# USO DE COSSUBSTRATO COMBINADO (GLICOSE/ SACAROSE) NA REMOÇÃO DE CORANTE VERMELHO DO CONGO EM REATORES COM INÓCULO DE Aspergillus niger AN400.

Bruna CASTRO (1); Kamylla ARAÚJO (2); Kelly RODRIGUES (3); Evandro MARTINS (4); Glória MARINHO (5);

- (1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE, Av. Treze de Maio, 2081, Benfica, Caixa Postal 60040-531 Fortaleza- CE, Fone (85) 3307-3750, e-mail: bruna thai@hotmail.
  - (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Endereço, e-mail: kamylla.ga@hotmail.com
    - (3) Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Ceará, Endereço, e-mail: kelly@ifce.edu.br
    - (4) Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Ceará, Endereço, e-mail: <a href="mailto:evandro@ifce.edu.br">evandro@ifce.edu.br</a>
    - (5) Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Ceará, Endereco, e-mail: gloriamarinho@ifce.edu.br

#### **RESUMO**

O processo de produção na indústria têxtil é composto de várias etapas que empregam substâncias, as quais podem ser causadoras de degradação ambiental caso não sejam tomados os cuidados necessários devido à presença em sua constituição de corantes, que são compostos aromáticos de difícil degradação, tornando-se importante fonte de poluição e impacto ambiental, além de ser prejudicial aos seres vivos por serem cancerígenos e tóxicos. Neste trabalho buscou-se a remoção de corante vermelho do congo e de matéria orgânica carbonácea pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400, utilizando como cossubstrato glicose-sacarose. Foram montados 30 reatores, dos quais 10 reatores eram para controle, 10 reatores contendo inóculo fúngico e adição de glicose e sacarose (RFGS). O experimento foi realizado em duplicata. Os tempos de reação estudados foram de 0, 1, 3, 5, 7 e 10 dias. Os reatores foram embalados com sacos pretos de polietileno e isolados em uma capela com radiação ultravioleta, para a minimização da contaminação do meio por outros organismos. Foram executadas análises de pH, DQO e corante para os reatores RFGSI e RFGSII e somente as análise de amônia, nitrato, nitrito, fósforo e ortofosfato para os reatores de reação de 0 e10 dias.Os resultados mostraram em relação corante foram de 95% para RFGSI e de 93% para RFGSII. Quanto à remoção de matéria orgânica, foram alcançados 89% e 74% para os reatores RFGSI e RFGSII, o que indica a viabilidade do sistema para a remoção de vermelho do congo.

Palavras-chave: Aspergillus niger; batelada, corante; cossubstrato, reatores biológicos.

## 1 INTRODUÇÃO

Os efluentes industriais, quando não corretamente tratados, causam sérios problemas ambientais pela presença de substâncias utilizadas nos processos de fabricação (SILVA, 2006). Principalmente aquele proveniente das etapas de processamento, que utilizam grande quantidade de água e a aplicação de substâncias químicas, que conseqüentemente, geram grande volume de efluentes contendo altas cargas de compostos orgânicos fortemente coloridos, que podem interferir nos processos fotossintéticos naturais, ocasionando prejuízos incalculáveis, a médio e longo prazo, para a biota aquática (WANG et al, 2002).

A remoção da cor em sistemas aquáticos, causada pela presença de corantes sintéticos que geralmente contém grupos de azo-aromático, é extremamente importante a partir da perspectiva ambiental porque a maioria destes corantes são tóxicos, mutagênicos e cancerígenos (VIRARAGHAVAN, 2002).

O vermelho do congo é um corante diazo secundário, é solúvel em água, produzindo uma solução coloidal vermelha, sua solubilidade é melhor em solvente orgânico. Sua eliminação no meio ambiente se torna difícil (REIS, 2009), por serem bastante resistentes a radiação solar, ácidos, bases e oxidação (AIVASIDIS, 2006), sendo muito sensível a ácidos sua cor muda de vermelho para azul, na presença de ácidos orgânicos WANDERLEY (2007).

Os tratamentos baseados em processos biológicos são os mais freqüentemente utilizados, a capacidade de certos microorganismos para degradar substâncias orgânicas tóxicas é um fato bem documentado. Em essência, o tratamento biológico fundamenta-se na utilização dos compostos tóxicos de interesse como substrato para o crescimento e a manutenção de microorganismos, FREIRE et al (2000). Verificando-se na literatura a existência de dois mecanismos de atuação: a adsorção do corante pelo micélio do fungo e a degradação oxidativa da molécula do corante pelo microrganismo (MOHORCIC et al, 2006).

