

REMOÇÃO DE CORANTE TÊXTIL EM REATOR BIOLÓGICO COM FUNGOS

Heraldo Antunes Silva Filho

- Tecnologia Ambiental – CEFET-CE

Rua Tomás Acioli, 603 Joaquim Távora CEP 60.135-180 Fortaleza -CE

E-mail: heraldo_antunes@yahoo.com.br

Elivânia Vasconcelos Moraes dos Santos

- Tecnologia Ambiental – CEFET-CE

Rua Monsenhor Otávio de Castro, 677 apto. 701 CEP 60.050-150 Fortaleza - CE

E-mail: lili.v.m.s@hotmail.com

Raimundo Bemvindo Gomes

- Prof. MSc. da Área de Química e Meio Ambiente – CEFET-CE

E-mail: bemvindo@cefet-ce.br

Kelly de Araújo Rodrigues

- Profa. Dra. da Área de Química e Meio Ambiente – CEFET-CE

E-mail: kellyar@bol.com.br

Isabelle Arthaud

MSc. do Labomar - UFC

E-mail: isabellearthaud@hotmail.com

Glória M^a Marinho Silva Sampaio

- Profa. Dra. da Área de Química e Meio Ambiente – CEFET-CE

E-mail: gloriamarinho@cefet-ce.br

RESUMO

Uma das grandes preocupações relacionadas ao setor têxtil está associada ao efluente gerado ser de difícil degradação em virtude da presença de corantes, pigmentos e outros compostos químicos que, por não serem biodegradáveis, comprometem a eficiência do tratamento. Na tentativa de descontaminar estes ambientes muitas pesquisas se voltaram para os processos de biorremediação com fungos. Este estudo objetiva remover cor de água residuária sintética e determinar sua toxicidade por meio de bioensaios. O estudo está sendo desenvolvido em quatro fases: produção do efluente sintético têxtil; montagem e operação de um reator de leito fixo e fluxo ascendente inoculado com *Aspergillus niger* AN400, ensaios biológicos de toxicidade com *Artemia* sp. e teste de toxicidade entre *Aspergillus niger* AN400 e o corante têxtil. Para o Corante Azul Marinho BL250, foi observada uma remoção de $68,44\% \pm 2,12$ e para o corante Preto PIRAZOL 1500 foi observada uma remoção média de $69,44\% \pm 1,40$. *Aspergillus niger* AN400 foi capaz de se reproduzir em concentrações que variaram de 3,90 a 125,00 mg/L. Na análise de toxicidade aguda feita com *Artemia* sp. não foi detectado efeito tóxico letal antes do tratamento, ou seja, os corantes têxteis nas concentrações testadas (20 mg/L até 100 mg/L) não mostraram-se tóxicos. Os resultados obtidos indicam que o desenvolvimento de sistemas de tratamento com fungos tem grande viabilidade, pois estes microrganismos sintetizadores de diversas enzimas agem sobre os compostos recalcitrantes possibilitando sua degradação.

PALAVRAS-CHAVE: corantes; bioensaios; *Aspergillus niger* AN400, ecotoxicidade.

1. INTRODUÇÃO

As indústrias têxteis apresentam como principais características o grande consumo de água 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 uma tonelada de tecido (INTERNAL TECHNICAL REPORT, 1994 apud LIN e CHEN, 1997). As águas residuárias apresentam características bastante variadas como conseqüência dos diferentes processos produtivos, matérias-primas utilizadas, bem como do controle da quantidade de substâncias que entram no processo (DE MIO e CAMPOS, 1996). Muitos desses efluentes são tóxicos e não biodegradáveis e, se não tiverem um tratamento correto, irão causar sérios danos ao meio ambiente e à saúde pública.

