 5 g/L.

De acordo com a autora, a glicose proporcionou aos fungos melhores condições para o crescimento, promovendo uma adaptação dos microrganismos ao poluente e resultando em maior crescimento de biomassa e, conseqüentemente, melhor eficiência de tratamento.

Em outro trabalho, Rocha (2006), ao estudar a remoção de corante preto pirazol por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada, obteve produção máxima de biomassa dispersa, em termos de SSV, de 9 mg/L e de 11 mg/L, respectivamente, na ausência e na presença de glicose, indicando que, aparentemente, a glicose não foi preponderante para o crescimento dos fungos.

Nesta pesquisa, o crescimento de biomassa dispersa foi muito menor, e ainda a presença de glicose não contribuiu para o aumento de SSV, o que, possivelmente, pode estar relacionado ao tipo de poluente e à espécie envolvida.

Nos reatores com biomassa imobilizada, FI e FIG, independente da adição ou não de glicose no meio, encontrou-se valores similares da concentração de SSV no meio. Estes resultados indicam que o biofilme estava firmemente aderido ao material suporte (espuma de poliuretano), o que possivelmente contribuiu para a melhor eficiência de tratamento.

Segundo Papagianni e Matthey (2004), as técnicas de imobilização conduzem a aumento significativo na produção de enzimas, além de minimizar problemas relacionados às formas morfológicas produzidas, pois eliminam os riscos de autólise central, causada pela limitação da passagem de oxigênio e glicose, o

que se reflete na maior eficiência de remoção de matéria orgânica, obtendo-se efluente final de melhor qualidade.

Com relação aos reatores de controle, CD e CI, a concentração de SSV no meio aumentou, porém atingiu valores muito menores em relação aos reatores com fungos, variando de 0 a 0,021 mg/L.

Na Figura 5.4 está apresentada a variação do pH nos reatores CI, CD, FD, FDG, FI e FIG. Verificou-se apreciável diminuição do valor do pH nos reatores que receberam biomassa imobilizada, tanto em FI como em FIG, assumindo valores entre 3 e 5 na maior parte do experimento.

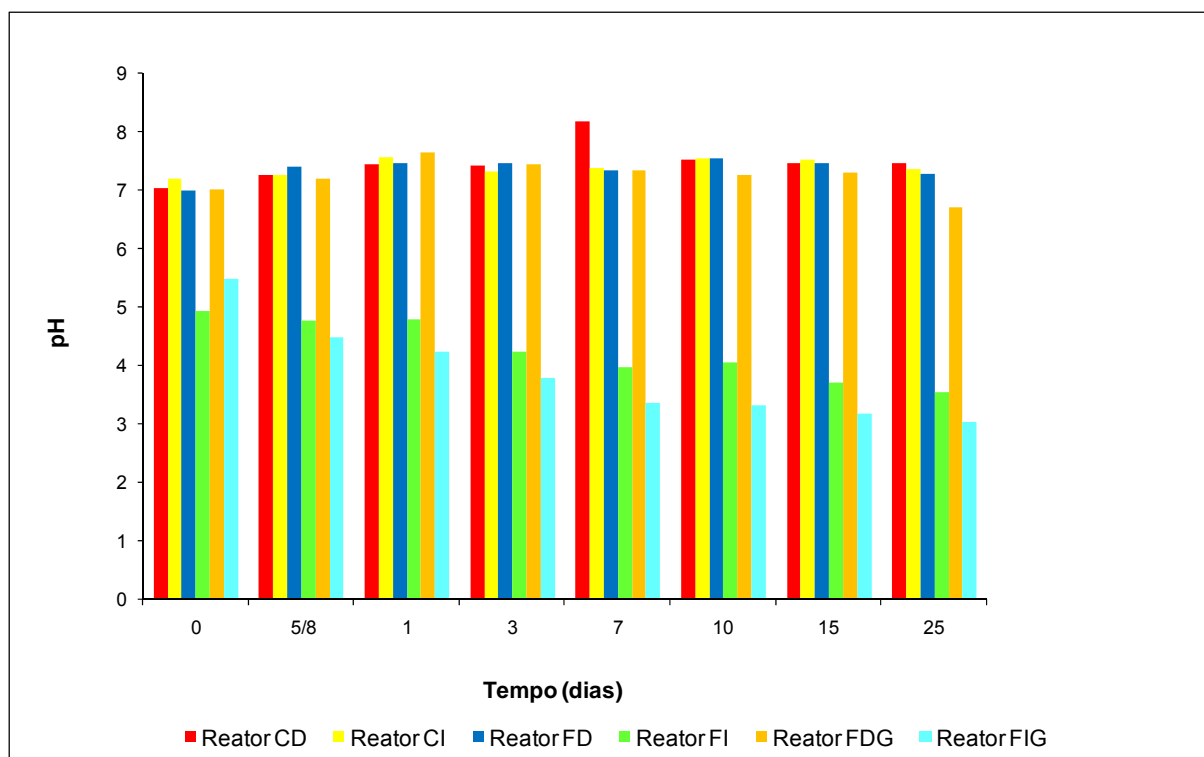


Figura 5.4: Variação do pH nos reatores CI, CD, FD, FDG, FI e FIG.

Assadi e Jahangiri (2001) observaram maiores remoções de fenóis ao utilizar o *Aspergillus niger* em meio com pH entre 3 e 7, as quais foram superiores a 60%, reforçando que baixos valores de pH são mais propícios aos fungos. Provavelmente, os valores mais baixos de pH registrados na presente pesquisa são resultado da produção de ácidos orgânicos decorrentes da utilização do corante pelos fungos.

Assas *et al.* (2002) obtiveram resultados semelhantes quando da utilização de *Geotrichum candidum* para o tratamento do efluente da indústria de azeite de oliva e a diminuição do pH foi atribuída à geração de ácidos orgânicos.

Rodrigues *et al.* (2007) também observaram diminuição do pH no meio, quando o consumo de fenol por *Aspergillus niger* em meio sintético aquoso chegou a assumir valores próximos de 2 quando a glicose estava a disposição dos fungos, o que também foi atribuído à maior produção de ácidos oriundos da degradação do substrato, no caso, fenol. Assim, segundo estes autores, os valores baixos de pH foram reflexo da atividade metabólica dos fungos.

Nos reatores com biomassa dispersa, onde os valores de pH foram inicialmente mais elevados, pH variando de 6,7 a 7,7, a remoção de corante foi baixa, com percentuais máximos de 7% (FDG) e 1% (FD).

Especificamente, nos reatores com biomassa imobilizada, FI e FIG, a coloração foi alterada de vermelho para azul durante as reações biológicas, o que, de acordo com Purkait *et al.* (2007), pode ser relacionado à presença de maior quantidade de ácidos gerados a partir do corante, pois, em sistemas com pH abaixo de 5, ocorre alteração da cor de vermelho, observada em pH entre 5 e 10, para azul. Neste estudo, quando ocorreram as maiores remoções de corante nos reatores com biomassa imobilizada, de 87% (FIG) e 85% (FI), no 15º dia, o meio apresentava pH com valores de 3,2 e 3,7, respectivamente. Em contrapartida, nos reatores com biomassa fúngica dispersa o pH variou de 6,7 a 7,0 e, conseqüentemente, as remoções de corante foram muito menores, com remoções máximas de 7% (FDG) e 1% (FD), no 3º dia.

