

INFLUÊNCIA DA GLICOSE NA REMOÇÃO DE CORANTE ÍNDIGO DE EFLUENTE TÊXTIL POR *Aspergillus niger* AN400 EM REATORES EM BATELADA

Joab do Nascimento PIRES (1); Luanna LOYOLA (2); Helison de Oliveira MAXIMO (3); Glória MARINHO (4); Kelly RODRIGUES (5); Carlos Ronald PESSOA WANDERLEY(6)

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Av. Treze de Maio, 2081, Benfica – Fortaleza, CE, telefone: (85) 33073666, fax: (85) 33073711, e-mail: joabpires@yahoo.com.br

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, e-mail: luannaloyola.ifce@gmail.com

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, e-mail: helisonmaximo@gmail.com

(4) Depto. de Química e Meio Ambiente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Fortaleza, e-mail: gloriamarinho@ifce.edu.br

(5) Depto. de Química e Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Fortaleza, email: kelly@ifce.edu.br

(6) Depto. de Química e Meio Ambiente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Maracanaú, e-mail: ronald@ifce.edu.br

RESUMO

Várias pesquisas mostram que os fungos podem ser alternativa excelente para o tratamento de efluentes têxteis quando lhe são proporcionadas condições adequadas ao funcionamento de seu metabolismo. O presente trabalho, de caráter experimental, objetiva avaliar a influência da glicose na remoção de corante índigo de um efluente *in natura* têxtil por *Aspergillus niger* AN400 em reatores em batelada. Primeiramente, foi avaliada a menor diluição do efluente a ser utilizada no experimento que permitisse o crescimento do fungo. Foram operados 40 reatores, dos quais 10 tinham função de controle (RC) contendo apenas o efluente diluído a 70% e 30 continham o efluente juntamente com o fungo e a glicose. Foram divididos os 30 reatores com fungo em três lotes de 10, nos quais se adicionou diferentes concentrações de glicose: 1g/L (RF1), 3g/L (RF3) e 5g/L (RF5). Todos os reatores foram operados em duplicata com tempos de reação de 0, 1, 2, 3, 4 e 7 dias. Os resultados alcançados mostraram-se bastante satisfatórios para remoção de corante índigo. Nos reatores RF3 e RF5 foram atingidos percentuais de remoção, respectivamente, de 93% e 94% no 7º dia. Para o RF1, o sistema atingiu no último dia um percentual de remoção de 85% de corante, acompanhado de uma boa redução de matéria orgânica bruta (71,6%) e centrifugada (82%). O sistema operado demonstrou uma boa alternativa a ser considerada para a melhora de tratamentos biológicos de efluentes têxteis em escala real.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, índigo, glicose, remoção.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento industrial proporcionou o aparecimento de diversos setores ligados à produção em larga escala, entre estes, o setor têxtil, que tem como principal objetivo a transformação de fibras em fios, de fios em tecidos e destes últimos em peças de vestuário ou têxteis domésticos. O processo de tingimento tem sido indispensável para o êxodo comercial destes produtos. Contudo, o efluente gerado em tal processo tem despertado a preocupação com o meio ambiente. A baixa eficiência de agregação do corante à fibra contribui para o descarte dessas espécies em grandes concentrações nos efluentes têxteis. Caso estes não recebam tratamento adequado podem chegar aos corpos hídricos, comprometendo assim a saúde humana e a vida biótica existente ou dependente deles.

Há alguns anos acreditava-se que a presença de compostos coloridos nas águas causava apenas problemas estéticos, porém, hoje se sabe que os corantes podem influenciar diretamente no metabolismo aquático,

alterando a oferta de oxigênio, transparência da água, dificultando a penetração dos raios solares, alterando os processos de fotossíntese e, conseqüentemente, modificando o ecossistema (PODGORNIK *et al.*, 2001; KHELIFI *et al.*, 2008). Deve-se considerar também, a capacidade que alguns corantes têm de sofrer transformações no meio ou quando ingeridos, levando à formação de produtos mais nocivos do que o próprio corante por possuírem propriedades cancerígenas e de alto poder mutagênico (ANASTÁCIO FERRAZ, 2008).