Além da preocupação com a poluição dos nossos recursos naturais, outra preocupação, são os efeitos que estas substâncias liberadas no ambiente podem trazer à saúde humana. Estes resíduos se bioacumulam nos organismos vivos vindo a atingir a cadeia alimentar. Muitas dessas substâncias possuem potencial mutagênico e cancerígeno e os efeitos de sua entrada constante nos organismos ainda não são completamente conhecidos (BUMPUS, 1995). Considerando que a maioria dos corantes tem meia-vida elevada, resíduos liberados persistem no ambiente por períodos muito longos e o tempo que seus efeitos continuam a serem sentidos podem superar décadas. A tendência tem sido a substituição de produtos muito tóxicos por outros menos prejudiciais ao ambiente, porém somente alguns corantes muito tóxicos à base de benzidina foram substituídos até agora. (GUARATINI; ZANONI, 2000)

Embora alguns tratamentos físicos, químicos, e físico-químicos, possam ser aplicados para remover cor de águas residuárias de indústria têxtil, estes processos apresentam como principal desvantagem altos custos operacionais, além de que, o lodo produzido nestes processos é considerado um resíduo perigoso (MIELGO *et al.* 2002). A degradação microbiológica tem sido estudada testando o desempenho de diversos microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos. (GOLD *et al.*, 1988).

O potencial fúngico para degradar polímeros tem sido amplamente estudado e em muitos casos aplicado para remoção de compostos de difícil degradação. Os fungos, de modo geral, promovem degradação de compostos aromáticos, via os sistemas enzimáticos citocromo P450 monooxigenase e lignolítico (Prenafeta Boldú, 2002).

O presente trabalho pretende testar um sistema biológico para o tratamento de efluente têxtil, analisando algumas variáveis físicas e químicas, dando enfoque aos percentuais de remoção dos corantes em predominância nesse efluente.

2. OBJETIVOS

Reduzir as concentrações de Corante Têxtil de água residuária industrial têxtil sintética, através do emprego de um reator de leito fixo e fluxo ascendente inoculado com a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN400.

2.1. Objetivos Específicos

- Operar um reator de fluxo contínuo contendo a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN400;
- Avaliar a toxicidade de cinco concentrações dos dois principais corantes têxteis de uma indústria de Fortaleza - CE.
- Realizar testes de toxicidade entre o *Aspergillus niger* AN400 e os corantes, Preto Pirazol 1200 e Azul Marinho Solar BL250, ambos fabricados pela CLARIANT S.A..

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em quatro etapas principais: produção do efluente sintético têxtil; montagem e operação de um reator de leito fixo e fluxo ascendente inoculado com *Aspergillus niger* AN400, ensaios biológicos de toxicidade com *Artemia* sp. e teste de toxicidade entre o *Aspergillus niger* AN400 e os corantes têxteis.

3.1. Primeira Etapa: Produção do Efluente Sintético Têxtil

Para a produção do efluente sintético têxtil, tomou-se como base uma indústria têxtil de Maracanaú - CE, que apresenta variação média máxima no efluente de: 40 mg/L do corante azul e 25 mg/L do corante preto e variação média mínima de 28 mg/L do corante azul e 8 mg/L do corante preto. A partir disso, todos os efluentes sintéticos produzidos para os ensaios em bancada foram feitos usando os corantes preto e azul, ambos em pó, e água destilada. Os corantes foram usados nas concentrações máximas de 40 mg/L e 25 mg/L para o azul e preto, respectivamente. Para a determinação da concentração desses corantes no efluente, foram feitas varreduras espectrofotométricas dos comprimentos de onda do espectro visível (400 a 800 nm), demonstrando picos de 585 nm para o corante azul e 485 nm para o corante preto, sendo estes, os comprimentos de onda adotados para a pesquisa, baseado em Dos Santos (2005). Três soluções estoque foram preparadas e destas soluções preparou-se padrões de diluição para a montagem da curva de calibração e posterior leitura da concentração dos corantes em mg/L no comprimento de onda específico.

3.2. Segunda Etapa: Montagem e Operação de um reator de leito fixo e fluxo ascendente inoculado com *Aspergillus niger* AN400

Foi montado um reator aeróbio (Figura 1), de leito fixo e fluxo ascendente, inoculado com *Aspergillus niger* AN400, na concentração de 2×10^6 esporos/mL. O reator foi confeccionado em acrílico com volume total de 3,5 litros; dispositivos de entrada e saída da amostra a ser tratada, e um dispositivo para entrada de ar, cujo fornecimento foi realizado por mini-compressores de ar. Para a entrada do afluente ao reator foi usada uma bomba peristáltica controlando-se a vazão. O meio suporte empregado foi manta agulhada de poliamida cortada em quadrados de 2 x 2 cm, sendo pesado e acomodado dentro do reator.