Nos reatores de controle (CD, CI), não houve alteração substancial da coloração do meio ao longo da batelada, indicativo da menor produção de ácidos e, conseqüentemente, da utilização do vermelho do congo como substrato, o que ficou refletido nos valores de pH apresentados nestes reatores ($\text{pH} \geq 7$) e na baixa eficiência de remoção do corante, com percentuais de remoção de corante abaixo de 12%.

Na Figura 5.5 estão apresentadas amostras da água residuária provenientes dos reatores estudados, e sua respectiva variação de cor ao longo da batelada.

Nos reatores FI e FIG a cor inicial do meio apresentou-se alterada (Figura 5.5a) em virtude do material empregado como inóculo, biomassa immobilizada em espuma de poliuretano, encontrar-se umedecida com o meio de cultura da etapa de imobilização, apresentando pH abaixo de 5. Esse menor valor do pH, aparentemente, foi benéfico aos fungos, o que ficou refletido na eficiência de remoção de corante, sendo estes reatores os que alcançaram maiores percentuais de remoção do poluente, correspondentes a percentuais de 83% em FI e 64% em FIG no último dia da batelada.

Outrossim, a própria biomassa immobilizada encontrava-se estruturalmente mais protegida do efeito tóxico do poluente, pois, de acordo com Steffan *et al.* (2005), a imobilização se constitui em uma técnica eficiente que permite à célula microbiana a capacidade de se proteger de condições ambientais desfavoráveis.

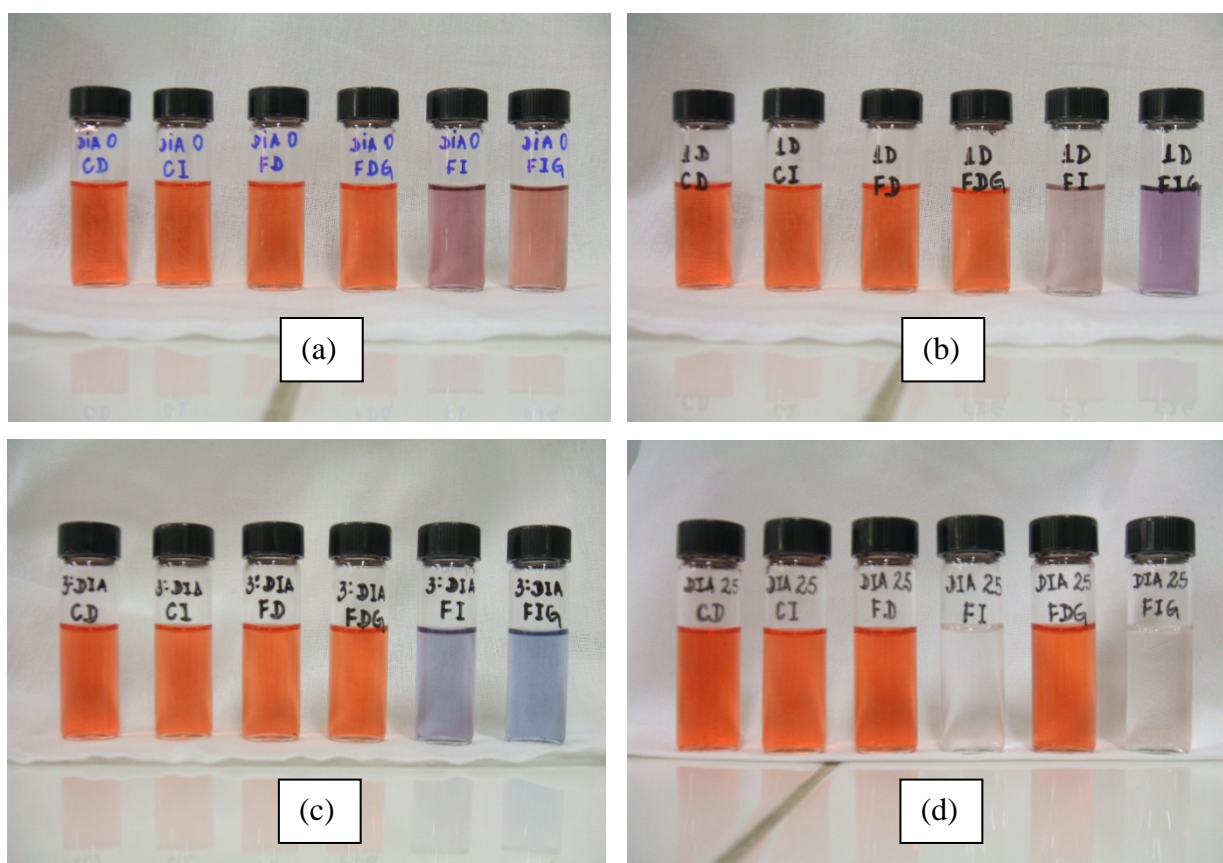


Figura 5.5: Variação da cor nos reatores ao longo da batelada: (a) amostras retiradas na partida; (b) amostras retiradas após o 1º dia; (c) amostras retiradas após o 3º dia; (d) amostras retiradas no 25º dia.

Desta forma, a biomassa, uma vez estabelecida na superfície do material na forma de biofilme, a camada microbiana envolvida por densa matrix exo-

polissacarídica (Nascimento e Taveira, 2001), assegura aos fungos maior resistência e capacidade de adaptação às condições do meio.

Ressalta-se ainda que, no 15º dia, foi registrada em FIG remoção de 87% de corante, de modo que a diminuição da eficiência no último dia pode ser atribuída a possível liberação de corante adsorvido ou armazenado nos vacúolos dos fungos como material de reserva (Rodrigues, 2006).

Segundo Cole *et al.* (1998), os vacúolos fúngicos são estruturas localizadas no centro das hifas, equivalentes ao sistema endossomal/lisossomal das células animais e que funcionam como compartimento para armazenar moléculas, freqüentemente compostos contendo fósforo e nitrogênio, posteriormente utilizadas pela célula, participando também no transporte de alimento.

Na Figura 5.6 está mostrada microscopia realizada em amostras da biomassa dos reatores em estudo.