Diferentes técnicas e processos podem ser usados na tentativa de remover ou reduzir a concentração de corantes presentes nas águas residuárias têxteis. Levando-se em consideração suas limitações e custos, estas técnicas, associadas à complexidade do efluente têxtil, tornam o tratamento complicado. Processos físico-químicos de tratamento de efluentes costumam ter custos inviáveis e sofrem grande interferência de muitos constituintes do efluente, entre os quais o tipo de corante empregado (BRAÚNA, 2007). Possuindo normalmente custos menores, os tratamentos biológicos têm se mostrado uma alternativa viável para eliminar corantes de efluentes têxteis, além de promover a redução da carga orgânica presente (DOS SANTOS, 2005; VAN DER ZEE e VILLA VERDE, 2005 *apud* BRAÚNA, 2007).

Dentre os organismos utilizados no tratamento biológico de efluente destacam-se os fungos, os quais têm demonstrado eficiente potencial para o tratamento de águas residuárias têxteis, assim como para a reciclagem da matéria orgânica. Estes microrganismos possuem grande eficácia para romper moléculas complexas de corantes através da liberação de enzimas que atuam fora do organismo, tornando-as acessíveis ao seu metabolismo (RODRIGUES, 2006). A eficiência do processo de descoloração pode ser melhorada ao selecionar cuidadosamente as condições de operação, tais como a adição de cossubstratos apropriados como fonte primária de carbono, mais simples de serem assimilados (ESPOSITO e AZEVEDO, 2004; KHELIFI *et al.*, 2009).

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar a capacidade de remoção de corante índigo existente na água residuária de uma indústria têxtil por biomassa dispersa de fungo da espécie *Aspergillus niger* AN400 na presença de diferentes concentrações de glicose como cossubstrato utilizando reatores em batelada de desmonte.

2 MATERIAL e MÉTODOS

2.1 Água residuária

O efluente *in natura* contendo o corante índigo foi fornecido por uma indústria têxtil localizada no município de Maracanaú-Ce. Durante quatro meses foram realizadas coletas semanais para realização da caracterização do efluente. As variáveis analisadas foram, conforme APHA (2005): Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrato, Nitrito, Amônia, Potencial Hidrogeniônico (pH) e Ortofosfato. O pH do efluente final foi encontrado extremamente alcalino, sendo necessário o ajuste para beneficiar o desenvolvimento do fungo (GRIFFIN, 1994).

2.2 Inóculo

A espécie usada neste trabalho foi o *Aspergillus niger* AN 400, na forma de suspensão de esporos, na concentração de 2×10^6 esporos/mL em cada reator. Na preparação do inóculo foi realizada a produção de esporos a partir de cepa mantida à -4°C, a qual foi inoculada em placas de Petri esterilizadas, contendo meio de cultura Agar-Saboraud. O meio foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C, durante 20 minutos.

As placas inoculadas com fungos permaneceram por sete dias em temperatura de 28°C, tendo-se ao final deste período observado o crescimento dos esporos por toda a placa; logo depois foi feita a remoção de esporos com solução Tween 80 e, em seguida, o procedimento de contagem, com auxílio de microscópio óptico, com aumento de 40 vezes, no qual foi obtida a concentração de $7,93 \times 10^8$ esporos/mL.

2.3 Teste de toxicidade

O teste de toxicidade foi realizado com a finalidade de avaliar o efeito tóxico do efluente bruto e com diversas diluições sobre o crescimento dos fungos. Foram utilizadas placas de Petri previamente esterilizadas, meio de cultura Agar-Saboraud misturado ao efluente. Foi necessário adicionar ágar visando

manter a consistência sólida. As diluições testadas foram de 5, 10, 30, 50, 70 e 100% (v/v) de efluente. Foi utilizada no experimento a diluição de 70%. Como o meio encontrava-se alcalino, o pH foi ajustado para 5 com ácido sulfúrico 5N. Cada placa foi inoculada com 2×10^6 esporos/mL e incubada à 28°C por sete dias.