Figura 1: Esquema do Reator em Acrílico

O reator inicialmente foi alimentado com uma solução constituída com 50% glicose e 50% Sabouraud e Cloranfenicol na concentração de 0,05 g/L como inibidor de crescimento bacteriano. Foram inoculados 2×10^6 esporos /mL no reator, e este ficou após a inoculação dos esporos, 24 horas sem recirculação e sem aeração, para evitar a perda de esporos, retornando a recircular e aerar após esse período.

Os esporos de *Aspergillus niger* AN400 foram cultivados em placas de Petri, em meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose, acrescido de 1mL solução de Vishniac por litro de meio de cultura, por três

dias, em estufa bacteriológica na temperatura de 30°C. Logo após o crescimento eles foram removidos e contados gerando uma suspensão de esporos para uso na operação do reator e no teste de toxicidade do fungo ao corante que será descrito em 3.4.

Com o crescimento da massa fúngica, após uma semana, com recirculação e aeração, o meio de cultura foi substituído pelo efluente têxtil sintético constituído apenas dos corantes preto e azul nas concentrações de 40 mg/L e 25 mg/L respectivamente e água destilada, acrescido de 0,05 g de cloranfenicol/L; 1mL de solução de Vishniac/L e o pH ajustado entre 4 e 5, com ácido clorídrico 1M, dando início a operação do reator, com tempo de detenção hidráulica (TDH) inicial ajustado para 12 horas. Nessa fase da operação a glicose foi removida, pretendendo-se verificar o crescimento e manutenção da massa fúngica apenas com os corantes, como fonte de carbono.

As variáveis investigadas foram cor real, cor aparente e turbidez referenciados em APHA *et.al* (1998) e concentração dos corantes preto e azul, dando especial atenção às concentrações dos corantes, devido à contribuição deles como poluidores potenciais dessas águas.

3.3. Terceira Etapa: Ensaios Biológicos de Toxicidade com *Artemia* sp.

O teste utilizado para a análise de toxicidade foi o teste de toxicidade aguda com a espécie *Artemia* sp, conhecida também como camarão de salmora, que é um microcrustáceo pertencente ao filo Arthropoda, (Storer, 1991), padronizado pela norma L5. 250 (CETESB, 1992), com modificações. Este bioensaio visa a obtenção da CL(50), isto é, a concentração em que se observa a mortalidade de 50% ou mais dos organismos – teste expostos.

Inicialmente as amostras tiveram sua salinidade medida e corrigida para uma faixa entre 35 e 40 mg/L, utilizando-se para isso uma solução concentrada de sal marinho, segundo a padronização do teste. Em seguida, foram preparadas seis concentrações teste: 100 mg/L, 80 mg/L, 60mg/L, 40mg/L, 20 mg/L e 10mg/L utilizando água do mar filtrada como água de diluição. Foi feito um controle utilizando apenas água do mar filtrada. Foram realizados dois testes, um para cada corante, os ensaios foram feitos em placas multipoços estéreis (Figura 2) e em triplicata. Em cada poço foi colocada uma determinada concentração de corante e 1 ml de água do mar com 10 larvas de artemia, após 24 horas verificou-se os multipoços para determinação da dose letal. As câmaras A, B e C correspondem às triplicatas das seis concentrações estudadas e as câmaras D correspondem ao ensaio de controle, ou branco.



Figura 2: Esquema da Placa de Multipoços

3.4. Quarta Etapa: Toxicidade dos Corantes Azul e Preto ao *Arpergillus Niger* AN400.

Foram preparadas placas de Petri com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose Cloranfenicol (Figura 3) para cada corante (azul e preto) em duplicata, com variadas concentrações: 225 mg/L, 125 mg/L, 62,5 mg/L, 31,25 mg/L, 15,62 mg/L, 7,81 mg/L e 3,9 mg/L, além do controle que não possuía corante. O número de esporos de *A. niger*, inoculado por placa, foi 2×10^6 por mL. A linhagem

empregada foi cedida pelo Subdepartamento de Genoma de Fungos da Universidade de Wageningen — Holanda.