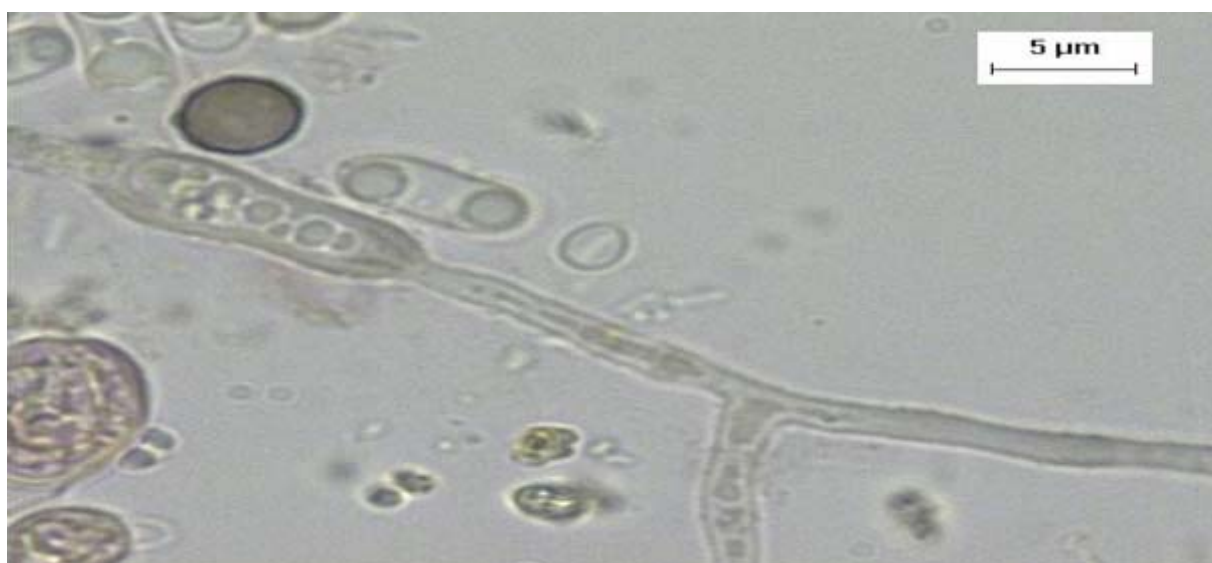


Figura 5.6: Microscopia realizada em amostra da biomassa presente no reator FI, no 25º dia.

Verificou-se alargamento na hifa contendo os vacúolos, bem como deformações em outras estruturas, como no conidióforo, que não apresentou mais as filíades contendo os esporos. Rodrigues (2006) também observou deformações no *Aspergillus niger* ao utilizá-lo para remover fenol de meio líquido, e atribuiu as deformações ao efeito tóxico do poluente sobre o fungo. A microscopia também revelou a presença de esporos dispersos no meio. Os esporos são estruturas de reprodução, disseminação e preservação dos fungos e estarão em estado de

latência até que possam dispor de condições favoráveis ao seu desenvolvimento (CARLILE & WATKINSON, 1994). Neste estudo foram encontrados ainda leveduras e bactérias, particularmente nos reatores de controle, porém, aparentemente, em menor proporção em relação aos fungos, indicando sua participação na remoção do corante vermelho do congo do meio sintético utilizado nesta pesquisa.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu estabelecer as seguintes conclusões:

- A glicose (co-substrato) na concentração de 1 g/L não foi suficiente para influenciar o processo para a obtenção de maiores eficiências de remoção de corante e, em geral, não foi capaz de suprir as necessidades primárias de carbono dos fungos cuja produção de biomassa foi muito baixa.
- A imobilização dos fungos em espuma de poliuretano permitiu melhor adaptação dos microrganismos às condições adversas do meio contendo corante, o que ficou refletido nas maiores reduções da concentração de corante alcançadas pelos reatores que dispunham de biomassa imobilizada, 87% e 85%, respectivamente, em FIG (reator biológico com fungo imobilizado com adição de glicose) e FI (reator biológico com fungo imobilizado sem adição de glicose), em tempo de reação de 15 dias.
- A provável presença de compostos oriundos da degradação do corante e substâncias excretadas no meio pelos fungos, como resultado dos valores elevados de DQO, que não acompanhou a variação da concentração do corante.
- Nos reatores com biomassa imobilizada a produção de ácidos, evidenciada pela alteração da coloração do meio (vermelho para azul), indicou qualitativamente que o corante foi utilizado pelos fungos como fonte de carbono e energia.

7 RECOMENDAÇÕES

A partir dos resultados e conclusões obtidas nesta pesquisa, recomenda-se:

- Estudar a eficiência de reatores em batelada para a remoção do corante vermelho do congo com diferentes espécies de fungos;
- Verificar a toxicidade do corante vermelho do congo ao *Aspergillus niger* AN 400, em várias concentrações;
- Determinar parâmetros cinéticos e estabelecer modelos que descrevam o comportamento dos fungos na etapa de batelada;
- Verificar o emprego de diferentes concentrações de glicose e de outros substratos primários sobre a eficiência do processo;
- Estudar a eficiência de remoção do corante vermelho do congo por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores de leito fixo e fluxo ascendente;
- Desenvolver um sistema combinado de tratamento biológico, composto de reator anaeróbio seguido de reator aeróbio com fungo, para a remoção do corante vermelho do congo;
- Estudar a eficiência e realizar estudos de viabilidade econômica, para um sistema combinando tratamento biológico e tratamento físico-químico ou químico avançado para a remoção de diversos tipos de corantes.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLA, F. A., NOVAN, T. D., SMITH, P. A. **Cellular neurophysiological actions of nociceptin, orphenin FQ.** Peptides, v. 21, n. 7, p. 969 – 976, 2000.

AINSWORTH, G. C., SUSSMAN, A. S. **The fungi: an advanced treatise**. London: Academic Press, v. 1, 426 p., 1966.

ALVES, M. M. **A new device to select microcarries for biomas immobilization to an anaerobic consortium**. Water Environment Research, v. 71, n. 2, p. 209 – 217, 1999.

AMBRÓSIO, S. T., CAMPOS-TAKAKI, G. M. **Decolorization of reactive azo dyes by *Cunninghamella elegans* UCP 542 under co-metabolic conditions**. Bioresource Technology, v. 91, p. 69 – 75, 2004.

APHA. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 19^a edição. American Water Work Association, Water Environment federation. Washington: 953 p, 1995.

ARAÚJO, W. N., SILVA, M. H., MARTINEZ, T. C. N., BANAS, S. L. B., SILVEIRA, V. F. **Determinação do número de fungos filamentosos e leveduras no queijo Minas comercializado na região metropolitana de Salvador – Bahia**. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v. 2, n. 1, p. 10 – 14, 2001.

ASSADI, M. M., JAHANGIRI, M. R. **Textile wastewater treatment by *Aspergillus niger***. Desalination, v. 14, p. 1– 6, 2001.

ASSAS, N., AYED, L., MAROUANI, L., HAMDY, M. **Decolorization of fresh and stored-black olive Mill wastewaters by *Geotrichum candidum***. Process Biochemistry, v. 38, p. 361 – 365, 2002.

BALAN, D. S. L., MONTEIRO, R. T. R. **Decolorization of textile índigo dye by lignolytic fungi**. Journal of Biotechnology, v. 89, p. 141 – 145, 2001.

BITTON, G. **Wastewater microbiology**. New York: John Wiley & Sons, 179 p., 1994.

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

BRAÚNA, C. H. DA C. **Efeito do nitrato na descoloração redutiva de corante azo por lodo anaeróbico mesofílico**. 2007. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) - Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

CAMPOS, R., DE MIO, P. A. **Indigo degradation with purified laccases *Trametes hirsute* and *Sclerotium rolfsii***. Journal of Biotechnology, v. 89, p. 131 – 139, 1996.