2.4 Montagem e operação dos reatores

A pesquisa foi realizada em escala laboratorial utilizando 40 reatores constituídos por erlenmeyers de vidro de 150 mL de volume reacional. Estes foram operados sobre mesa agitadora a 125 rpm. Destes, 10 tinham função de controle (RC) contendo somente o efluente diluído. Nos outros 30, inoculou-se a solução de esporos fúngicos, juntamente com diferentes concentrações de glicose como cossustrato. Estes foram divididos em três lotes de 10 reatores, nos quais se adicionou o cossustrato nas concentrações de 1g/L (RF1), 3g/ L (RF3) e 5g/ L (RF5). Em todos os reatores, o pH foi ajustado para 5 no intuito de beneficiar o desenvolvimento do fungo (GRIFFIN, 1994).

O experimento foi realizado durante 15 dias, ocorrendo o desmonte em duplicata de cada teste (RC, RF1, RF3 e RF5) nos diferentes tempos de reação para determinação das variáveis: Demanda Química de Oxigênio (DQO), potencial hidrogeniônico (pH) e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), de acordo com APHA (2005) e ainda corantes, conforme Silva Filho *et al.* (2006). Os tempos de reação estudados foram: 0 dia; 1 dia; 2 dias; 3 dias; 4 dias e 7 dias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Caracterização do efluente

Na Tabela 1 são mostrados os valores médios obtidos durante o processo de caracterização do efluente em estudo. Como se pode observar, o meio era muito alcalino, o que é desfavorável à produção de algumas enzimas pelo *Aspegillus niger*. Isto foi demonstrado por Spier (2005) que obteve uma significativa redução no metabolismo enzimático deste fungo em valor de pH igual a 8.

O elevado valor do pH desses efluentes pode ser explicado pelo processo empregado na realização do tingimento, pois o corante índigo é insolúvel em água, de modo que é necessário reduzi-lo à sua forma solúvel (leuco). Este processo é realizado utilizando ditionito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) em uma solução alcalina de hidróxido de sódio. Em seguida, o tecido tratado com a tintura reduzida é exposto ao ar para oxidar o corante de volta a sua forma insolúvel (MEKSI *et al.*, 2007).

Tabela 1 – Caracterização da água residuária in natura.

Parâmetro	Valor médio
pH	12,4
DQO (mg. L ⁻¹)	838,4
Nitrato (mg. L ⁻¹)	6,2
Nitrito (mg. L ⁻¹)	12,4
Amônia (mg. L ⁻¹)	87,6
Ortofosfato (mg. L ⁻¹)	199,9

3.2 Testes de toxicidade

Após sete dias de cultivo, as placas contendo o meio de crescimento, o efluente e o fungo foram observadas. Avaliaram-se quais foram as menores diluições, as quais proporcionaram condições ao crescimento dos fungos. O melhor crescimento foi registrado nas diluições de 50 e 70% (Figura 1).

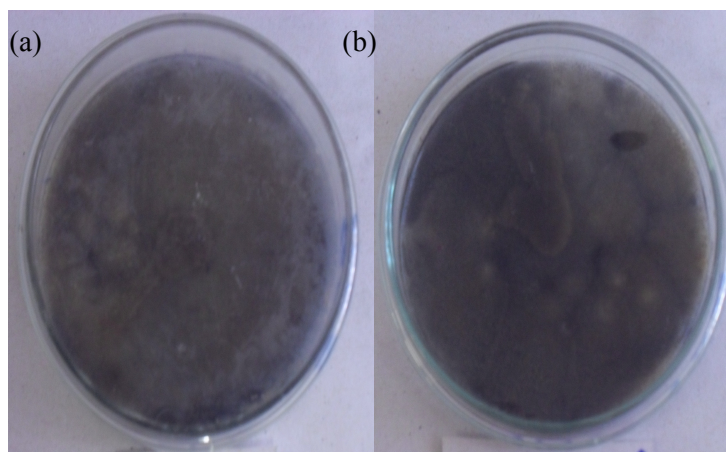


Figura 1 – (a) Crescimento fúngico em placa de Petri a 50%; (b) Crescimento fúngico em placa de Petri a 70%.