Foram preparadas 32 placas de Petri, divididas em dois lotes, sendo cada lote constituído por uma duplicata. O meio de cultura empregado foi Ágar Sabouraud Dextrose Cloranfenicol (ASDC), as concentrações dos corantes foram de 225 mg/L, 125 mg/L, 62,5 mg/L, 31,25 mg/L, 15,62 mg/L, 7,81 mg/L e 3,9 mg/L. Cada placa foi inoculada com 2×10^6 esporos de *Aspergillus niger*/mL. Para a escolha da faixa de concentração de corantes para serem testadas, levou-se em consideração os valores máximos e mínimos que são encontrados em efluentes têxteis. As placas foram incubadas a 30°C e observadas diariamente a fim de se verificar o crescimento do fungo. Na Tabela 1 está mostrada a distribuição das concentrações de corantes empregadas.

Lote	1	2	3	4	5	6	7	Controle
Azul Marinho Solar BL250 (mg/L)	225	120	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	0
Preto Pirazol 1200 (mg/L)	225	120	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	0

Tabela 1 – Concentrações de Corantes empregados no teste de toxicidade

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Operação do reator de leito fixo e fluxo ascendente inoculado com *Aspergillus niger* AN400

O reator biológico foi operado por um período de 3 meses, Agosto até Outubro de 2006, e os dados de operação referentes a este período estão apresentados na Tabela 2.

	[C] Total de Corante Gasto mg/L	% Média de Remoção
Azul Marinho BL250	39000 mg/L	68,44%
Preto Pirazol 1500	30910 mg/L	69,44%
	[C] Total de Corante Removido mg/L	[C] de Corante Não Removida mg/L
Azul Marinho BL250	26691,6 mg/L	12308,4 mg/L
Preto Pirazol 1500	21463,9 mg/L	9446,1 mg/L

Tabela 2: Dados de Operação do Reator Biológico

Para o Corante Azul Marinho BL250, foi observada uma remoção de $68,44\% \pm 2,12$ após o processo de tratamento biológico (Figura 4). Para o corante Preto PIRAZOL 1500 foi observada uma remoção média de $69,44\% \pm 1,40$ (Figura 5). Essa remoção relativamente baixa, pode ser devido à composição do efluente sintético (água destilada + corante) que não foi adicionada da matriz do efluente original, ou seja, a falta de compostos comuns no efluente têxtil como: permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio, metasilicato de sódio, metabissulfito de sódio, hipoclorito de sódio, sal, barrilha, carbonato de sódio, argila expandida, oxidantes e antioxidantes, enzimas, ácido acético, detergentes, amaciantes e ácidos graxos, sendo a presença desses compostos fatores que possam interferir negativamente ou positivamente no tratamento. Porém, de modo geral, o resultado foi positivo, pois mostrou que o fungo é capaz de se desenvolver e realizar suas atividades metabólicas mesmo em um ambiente hostil e com poucas fontes de nutrientes. Além da falta dos compostos auxiliares que

caracterizam o efluente têxtil, também não houve adição de glicose no período de operação, mostrando assim, que o fungo é capaz de crescer sem essas fontes, somente com a presença do corante e água destilada, logo, ele o utiliza como fonte de nutrição e formação.

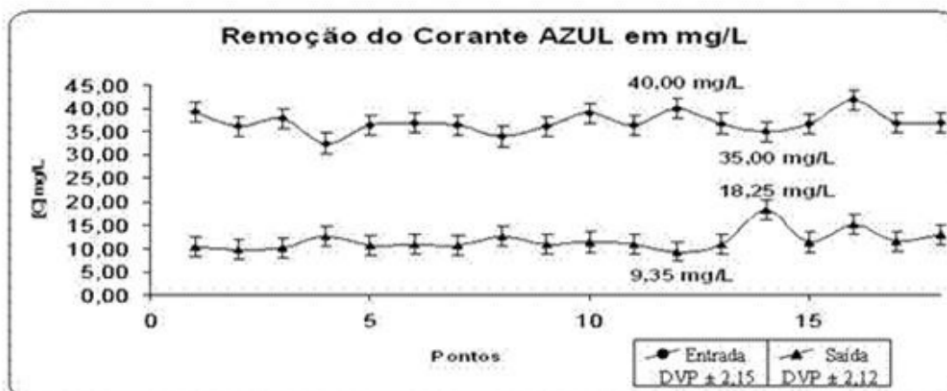


Figura 4: Remoção da [C] do Corante Azul
DVP = Desvio Padrão.