CARLIELL, C. M., BARCLAY, S. J., NALDOO N., BUCKLEY, C. A., MULHOLLAND, D. A., SENIOR, E. **Microbial decolourization of a reactive azo dye under anaerobic conditions**. Water S A., v. 21, p. 122 – 126, 1995.

CARLILE, M. J., WATKINSON, S. C. **The Fungi**. San Diego: Academic Press – Harcourt Brace & Company, 1994.

CHAPMAN, D., KIMSTACH, V. **Selection of water quality variables**. In: Chapman, D. (Ed.) Water quality assessments: A Guide to the Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring. 2^a ed., E&FN Spon, 2–6 Boundary Row, London SE1 8HN, UK, pp. 74–132, 1996.

CHRISTIE, R. **Colour Chemistry**. Cambridge, United Kingdom: The royal Society of Chemistry, 2001.

COLE, L., ORLOVICH, D. A., ASHFORD, A. E. **Structure, function and motility of vacuoles in filamentous fungi**. Fungal Genetics and Biology, v. 24, p. 84 – 100, 1998.

CONNELLY, A., SMYTH, W. F., MC MULLAN, G. **Metabolism of the phthalocyanine textile dye remazol turquoise blue by *Phanerochaete chrysosporium***. FEMS Microbiology Letters, v. 179, p. 333 – 337, 1999.

CORAL, G., ARIKAN, B., ALDI, M. N., GUVENMEZ, H. **Some properties of crude carboxymethyl cellulase of *Aspergillus niger* Z10 wild-type strain**. Turk J. Biol., v. 26, p. 209-213, 2002.

COUTO, C. R., SANROMÁN, M. A., HOFER, D., GÜBITZ, G. M. **Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilization of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolorization of textile dyes**. Bioresource Technology, v. 95, p. 67 – 72, 2004.

D'ANNIBALE, A., CASA, R., PIERUCCETTI, F., RICCI, M., MARABOTTINI, R. ***Lentinula edodes* removes phenols from olive-mill wastewater: impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability**. Chemosphere, v. 54, p. 887 – 894, 2004.

DI IACONI, C. **Combined chemical and biological degradation of tannery wastewater by a periodic submerged filter (SBBR)**. Water Research, v. 36, p. 2205-2214, 2002.

DOS SANTOS, A. B., CERVANTES, F. J., VAN LIER, J. B. **Review paper on current Technologies for decolourization of textile wastewater: Perspectives for anaerobic biotechnology**. Bioresource Technology, 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.11.013.

EICHLEROVÁ, I., HOMOLKA, L., BENADA, O., KOFRONOVÁ, O., HUBALÉK, T., NERUD, F. **Decolorization of orange G and remazol brilliant blue R by the white rot fungus *Dichomitus squalens*: Toxicological evaluation and morphological study**. Chemosphere, 2007, doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.04.083.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1997). ***Aspergillus niger* Final Risk Assessment** – Biothechnology Program Under Toxic.

ESPOSITO, E., AZEVEDO, J. L. DE **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 510 p., 2004.

FACÓ, A. M. **Tratamento de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos**. 2002. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

FACÓ, A. M.; SANTAELLA, S. T.; SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTOS, E. M. A. (2003). **Tratamento biológico de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos**. III Encontro de pesquisa e pós-graduação do CEFET, Fortaleza-CE- Brasil.

FADIL, K., CHAHLAOUI, A., OUAHBI, A., ZAID, A., BORJA, R. **Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry**. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 51, p. 37 – 41, 2003.

FIGUEIREDO, S. A., LOUREIRO, J. M., BOAVENTURA, R. A. **Natural waste material containing chitin as adsorbents for textile dyestuffs: Batch and continuous studies**. Water Research, v. 39, p. 4242 – 4152, 2005.

FITZ-GIBBON, F.; SINGH, D.; McMULLAN, G.; MARCHANT, R. **The effect of phenolic acids and molasses spent wash concentration of distillery wastewater remediation by fungi**. Process Biochemistry, v. 33, p. 799 – 803, 1998.

FRIJTERS, C. T. M. J., VOS, R. H., SCHEFFER, G., MULDER, R. **Decolorizing and detoxifying textile wastewater, containing both soluble and insoluble dyes, in a full scale combined anaerobic/aerobic system**. Water Research, v. 40, p. 1249 – 1257, 2006.

FREITAS NETO, M. de A. **Tratamento biológico do líquido da casca do coco verde**. 2007. 135 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, com área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. **Removal of dye from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger***. Water Qual. Res. J. Can, v. 35, p. 95-111, 2000.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. **Fungal decolorization of dye wastewaters: a review**. Bioresource Technology, v. 79, p. 251-262, 2001.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. **Removal of congo red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger***. Advances in environmental research, v. 7, p. 239 – 247, 2002.

GHARSALLAH, N., LABAT, M., ALOUI, F., SAYADI, S. **The effect of *Pahanerochaete chrysosporium* pretreatment of olive mill waste waters on anaerobic digestion**. Resources, Conservation and Recycling, v. 27, p. 187 – 192, 1999.

GARCIA, I. G., PEÑA, P. R. J., VENCESLADA, J. L. B., MARTIN, A. M., MARTIN, M. A. S., GÓMEZ, E. R. **Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum***. Process Biochemistry, v. 35, p. 751 – 758, 2000.

GARCIA, I. G., VENCESLADA, J. L. B., PEÑA, P. R. J. **Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum***. Water Research, v. 31, n. 8, p. 2005 – 2001, 1997.

GORINI, A. P. F. **Panorama do setor têxtil no Brasil e no mundo: reestruturação e perspectivas**. Rio de Janeiro: BNDS Setorial, v. 12, p. 17 – 50, 2000.

GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. New York: Wiley-Liss, 458 p., 1994.

GUARANTINI, C. C. I., ZANONI, M. V. B. **Corantes têxteis**. Química Nova, v. 23, n. 1, p. 71 – 78, 2000.

HAO, O. J., KIM, H., CHANG, P. C. **Decolourization of wastewater**. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, v. 30, p. 449 – 505, 2000.

HASSEMER, M. E. N., SENS, S. **Tratamento do efluente de uma indústria têxtil, processo físico-químico com ozônio e coagulação/floculação**. Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 7, n.1 e n.2, 2002.

JOU, C. G., HUANG, G. **A pilot study for oil refinery wastewater treatment using a fixed-film bioreactor**. Advances in Environmental Research, v. 7, p. 463 – 469, 2003.

KAPOOR A., VIRARAGHAVAN, T., CULLIMORE, D. R. **Removal of heavy metals using fungus *Aspergillus niger***. Bioresource Technology, v. 70, p. 95 – 104, 1999.

KASINATH, A., NOVOTONÝ, C., SVOBODOVÁ, K., PATEL, K., SASEK, V. **Decolorization of synthetic dyes by *Irpex lacteus* in liquid cultures and packed-bed bioreactor**. Enzyme Microbiology Technology, v. 32, p. 167 – 173, 2003.