3.3 Variáveis analisadas

3.3.1 Potencial Hidrogeniônico

O monitoramento do valor do pH no meio tornou-se necessário, pois este é um parâmetro que desempenha uma importante influência na indução de mudanças morfológicas no organismo e também para a secreção enzimática (SPIER, 2003). Na Figura 2 é mostrada a variação do pH que ocorreu no decorrer dos diferentes tempos de reação.

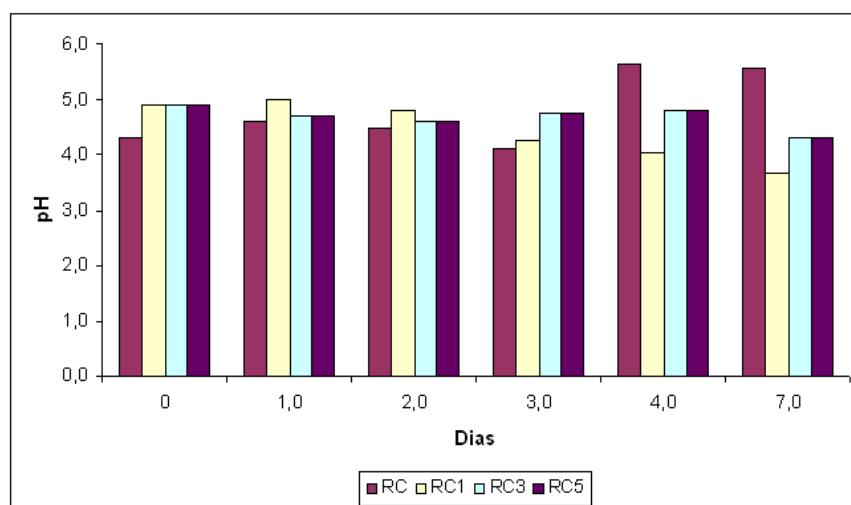


Figura 2 – Variação dos valores de pH dos reatores RC, RF1, RF3 e RF5 no decorrer dos tempos de reação.

Em todos os reatores, durante os sete dias de operação, o pH manteve-se em uma faixa ácida que variou de 3,7 a 5,6, o que demonstrou a capacidade tamponante existente no meio ocasionada pela ação metabólica do fungo. De acordo More *et al.* (2010), a produção de ácidos orgânicos como metabólitos secundários proporciona ao fungo a capacidade de manter o pH ácido, o que é fundamental para uma melhor produção enzimática. Conforme Gupta *et al.* (2003), em processos com fungos, algumas vezes, elimina-se a necessidade de controle do pH.

Nos reatores com inóculo fúngico, a pequena diminuição do pH observada pode ser atribuída à presença da glicose adicionada. De acordo com Znad *et al.* (2004), o consumo da glicose leva a formação de ácidos orgânicos. Segundo Kyriacou *et al.* (2005), o *Aspergillus niger* possui a capacidade de produzi-los,

mantendo o pH entre 2 e 4, representando vantagem competitiva em relação a outros micro-organismos e é nesta faixa de pH que ocorre maior produção de enzimas, o que favorece a degradação do corante.

Um estudo realizado por Spier (2005), mostrou a produção de α -amilase e amiloglicosidase por *Aspergillus* em diferentes valores de pH, e como resultado, a maior produção foi alcançada em pH 4. No controle, por se tratar de um efluente real *in natura*, provavelmente, a ação metabólica da microbiota autóctone proporcionou uma pequena elevação do pH de 4,3 para 5,6.