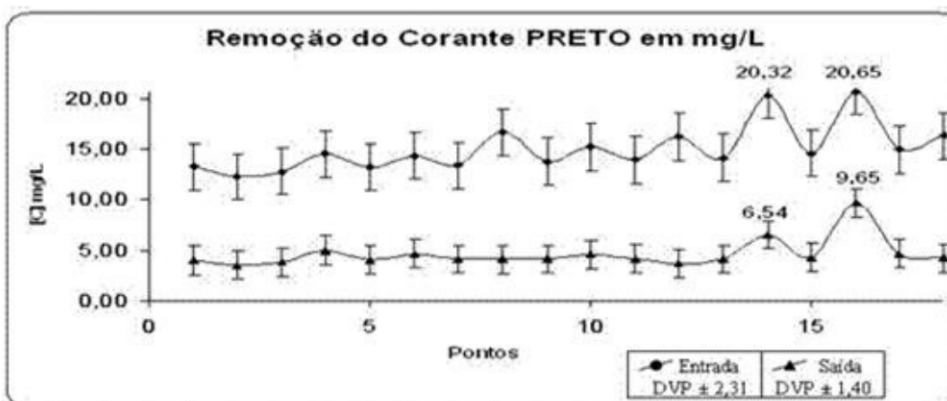


Figura 5: Remoção da [C] do Corante Preto
DVP = Desvio Padrão

4.2. Ensaios Biológicos de Toxicidade com *Artemia* sp.

Na análise de toxicidade aguda feita com *Artemia* sp. não foi detectado efeito tóxico letal antes do tratamento, ou seja, os corantes têxteis Azul Marinho Solar BL250 e Preto Pirazol 1200 nas concentrações testadas (20mg/L até 100mg/L) não mostraram-se tóxicos. O efeito tóxico dos corantes tem sido estudado, e em geral, os corantes não apresentam toxicidade aguda na maioria dos testes. Os grupos mais tóxicos foram os básicos e diazo diretos. De 4461 corantes testados, somente 44 (~1%) tiveram CL_{50} menor que 250 mg Kg^{-1} , enquanto 314 (~7%) tiveram CL_{50} maiores que 5000 mg Kg^{-1} . Porém, não se sabe o efeito dessas substâncias a longo prazo e estudos indicam que muitas são carcinogênicas ou mutagênicas (BUMPUS, 1995).

Para a degradação ser considerada eficiente deve resultar em redução nos níveis de toxicidade pela completa degradação das moléculas sem a formação de metabólitos tóxicos. Assim sendo, novos ensaios devem ser feitos considerando agora o efluente tratado, para avaliar se houve ou não a formação de metabólitos tóxicos após o processo de degradação biológica.

4.3. Toxicidade dos Corantes Azul e Preto ao *Aspergillus Niger* AN400.

No teste de toxicidade em placas, na primeira observação, 24h após a incubação, ocorreu crescimento de esporos de *Aspergillus niger* AN400 em todas as placas. Completadas 72 h (3 dias) de incubação, quase todas as placas, com exceção das placas com concentração de 225,00 mg/L de corante preto apresentaram esporos de *Aspergillus niger* em toda a superfície. Após 240 h de incubação, foi que a placa com concentração de 225,00 mg/L de corante preto apresentou a superfície totalmente recoberta por esporos.

Contudo, o teste de toxicidade em placas mostrou que a espécie *Aspergillus niger* AN400 foi capaz de crescer satisfatoriamente em concentrações de corantes de até 125 mg/L. Apesar de o meio imposto ao microrganismo oferecer condições nutricionais adequadas com fonte de carbono, proteínas, elementos-traço, e temperatura ideal ao seu crescimento, a presença de corante em concentrações elevadas não impediu a reprodução da espécie.