KIM, S. J., SHODA, M. **Batch decolorization of molasses by suspended and immobilized fungus of *Geotrichum candidum* Dec 1**. Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 88, n. 5, p. 586 – 589, 1999.

KNAPP, J. S., NEWBY, P. S., REECE, L. P. **Decolorization of dyes by wood – rotting basidiomycete fungi**. Enzyme Microbiology Technology, v. 17, p. 664 – 669, 1995.

KYRIACOU, A., LASARIDI, K. E., KOTSOU, M., BALIS, C., PILIDIS, G. **Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater**. Process Biochemistry, v. 40, p. 1401 – 1408, 2005.

KUMARI, K., ABRAHAM, T. E. **Biosorption of anionic textile dyes by nonviable biomass of fungi and yeast.** *Bioresource Technology*, v. 98, p. 1704 – 1710, 2007.

LACAZ, C. DA S., PORTO, E., HEINS-VACCARI, E. M., MELO, N. T. **Guia para a identificação de fungos, actinomicetos e algas de interesse médico.** São Paulo: SARVIER. 445p., 1998.

LEITÃO, A. L., DUARTE, M. P., OLIVEIRA, J. S. **Degradation of phenol by a halotolerant strain of *Penicillium chrysogenum*.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 29, p. 340 – 345, 2006.

LOURENÇO, N. D., NOVAIS, J. M., PINHEIRO, H. M. **Effect of some operational parameters on textile dye biodegradation in a sequential batch reactor.** *Journal of Biotechnology*, v. 89, p. 163 – 174, 2001.

LUKE, A. K., BURTON, S. G. **A novel application for *Neurospora crassa*: progress from batch culture to a membrane bioreactor for the bioremediation of phenols.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 29, p. 348 – 356, 2001.

MCMULLAN, G., MEEHAN, C., CONNEELY, A., KIRBY, N., ROBINSON, T., NIGAM, P., BANAT, I. M., MARCHANT, R., SMYTH, W. F. **Microbial decolourization and degradation of textile dyes.** *Applied Microbial Biotechnology*, v. 56, p. 81 – 87, 2001.

MOHORCIC, M., TEODORIVIC, S., GOLOB, V., FRIEDRICH, J. **Fungal and enzymatic decolorization of artificial textile dye baths.** *Chemosphere*, v. 63, p. 1709 – 1717, 2006.

MUKHOPADHYAY, R., CHATTERJEE, S., BANERJEE, P. C., GUHA, A. K. **Production of gluconic acid from whey by free and immobilized *Aspergillus niger*.** *Internacional Dairy Journal*, v. 15, n. 3, p. 299 – 303, 2005.

NASCIMENTO, T., TAVEIRA, N. **Os biofilmes microbianos como agentes causais de doenças humanas.** *Biologias*, v. 4, p. 1 – 6, 2001.

PALMIERI, G., CENAMMO G., SANNIA, G. **Remazol brilliant blue R decolourization by the fungus *Pleurotus ostreatus* and its oxidative enzymatic system.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 36, p. 17 – 24, 2005.

PAMBOUKIAN, C. R. D. **Influência das condições de preparo de inóculo na morfologia do microrganismo e na síntese de glicoamilase por *Aspergillus awamori*.** 1997. 189 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

PAPAGIANNI, M. **Fungal morphology and metabolito production in submerged mycelial processes.** *Biotechnology Advances*, v. 22, p. 189 – 259, 2004.

PAPAGIANNI, M., MATTEY, M. **Physiological aspects of free and immobilized *Aspergillus niger* cultures producing citric acid under various glucose concentrations.** *Process Biochemistry*, v. 39, n. 12, p. 1963 – 1970, 2004.

PAPAGIANNI, M.; MOO-YOUNG, M. **Protease secretion in glucoaylase producer *Aspergillus niger* cultures: fungal morphology and inoculum effects.** *Process Biochemistry*, v. 37, p. 1271 – 1278, 2002.

PARK, Y., LEE, M., LEE, B., KIM, S-W., CHASE, H. A., LEE J., KIM, S. **Biodegradation and biosorption for decoloration of synthetic dyes by *Funalia trogii*.** *Water Biochemical Engineering Journal*, v. 36, p. 59 – 65, 2007.

PARSHETTI, G. K., KALME, S. D, GOMARE, S. S., GOVINDWAR, S. P. **Biodegradation of Reactive Blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146.** *Bioresource Technology*, v. 98, n.18, p.3638 – 3642, 2007.

PASHOVA, S., SLOKOSKA, L., SHEREMETSKA, P., KRUMOVA, E., VASILEVA, L. ANGELOVA, M. **Physiological aspects of immobilized *Aspergillus niger* cells producing polymethylgalacturonase.** Process Biochemistry, v. 35, p. 15 – 19, 1999.

PATEL, R., SURESH, S. **Kinetic and equilibrium studies on the biosorption of reactive black 5 dye by *Aspergillus feotidus*.** Bioresource Technology, 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.12.003.

PAZARLIOGLU, N. K., UREK, R. O., ERGUN, F. **Biodecolorization of direct blue 15 by immobilized *Phanerochaete chrysosporium*.** Process Biochemistry, v. 40, p. 1923 – 1929, 2005.

PELCZAR, M.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** 2ª ed. São Paulo: McGraw-Hill, v. I, 517p., 1996.

PETERNEL, I., KOPRIVANAC, N. KUSIC, H. **UV-based process for reactive azo dye mineralization.** Water Research, v. 40, p. 525 – 532, 2006.

PETRE, M., ZARNEA, G. ADRIAN, P., GHEORGHIU, E. **Biodegradation and bioconversion of cellulose wastes bacterial and fungal cells immobilized in radiopolymerized hydrogels.** Resources, Conservation and Recycling, v. 27, p. 309 – 332, 1999.

PONTECORVO, G., ROPER, J.A., FORBES, G. **Genetic recombination without sexual reproduction in *Aspergillus niger*.** J. Gen. Microbiol., v. 8, p. 198–210, 1997.

PRENAFETA BOLDÚ, F. X. **Growth of fungi on volatile aromatic hydrocarbons: environmental technology perspectives.** 2002. 115 p. Thesis. Wageningen University, Wageningen, 2002.

PURKAIT, M. K., MAITI, A., DASGUPTA, S. DE S. **Removal of congo red using activated carbon and its regeneration.** Journal of Hazardous Materials, v. 145, p. 287 – 295, 2007.

RADHA, K. V., REGUPATHI, I., ARUNAGIRI, A., MURUGESAN, T. **Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics.** Process Biochemistry, v. 40, p. 3337 – 3345, 2005.

RAO, J. R., VIRARAGHAVAN, T. **Biosorption of phenol from an aqueous solution by *Aspergillus niger* biomass.** Bioresource Technology, v. 85, p. 165 – 171, 2002.