3.3.2 Corante

Na Figura 3 é apresentado um gráfico representando o decaimento da concentração de corante nos reatores operados. No controle, foi observada pequena redução da concentração do corante índigo, de 25,5% no 7º dia, tendo-se atribuído essa remoção à comunidade de micro-organismos presentes naturalmente no efluente, mostrando assim, pouca afinidade desses organismos com o poluente.

Nos reatores operados com fungo e glicose, a remoção foi significativa, o que indicou a ação do fungo sobre o corante. Para o RF1, obteve-se diminuição da concentração de corante no quarto dia, de 73%, atingindo-se percentual máximo no 7º dia (84%). Nos reatores RF3 e RF5, o decaimento ocorreu num tempo de reação menor, 3º dia, sendo de 55% e 83% respectivamente. O percentual máximo atingido, para ambos, ocorreu no último dia de teste, 93% (RF3) e 94% (RF5).

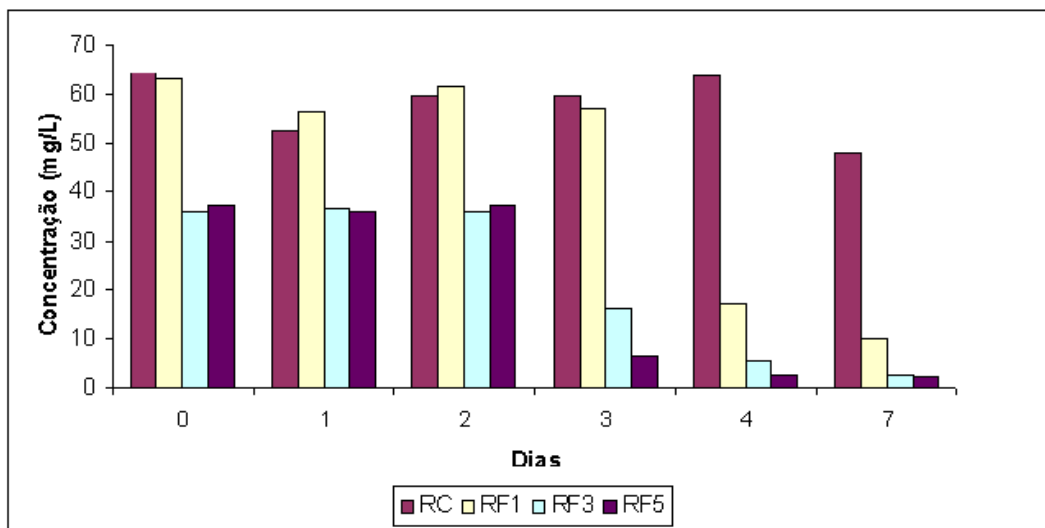


Figura 3 – Variação da concentração de corante nos reatores RC, RF1, RF3 e RF5.

Melo (2009) avaliou a remoção de corante Vermelho do Congo em efluente sintético sob influência da glicose na concentração de 1g/L e obteve remoção de 95,6% no 10º dia de experimento. Portanto, é importante ressaltar que no presente estudo, apesar da remoção obtida ter sido menor, ela foi alcançada utilizando-se um efluente *in natura* pouco diluído e em tempo de reação menor (7 dias). A pequena remoção ocorrida no RC indica uma menor afinidade dos micro-organismos autóctones pelo corante em relação ao fungo.

3.3.3 Sólidos Suspensos Voláteis

Possivelmente, por dispor de mais cossubstrato, nos reatores RF3 e RF5 houve aumento substancial da biomassa fúngica, que cresceu na forma de *pellets*, confirmado pelo aumento dos sólidos suspensos voláteis (Figura 4). Nos reatores com fungos, o dia em que ocorreu aumento dos sólidos suspensos voláteis coincidiu com remoção do corante, sendo de 55% e 83%, no 3º dia, para os reatores RF3 e RF5, respectivamente, e de 73%, no 4º dia, para o RF1. Isto pode ser explicado pela adsorção do corante à biomassa formada, e pela biodegradação.