As concentrações de corantes testadas são consideradas relativamente altas quando comparadas à concentração encontrada em um efluente têxtil que variam de 20 a 60 mg/L (Vasconcelos, 2006). Entretanto, no Brasil, a Resolução CONAMA N°357, de 17 de março de 2005 não estabelece valores para compostos específicos como os corantes em efluentes para que possam ser lançados em corpos d'água.

Partindo-se do princípio de que *Aspergillus niger* AN400 foi capaz de se reproduzir em concentrações que variaram de 3,90 a 125,00 mg/L, provavelmente concentrações inferiores a estas, poderão responder bem ao tratamento biológico com *Aspergillus niger* AN400 no reator biológico.

5. CONCLUSÃO

Foi possível constatar que existe uma viabilidade na remoção de corante do efluente sintético têxtil através do emprego de um reator de leito fixo e fluxo ascendente inoculado com a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN400. Essa viabilidade foi observada na remoção de mais de 60% da concentração dos principais corantes presentes nesse tipo de efluente. Este percentual apesar de relativamente baixo quando se fala de saneamento, reflete as condições em que foi realizado o estudo, com o efluente sintético e sem adição dos principais elementos que constituem um efluente têxtil, que podem ter interferido no tratamento como inibidores da massa biológica ou como fonte de energia e carbono. Em estudos recentes, sistemas parecidos como o que foi apresentado obtiveram remoções dos mesmos corantes de estudo de quase 98%, o efluente não era sintético e houve adição da glicose (Vasconcelos, 2006). O que mostra que a matriz que compõem o efluente têxtil, assim como a adição de glicose, otimiza o tratamento elevando o percentual de remoção em aproximadamente 30%.

Na análise de toxicidade aguda feita com *Artemia* sp. não foi detectado efeito tóxico letal antes do tratamento, ou seja, os corantes têxteis Azul Marinho Solar BL250 e Preto Pirazol 1200 nas concentrações testadas (20mg/L até 100mg/L) não mostraram-se tóxicos

O ensaio de toxicidade do *Aspergillus niger* ao corante mostrou que o fungo foi capaz de crescer em todas as concentrações testadas, apesar de apresentar crescimento reduzido nas concentrações superiores a 125 mg/L. Esse teste possibilita que trabalhos futuros que pretendam testar esses tipos de corantes com a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN400 possam ter uma faixa de operação e dosagem dos mesmos.

6. AGRADECIMENTOS

Ao CEFETCE pelo financiamento da pesquisa e pela bolsa de estudo concedida.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEN, H., LIN, CHIU. EM. **Internal Technical Report. Journal of Food Science**, v. 62, n. 5, p.985-991, 1997.
- DOS SANTOS, ANDRÉ BEZERRA. **Reductive Decolorisation of Dyes by Thermophilic Anaerobic Granular Sludge**. Wageningen, 2005 Amarante Júnior, O.P.; Santos, T.C.R. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Quim. Nova*, v. 25, nº 4, pp. 589-593, 2002
- APHA. **STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 18 ad Washington: American Public Health Association**, 1998. paginação irregular.
- BUMPUS, J.A. **Microbial degradation of azo dyes**. In: SINGH, V. P. **Biotransformations: microbial degradation of health risk compounds**. New York: Elsevier Science, 1955. p. 157 – 177.
- GUARATINI, C.C.I.; ZANONI, M.V.B. Corantes Têxteis. *Química Nova*, São Paulo, v.23, p. 71-79, 2000.
- BRAILE, P.M.; CAVALCANTE, J. E. W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais**. São Paulo: CETESB, 1992. 764p .
- VASCONCELOS, E. M. S; **Tratamento Biológico de Água Residuária Industrial Têxtil em Reatores de Leito Fixo e Fluxo Ascendente com *Aspergillus niger* AN400**. Anais do VIII Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental – Fortaleza, ISBN: 85-7022-148-7, pág 235 ABES, 2006.
- CAMPOS, R.; DE MIO, P. A.: **Índigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium rolfsii***. *Journal of Biotechnology*, Amsterdam, v. 89, p. 131-139, 1996.