Nesta pesquisa, foi utilizada a espécie fúngica *Aspergillus niger*, que possui comprovada eficiência em remoção de compostos recalcitrantes (MIRANDA et *al.*, 1996; VASSILEV et *al.*, 1997; GARCÍA et *al.*, 2000; RODRIGUES, 2006), com o objetivo de estudar a capacidade desta espécie em remover o corante vermelho do congo e matéria carbonácea de meio aquoso, tendo como cossubstratos glicose-sacarose.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Cultivo, produção e contagem dos esporos de Aspergillus Níger AN 400.

O método utilizado para o cultivo e produção da suspensão de esporos de *Aspergillus niger*AN400 foram realizados segundo SILVA (2008), tendo-se utilizado a mesma como inóculo, na concentração de 2,0 x 10<sup>6</sup> esporos/mL, em cada reator com fungos.

#### 2.2 Meio Aguoso

O meio aquoso que alimentou os reatores foi preparado conforme SILVA (2008), sendo utilizada água de torneira, previamente esterilizada em autoclave durante 20 minutos a 121°C. Foi ainda adicionado de 30 mg/L do corante Vermelho do Congo e nutrientes cujas concentrações são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Os compostos do Macro nutriente e Micronutriente.

Macro Nutriente						
Composto	Fórmula	Concentração em mg/L				
Cloreto de Amônio	NH4Cl	280				
Fosfato de Potássio	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	250				
Sulfato de Magnésio	MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	100				
Cloreto de Cálcio	CaCl.2H <sub>2</sub> O	10				
Micronutrientes						
Ácido Bórico	$H_3BO_3$	50				
Cloreto Ferroso	FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	2000				
Cloreto de Zinco	ZnCl <sub>2</sub>	50				
Cloreto de Manganês	MnCl2.4H2O	500				
Cloreto de Cobre	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	38				
Cloreto de Alumínio	AlCl <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O	90				
Cloreto de Cobalto II	CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	2000				

## 2.3 Reator em Batelada

Foi utilizado neste experimento 30 reatores de recipientes de vidro com formato cilíndrico, tendo o volume total de 1000 ml, preenchidos com 500 mL de meio aquoso e inoculo fungico, vedados com tampas rosqueáveis com entrada de ar que era difundido artificialmente através de mini-compressores para o meio por pedras porosas.

Dos 30 reatores, 5 foram reatores de controle (RC) que receberam apenas o meio aquoso; 5 reatores com inoculo fúngico, meio aquoso e cossubstrato 0,5 g/l glicose e 0,5 g/l sacarose (RFGSI) e 5 reatores do mesmo modelo que (RFGSI) mudando apenas as concentrações do cossubstrato para 0,75 g/l glicose e 0,75 g/l sacarose (RFGSI). Todos os reatores foram operados em duplicata.

Os reatores foram cobertos por sacos pretos de polietileno e operados em uma capela isolada com radiação UV, a fim de minimizar a contaminação dos reatores por outros organismos existentes no ambiente, o pH foi ajustado para a faixa de 4,0 a 5,0, para melhor desenvolvimento do *Aspergillus niger*, bem como minimização da atividade bacteriana.

A operação dos reatores ocorreu conforme descrito na Tabela 1. Neste período foram analisadas as variáveis DQO, corante, pH e SSV, sendo feito apenas nos tempos de reação de 0 dia e 10 dias as análises de nitrato, nitrito, amônia, ortofosfato e fósforo. Todas as análises foram executadas de acordo com APHA (1998).

Tabela 1 – Cronograma de operação dos reatores.

Tempo de reação (dia)		Reatores com fungo, glicose e sacarose	
	Reator Controle (RC)	RFGSI cossubstrato 0,5 g/l	RFGSII cossubstrato 0,75 g/l
1	$RC_1$	RFGSI <sub>1</sub>	RFGSII <sub>1</sub>
3	$RC_2$	RFGSI <sub>2</sub>	RFGSII <sub>2</sub>
5	RC <sub>3</sub>	RFGSI <sub>3</sub>	RFGSII <sub>3</sub>
7	RC <sub>4</sub>	RFGSI <sub>4</sub>	RFGSII <sub>4</sub>
10	RC <sub>5</sub>	RFGSI <sub>5</sub>	RFGSII <sub>5</sub>

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

## 3.1. pH

Comparando os reatores RFGSI e RFGSII, verificou-se que em ambos houve diminuição do pH. Segundo KYRIACOU(2005) *apud* RODRIGUES (2006), essa redução pode ter ocorrido em resultado a atividade metabólica do *Aspergillus niger*, devido à assimilação do combinado de cossubstrato glicose-sacarose e do corante pelo fungo.