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

ROCHA, M. E. **Remoção de corante têxtil em reatores em batelada sob agitação com *Aspergillus niger* AN 400.** 2006. 48 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Gestão em Tecnologia Ambiental, CEFETCE). Fortaleza, 2006.

RODRIGUES, K. A. **Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica.** 1999. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

RODRIGUES, K. A., SANTAELLA, S. T. (2003). **Remoção de DQO por biodegradação fúngica em água residuária sintética de laticínios.** In:

WETLAND, E., SCHALCH, V. Pesquisas em meio ambiente: subsídios para gestão de políticas públicas, v. 2, São Carlos: Rima.

RODRIGUES, K. A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética.** 2006. 115 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

RODRIGUES, K. A., SAMPAIO, G. M. M. S., ZAIAT, M., SANTAELLA, S. T. **Influência da glicose no consumo de fenol por *Aspergillus niger* AN 400 de meio sintético em reatores em batelada.** Engenharia Ambiental, jun/jul/ago, 2007.

RYU, B. H., WEON, Y. D. **Decolorization of azo dyes by *Aspergillus sojae* B-10.** Microb. Botechnol., v. 2, p. 215-219, 1992.

SÁ, I. M. B. **Biotratamento de efluente de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores.** 1997. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Biotratamento de água residuária industrial através de reator UASB seguido por um filtro biológico com fungos.** 2001. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

SAMPAIO, G. M. M. S., SANTOS, E. A., FACÓ, A. M., LEITÃO, R. C., MENEZES, E. A., SANTAELLA, S. T. **Pós-Tratamento de efluente de um reator UASB através de um reator biológico com fungos.** Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.9, n.1, p.73-81, jan./mar, 2004.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos.** 2005. 115 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração

em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

SANGTIEAN, T., SCHMIDT, S. **Growth of subtropical EMC fungi with different nitrogen sources using a new flotation culture technique.** Mycol. Res., v. 106, n. 1, p. 75 – 85, 2002.

SANKPAL, N. V., KULKARNI, B. D. **Optimization of fermentation conditions for gluconic acid production using *Aspergillus niger* immobilized microfibrils.** Process Biochemistry, v. 37, p. 1343 – 1350, 2002.

SANTAELLA, S. T. **Remoção de cor causada pela presença de substâncias húmicas em águas, empregando tratamento biológico.** 1993. 161 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

SANTAELLA, S. T. (1997). **Estudos de tecnologias apropriadas para tratamento de efluentes da indústria de castanha de caju.** Fortaleza: UFC, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, 31p. (Relatório Institucional de Pesquisa).

SANTOS, E. M. A., SANTAELLA, S. T., SAMPAIO, G. M. M. S., FACÓ, A. M. **Influência do tempo de detenção hidráulica de um sistema constituído por um reator UASB seguido por um reator biológico com fungos para tratar efluentes de indústria de castanha de caju.** Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 1, p. 39-45, jan./mar., 2006

SEKHAR, K. C., SUBRAMANIAN, S., MODAK, J. M, NATARAJAN, K. A. **Removal of metal ions on industrial biomass with reference to environmental control.** International Journal of Mineral Processing, v. 53, p. 107 – 120, 1998.

SHAW, C. B., CARLIELL, C. M., WHEATLEY, A. D. **Anaerobic/aerobic treatment of colored textile effluents using sequential batch reactors.** *Water Research*, v. 36, p. 1993 – 2001, 2002.

SILVA FILHO, H. A. **Remoção de corante têxtil em reator biológico com fungos.** 2006. 50 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Gestão em Tecnologia Ambiental) - Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará (CEFETCE), Fortaleza, 2006.

SINGH, P., SANGHI, R., PANDEY, A., IYENGAR, L. **Decolourization and partial degradation of monoazo dyes in sequential fixed –film anaerobic batch reactor (SFABR).** *Bioresource Technology*, v. 98, n. 10, p. 2053 – 2056, 2007.

SOUZA, J. V., DA SILVA, E. S., DA SILVA, F. T., PAIVA, T. C. B. **Fungal treatment of delignification effluent from a nitrocellulose industry.** *Bioresource Technology*, v. 96, n. 17, p. 1936 – 1942, 2005.

STEFFAN, S., BARDI, L., MARZONA, M. **Azo dye biodegradation by microbial cultures immobilized in alginate beads.** *Environmental International*, v. 31, p. 201 – 205, 2005.

STOLZ, A. **Basic and applied aspects in the microbial degradation of dyes.** *Applied Microbial Biotechnology*, v. 56, p. 69 – 80, 2001.

SUMATHI, S., MANJU, B. S. **Uptake of reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*.** *Enzyme Microbiology Technology*, v. 27, p. 347 – 355, 2000.

SVOBODOVÁ, K., SENHOLDT, M., NOVOTNÝ, C., REHOREK, A. **Mechanism of reactive orange 16 degradation with the white rot fungus *Irpex lacteus*.** *Process Biochemistry*, v. 42, p. 1279 – 1284, 2007.

TOBIN, J. M., COOPE, D. G., NEUFELD, R. J. **Investigation of the mechanism of metal uptake by denatured *Rhizopus arrhizus* biomass.** Enzyme Microbiology Technology, v. 12, n. 8, p. 591 – 595, 1990.

TRABUSI, L. R., ALTERTHUM, F., GOMTERTZ, O. S., CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia.** São Paulo: Editora Ateneu, 3ª ed. 1999. 588p.

VAN DER ZEE, F. P., LETTINGA, G., FIELD, J. A. **Azo dye decolourization by anaerobic granular sludge.** Chemosphere, v. 44, p. 1169 – 1176, 2001.

VANDEVIVERE, P. C., BIANCHI, R., VERSTRAETE W. **Treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry: Review of emerging technologies.** J. Chem. Technol. Biotechnol., v. 72, p. 289 – 302, 1998.

VASSILEV, N., FENICE, M., FEDERICI, F., AZCON, R. **Olive mill wastewater treatment by immobilized cells of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate.** Process Biochemistry, v. 32, p. 617 – 620, 1997.

VILLENA, G. K., GUTIÉRREZ-CORREA, M. ***Aspergillus niger* biofilmes for celulasas production: some structural and physiological aspects.** Rev. Peru. Biol, v. 10, n. 1, p. 78 – 87, 2003.

VINCIGUERRA, V., D'ANNIBALE, A., MONACHE, G. D., SERMANI, G. G. **Correlated effects during the bioconversion of waste olive waters by *Lentinus edodes*.** Bioresource Technology, v. 51, p. 211 – 226, 1995.

VULCZAR, C. **Tratabilidade do efluente de uma tinturaria e aplicação de tratamento foto-fenton.** 2005. 70 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Engenharia Ambiental) - Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2005.