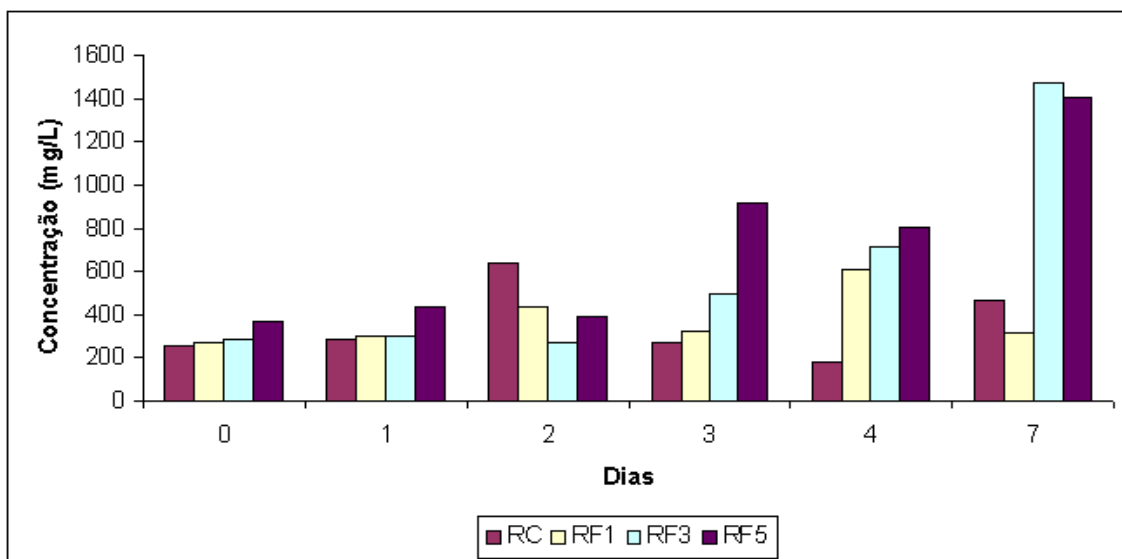


Figura 4 – Variação da concentração dos sólidos suspensos voláteis nos reatores RC, RF1, RF3 e RF5.

Segundo Deo Rio (2004) a adsorção é a primeira etapa do processo de biossorção. Paralelamente ou em seguida, pode ocorrer degradação do corante, pois de acordo com Khelifi (2009), os fungos consomem as fontes de carbono mais fáceis de serem assimiladas nos estágios iniciais de crescimento, e posteriormente, iniciam a produção de metabólitos secundários e de enzimas extracelulares que realizam a biodegradação de corantes.

As concentrações de glicose utilizadas no RF3 e RF5 proporcionaram remoções semelhantes de corante, 93% e 94%, respectivamente (7º dia). No reator RF5 esperava-se uma maior eficiência na remoção de corante por se tratar de uma maior concentração de glicose, visto que a presença de um cossubstrato facilita a remoção do poluente pelo fungo. Tal fato não ocorreu, possivelmente, pela formação de *pellets* mais espessos o que pode ter levado à limitação difusional. De acordo com Xavier *et al.* (2005), em culturas de células livres, o transporte de solutos do meio líquido para uma célula ocorre relativamente rápido, porém, agregados microbianos são ambientes densamente empacotados onde o fluxo de líquido é limitado. Tem-se então, a diminuição do transporte de massa à região interna dos flocos, dificultando assim, um contato direto do fungo com o poluente.