De acordo com WANDERLEY (2007), esse baixos valores de pH pode ser em resultado da produção de ácidos orgânicos decorrentes da utilização do corante pelo fungo ou ainda pela produção dos ácidos oriundos da degradação do cossubstrato.Nos reatores RC, não houve variação do pH ficou entre 3 e 4, isso ocorre por não haver alta atividade microbiana nos reatores.

Na Figura 1 são mostradas as variações do pH dos reatores RFGSI, RFGSII e no RC a estabilidade do pH.

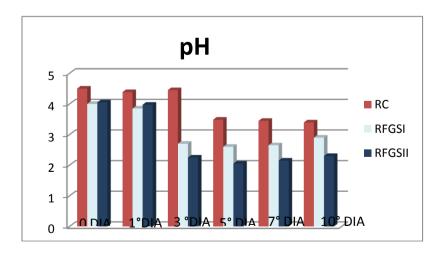


Figura 1: Variação do pH do RFGSI, RFGSII e RC.

## 3.2 DOO

Em RFGSI, a remoção de matéria orgânica foi boa, de 89%, no 3º dia, sendo que RFGSII também registrou bons percentuais de remoção, embora menor ao registrado em RFGSI, de 74%. A menor eficiência de RFGSII em relação à RFGSI pode ser atribuída ao excesso de substrato de fácil degradação, o que provocou inibição do uso do corante como fonte de carbono.

Já em RC, a degradação de matéria orgânica foi de 30%, como resultado de possível presença de microorganismos que podem ter contaminado o meio durante a montagem dos reatores de controle. Nas Figuras 2 podemos observar as variações da DQO.

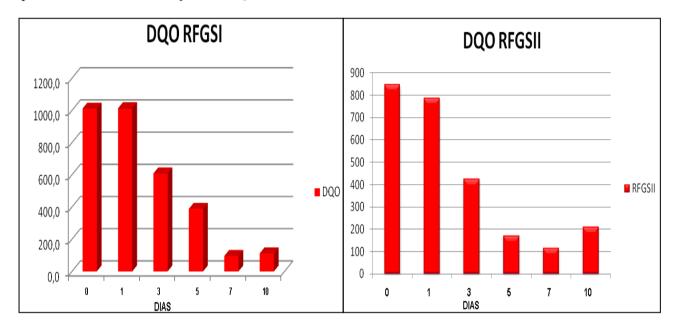


Figura 2. Remoção de matéria orgânica em DQO.

#### 3.2 CORANTE

A remoção de corante acompanhou a de matéria orgânica, tendo-se registrados percentuais superiores à remoção de matéria orgânica, de 95% nos reatores RFGSI e de 93%, em RFGSII (Figura 3). Assim, o aumento da adição do cossubstrato, aparentemente, não influenciou na remoção de corante, tendo a remoção de matéria orgânica diminuído em 16 pontos percentuais, conforme anteriormente relatado.

Na presente pesquisa, verificou-se que a combinação de cossubstrato glicose – sacarose obteve altos níveis de remoção de corante. Porém houve remoção baixa na matéria orgânica, o que, segundo Somasiri *et al* (2008) pode ter ocorrido pelo acúmulo de subprodutos oriundos da quebra da estrutura do corante, resultando em perda da eficiência de remoção de matéria orgânica. Outra hipótese, os microrganismos foram capazes de utilizar o corante, porém ainda havia no meio subprodutos e compostos de excreção produzidos pelos fungos durante a assimilação do corante, para a remoção de matéria orgânica, WANDERLEY (2007).

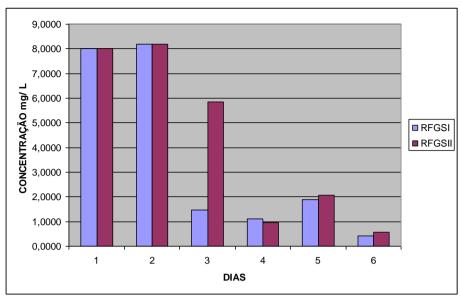


Figura 3: Variação de remoção de corante RFGSI e RFGSII.

De acordo com estudos de RODRIGUES (2007), a glicose representa fonte mais fácil de ser assimilada, sendo um composto universalmente assimilado pelos organismos, suprindo as necessidades energéticas de quase todas as células e também por ser mais facilmente degradado, resultando no aumento mais rápido da biomassa, e, conseqüentemente, da eficiência de remoção de matéria orgânica e do poluente.