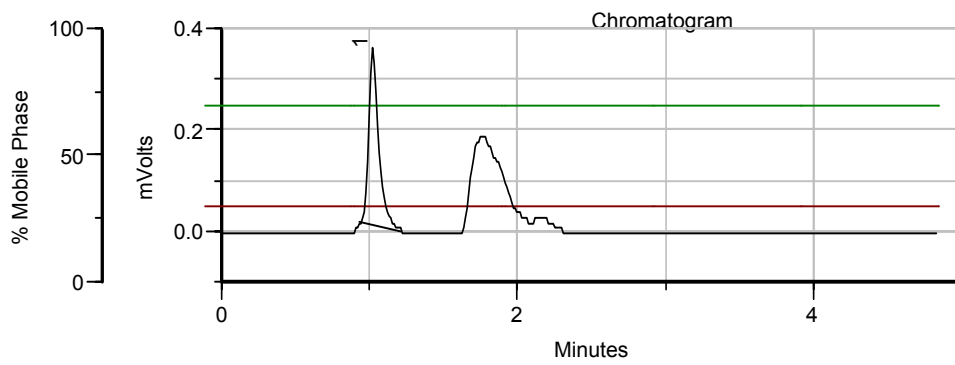
WALLSTRÖM, S., DOWLING, K., KARLSSON, S. **Development and comparasion of test methods for evaluating formation of biofilms on silicones.** Polymer Degradation, v. 78, p. 257 – 262, 2002.

WITTEVEEN, C. F. B. **Gluconate formation and polyol metabolism in *Aspergillus niger***. 1993. 128 p. Thesis. Wageningen University, Wageningen, 1993.

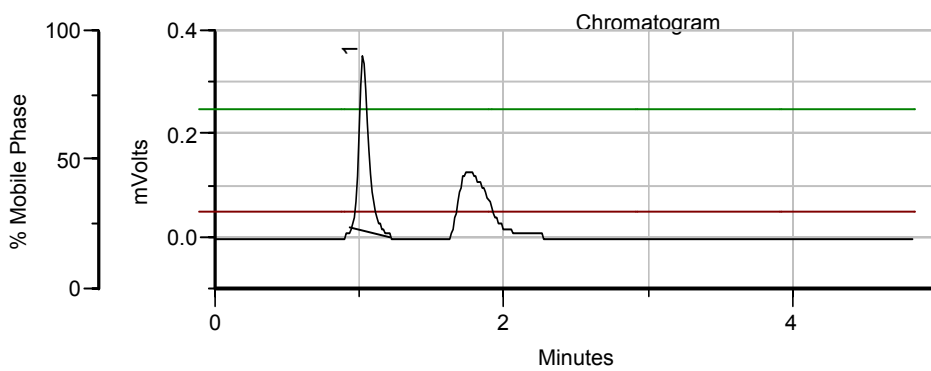
YOUNG, L., YU, J. **Ligninase-catalysed decolorization of synthetic dyes**. Water Research, v. 31, p. 1187-1193, 1997.

Apêndice A – Cromatogramas dos reatores (CD, CI, FD, FI, FDG, FIG) no dia 0 e no 25º dia por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Gilson mod. 321, equipado com detector UV-VIS).