3.3.4 Demanda Química de Oxigênio

Na Figura 5 mostra os valores da DQO nos reatores RC e RF1. Não foi possível obter os resultados referentes aos reatores RF3 e RF5. No primeiro dia, no reator RC houve um aumento de DQO da amostra bruta e centrifugada de 1997 mg/L para 2805 mg/L e de 567 mg/L para 1033 mg/L, respectivamente. Já para o reator RF2 houve um aumento de 1997 mg/L para 2805 mg/L e de 1779 mg/L para 1810 mg/L. Isto, possivelmente, ocorreu devido ao crescimento dos micro-organismos presentes, confirmado ao se observar um pequeno aumento do SSV, porém a redução iniciou-se no 2º dia de operação. O aumento do SSV, no 2º dia, simultaneamente à redução de DQO, pode ser explicado pelo consumo da matéria orgânica utilizada na produção de novas células. No 7º dia, foi observada em RC, diminuição da DQO bruta e centrifugada de 59% e 85%, respectivamente.

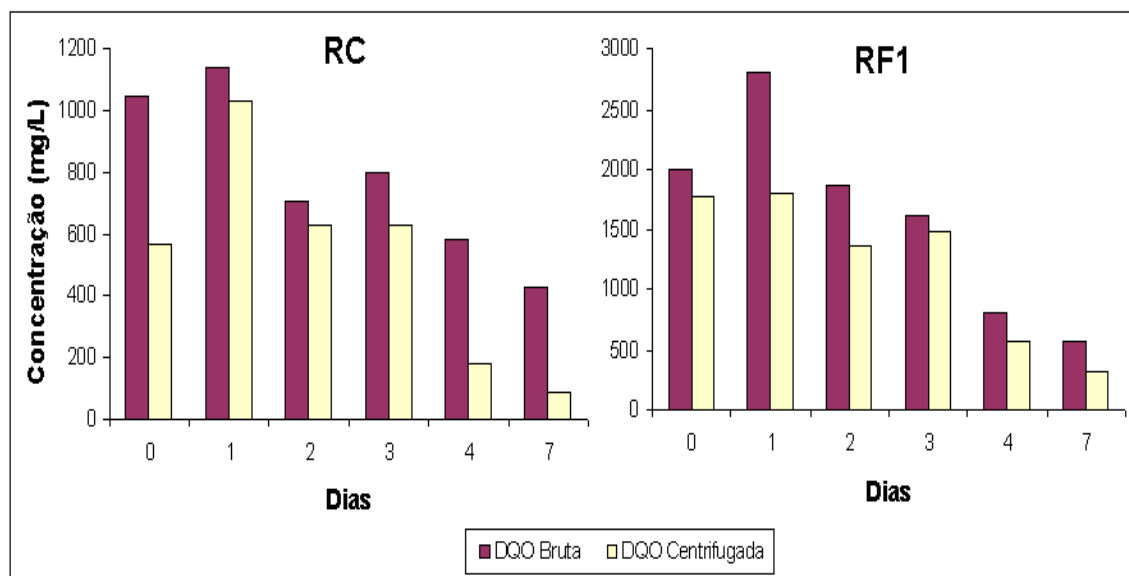


Figura 5 – Variação da DQO bruta e centrifugada nos reatores RC e RF1.

No RF1, a DQO da amostra bruta atingiu percentual de remoção de 71,6% e a da amostra centrifugada de 82%. O aumento da parcela dissolvida no 3º dia pode ser atribuído à geração de subprodutos, pois de acordo com More *et al.* (2010), os fungos filamentosos naturalmente produzem metabólitos secundários em grandes quantidades. De acordo com Ikeda *et al.* (2006), ao utilizar fontes de carbono para produzir biomassa, o *Aspergillus niger* produz metabólitos que podem ser acumulados no interior das células ou ser excretados. As remoções da parcela de matéria orgânica dissolvida, no 7º dia, em ambos os reatores, demonstraram boa interação dos fungos inoculados com os micro-organismos autóctones, os quais possivelmente puderam assimilar os subprodutos gerados.