Conforme KHELIFI *et al.* (2009), que utilizou em seu estudo a espécie fúngica *Aspergillus alliaceus*, os fungos consomem as fontes de carbono mais fáceis de serem assimiladas nos estágios iniciais de crescimento e, em seguida, iniciam a produção de metabólitos secundários e de enzimas extracelulares para a biodegradação de corantes, sendo, portanto, fundamental uma fonte inicial de carbono. A sacarose é substrato fácil de ser assimilado, pois é um dissacarídeo – composto de uma molécula de glicose e uma molécula de frutose – e é metabolizada pela enzima invertase (GALVÃO *et al.*, 2008).

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no tratamento da água residuária sintética têxtil, utilizando a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 para remoção do corante vermelho do congo e de matéria carbonácea, foram considerados bons. Para a matéria orgânica, chegou-se aos percentuais de remoção de 89% (RFGSI) e 74% (RFGSII), o que influenciou o pH que diminuiu, provavelmente, pela produção de ácidos orgânicos. Em relação ao corante vermelho do congo foram alcançadas altas eficiências de remoção de 95% (RFGSI) e 93% (RFGSII), pode ter ocorrido pela combinação do substrato.

Apesar da diminuição na eficiência da remoção de matéria orgânica, devido ao excesso de cossubstratos as remoções de matéria orgânica e corante atingiram remoções bastante significativas, de forma a comprovar que a espécie fúngica, pode ser utilizada no tratamento das águas residuárias têxteis na remoção de matéria orgânica e corante.

## REFERÊNCIAS

APHA – AWWA – WEF **Standard methods for the examination of water and wastewater 19th**, Washington DC, USA, 1999.

AIVASIDIS, A. Decoloration of textile wastewater by means of a fluidized-bed loop reactor and immobilized anaerobic bacteria. Journal of Hazardous Materials B135 (2006) 372–377

- FREIRE, R.S, PELEGRINI, R, KUBOTA, L. DURÁN, N. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas
- GALVÃO, V. et al.. **Modelagem do complexo enzima-substrato da sacarose.** XXXI Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada / ID: 493-3. 2008.
- GARCIA, I. G., PENA, P. R. J., VENCESLADA, J. L. B., MARTIN, A. M., MARTIN, M. A. S., GÓMEZ, E. R., (2000). Removal of phenol compounds from olive Mill wasterwater using Phanerochaete chysosporium, Aspergillus niger, Aspergillus terreus and Geotrichum candidum. Process Biochemistry, 35: 751-758.
- KHELIFI, E., AYED, L., BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., HAMDI, M. Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolourization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C, 2008.
- MIRANDA, M. P., BENEDITO, G. G., SAN CRISTOBAL, N., HERAS NIETO, C. (1996). Color elimination from molasses wastewater by Aspergillus niger. Bioresource Technology. 57: 229-235
- MOHORCIC, M., TEODORIVIC, S., GOLOB, V., FRIEDRICH, J. Fungal and enzymatic descolorization of artificial textile dye baths. Chemosphere, v. 63, p. 1709-1717, 2006.
- REIS, L, G. T, **Degradação do Corante Vermelho do Congo em Solução Aquosa através do Plasma obtido por Eletrólise de Alta Tensão.**Minas Gerais,2009.Dissertação do mestrado —Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2009
- RODRIGUES, K. de A., SAMPAIO, G. M. M.; S., ZAIAT, M., SANTAELLA, S. T., Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* an 400 em reatores em batelada. Engenharia Ambiental, jun/jul/ago, 2007.
- RODRIGUES, K. de A. Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética. São Carlos, 2006. Tese de doutorado-Escola de engenharia de São Carlos Universidade de São Paulo. 2006
- SILVA, K. M. L. et al. Remoção de Corante Têxtil em Meio Sintético por Aspergillus niger AN 400. 2008.
- SILVA, A.C. **Degradação de Corante em Meio Salino por Ozonização.** Tese de doutorado Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2006.
- SOMASIRI, W.  $et\ al.$  Evaluation of the efficacy of up flow anaerobic sludge blanket reactor in removal of colour and reduction of COD in real textile wastewater. Bioressource Technology, v. 99, n. 9, p. 3692-3699, 2008.
- VASSILEV, N., FENICE, N., FEDERICI, F., AZCON, R. (1997). Ollive mill wate water treatment by immobilized cells of Aspergillus niger and its enrichment with soluble phosphate. Process Biochemistry. 32: 7: 617-620.
- VIRARAGHAVAN, Y. Fu. T. Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*. Advances in Environmental Research 7 2002 239\_247.
- WANDERLEY, C.R.P. Aspergillus niger AN 400como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho congo em meio aquoso sintético. Fortaleza, 2007. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil-Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Ceará, 2007.
- Wang, C., Yediler, A., Lienert, D., Wang, Z., Kettrup, A., 2002, "Toxicity evaluation of reactive dyestuffs, auxiliaries and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria Vibrio fischeri", Chemosphere, v. 46, pp.339-344.