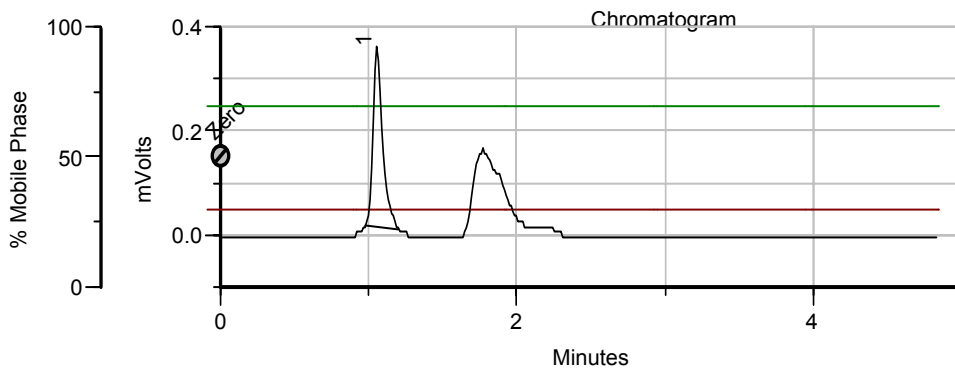
dia 0 - CD



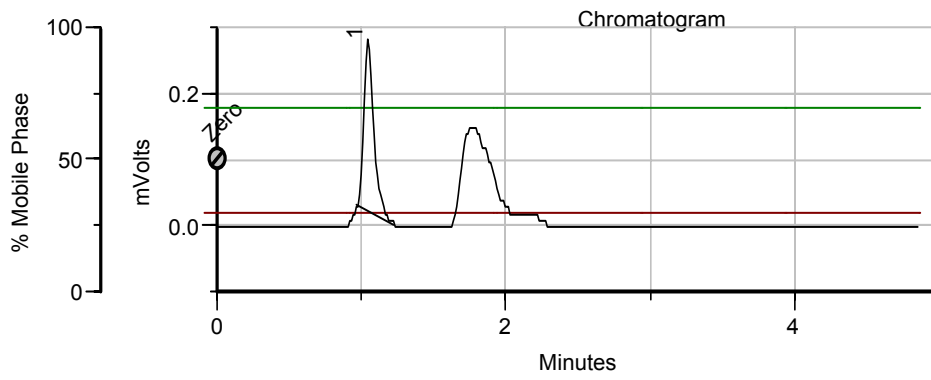
dia 0 - CI



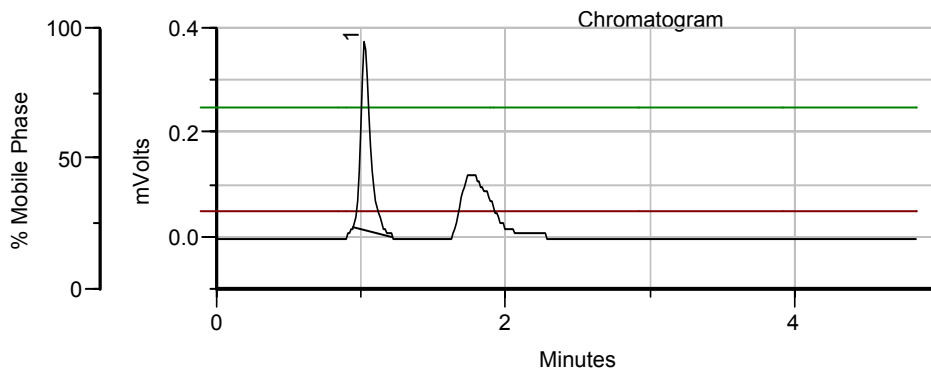
dia 0 - FD



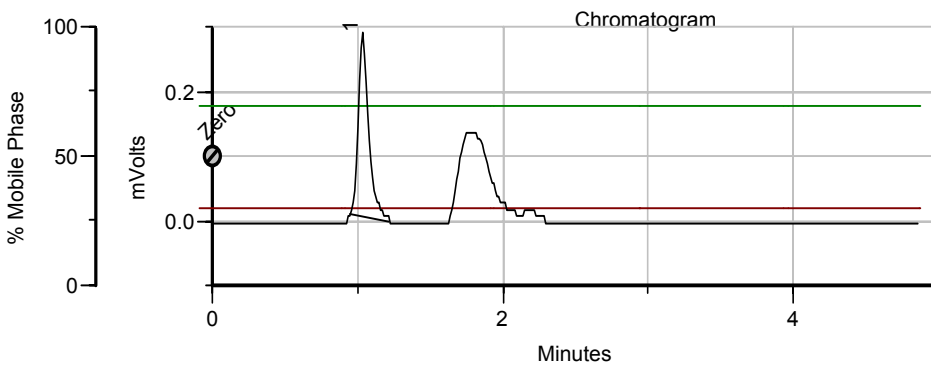
dia 0 - FI



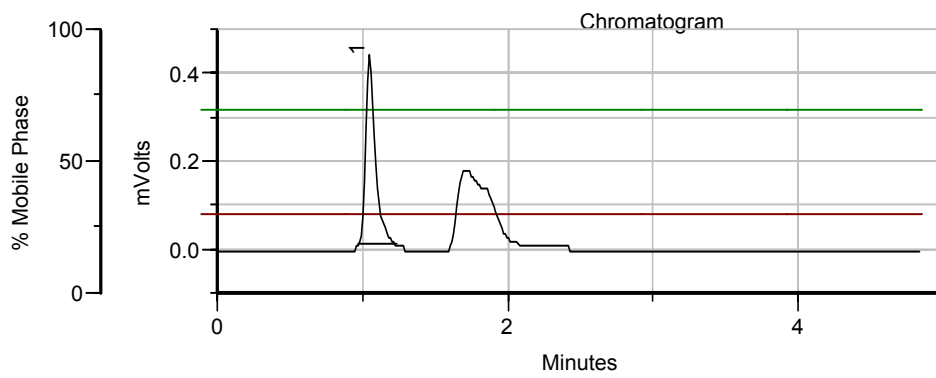
dia 0 - FDG



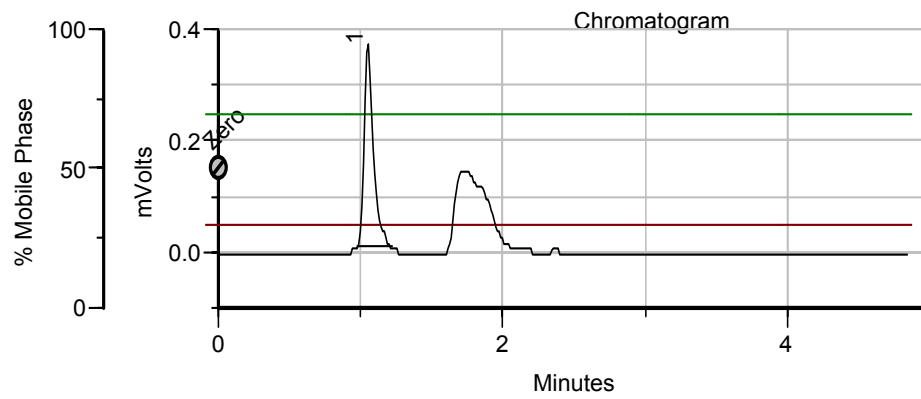
dia 0 - FIG



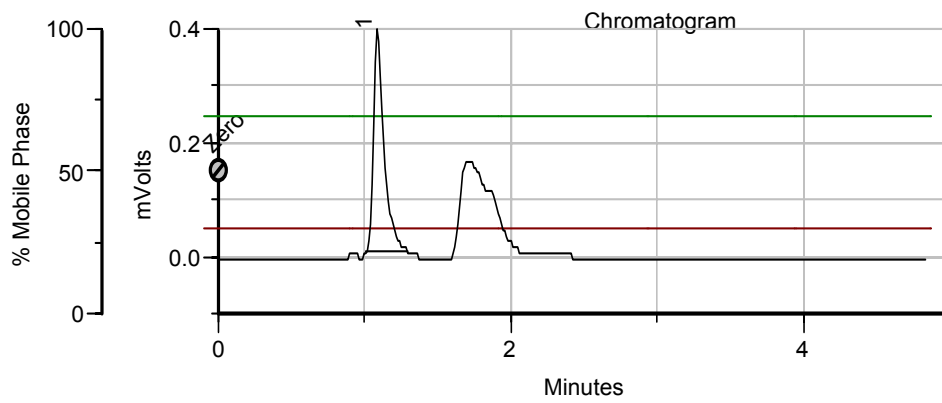
25° dia - CD



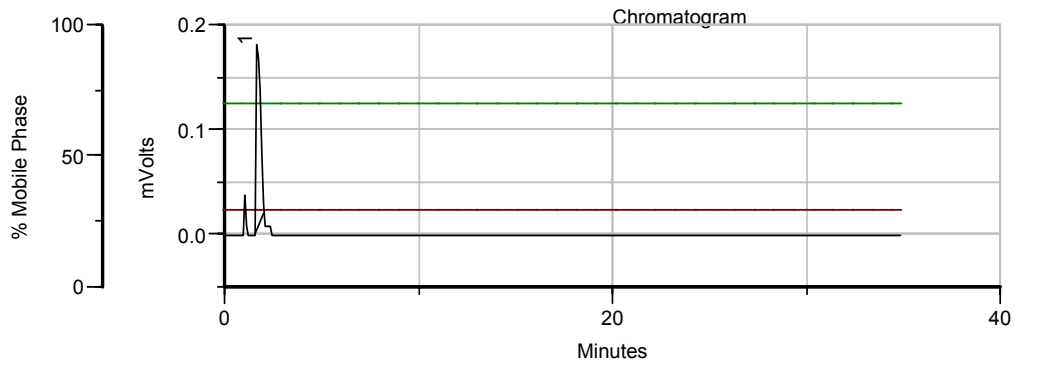
25° dia - CI



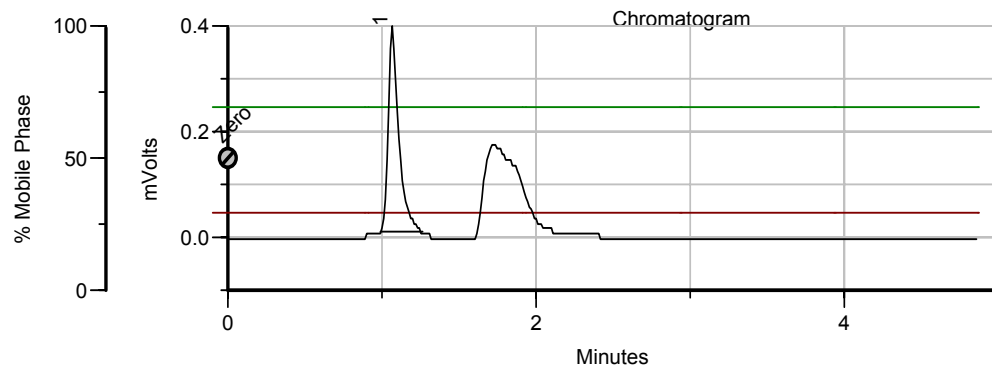
25° dia - FD



25° dia - FI



25° dia - FDG



25° dia - FIG