3 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no experimento permitem concluir que houve significativas remoções de corante pelo fungo *Aspergillus niger* AN400 na presença da glicose como cossubstrato, sendo que as concentrações 3g/L e 5g/L de glicose resultaram em remoções semelhantes de 93% e 94%, no 7º dia. Houve decaimento da concentração de corante, chegando a 84%, no último dia, a qual foi acompanhada da remoção simultânea de DQO bruta e centrifugada, respectivamente, 71,6% e 82%, em RF1, demonstrando ótima interação do fungo com a micro-biota autóctone, o que é favorável para um possível tratamento em escala real.

REFERÊNCIAS

- APHA. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 20ª edição. American Water Work Association, Water Environment federation. Washington: 2005. 953p.
- ANASTÁCIO FERRAZ, E. R. **Comparação da mutagenicidade dos azo corantes Disperse Red 1, Disperse Orange 13 e Disperse Red 13 utilizando o teste de mutagenicidade *Salmonella*/microsoma**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2008.
- BRAÚNA, C., H., C. **Efeito do nitrato na descoloração redutiva de corante azo por lodo anaeróbio mesofílico**. 2007. 93f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará. 2007.

DEO RIO, D. T. **Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae***. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiros”, Universidade de São Paulo). Piracicaba, 54p. 2004.

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

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

GUPTA, R.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V.K.; CHAUHAN, B. **Microbial α -amylases: a biotechnological perspective**. Process Biochemistry, p.1-18, 2003.

IKEDA, Y.; PARK, E.Y.; OKUDA, N. **Bioconversion of waste office paper to gluconic acid in a turbine blade reactor by the filamentous fungus *Aspergillus niger***. Bioresource Technology 97, 1030–1035, 2006.

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**, 2009.

KIYRIACOU, A.; LASARIDI, K. E.; KOTSOU, M.; BALIS, C.; PILIDIS, G. **Combined bioremediation and advanced oxidation of Green table olive processing wastewater**. Process Biochemistry. 40, 1401-1408, 2005.

MEKSI, N.; KECHIDA, M.; MHENNI, F. **Cotton dyeing by indigo with the borohydride process: Effect of some experimental conditions on indigo reduction and dyeing quality**. Chemical Engineering Journal 131, 187–193, 2007.

MELO, I.; ARAÚJO, K.; CUNHA LIMA, P. C.; PESSOA-WANDERLEY, .C. R.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. **Avaliação da influência do uso de diferentes co-substratos na remoção de corante Vermelho do Congo por *Aspergillus niger* AN400**. IX Encontro de Iniciação Científica e Tecnológica (ENICIT), 2009.

MORE, T. T.; YAN, S. TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R.Y. **Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment**. Bioresource Technology 101, 7691–7700, 2010.

PODGORNIK, H.; POLJANSEK, I.; PERDIH, A. **Transformation of Indigo carmine by *Phanerochaete chrysosporium* ligninolytic enzymes**. Enzyme and Microbial Technology, v. 29, n. 2-3, 7, p. 166-172, 2001.

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.

SILVA FILHO, H. A.; SANTOS, M. V. E.; SAMPAIO, G. M. M. S.; ARTHAUD, I. **Ensaio de toxicidade e remoção de corantes têxteis por processo biológico**. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa – PB – 2006.

SPIER, M. R., **Produção de enzimas amilolíticas fúngicas α -amilase e amiloglucosidase por fermentação no estado sólido**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - setor de tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

XAVIER, J. B.; PICIOREANU, C.; ALMEIDA, J. S.; LOOSDRECHT, M. C. M. **Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes**. Biomatemática - Modelação da estrutura de Biofilmes, 2005.

ZNAD, H., MARKOS, J., BALES, V. **Production of gluconic acid from glucose by *Aspergillus niger*: growth and non-growth conditions**. Process Biochemistry, v.39, n. 11, p. 1341-1345, 2004.