

## **REMOÇÃO BIOLÓGICA DE CORANTE TÊXTIL ATRAVÉS DE *Pseudomonas aeruginosa***

**Isabelly da Silva LIMA (1); Ivan Barros de OLIVEIRA JÚNIOR (2); Antônio Hermeson de Sousa CASTRO (3); Rinaldo dos Santos ARAÚJO (3); Mabel Calina de França PAZ (3)**

(1) Tecnologia em Gestão Ambiental/Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, \*R. Elisabete Madeira nº50, 32393756, e-mail: [isabellylima654@hotmail.com](mailto:isabellylima654@hotmail.com); (2) Tecnologia em Processos Químicos/Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, (3) Professores/ Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará .e-mail: [rinaldo@cefetce.br](mailto:rinaldo@cefetce.br); [mabel@cefetce.br](mailto:mabel@cefetce.br)

### **RESUMO**

Com o desenvolvimento da indústria têxtil, cresce a preocupação ambiental com a quantidade e qualidade dos seus efluentes. Os principais contaminantes são os corantes utilizados no tingimento do tecido. Os problemas associados a esse tipo de efluente são a toxicidade e o potencial carcinogênico, além do dano aos corpos receptores dificultando a transmissão de luz. O corante Índigo Carmim ( $C_{16}H_8N_2S_2O_8Na_2$ ), pertencente a uma família de corantes indigóides, possui grande importância por sua ampla utilização, além de um elevado potencial tóxico devido a sua estrutura molecular. *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa, de alta versatilidade metabólica. Alternativas de tratamento com microrganismos vivos ou mortos que tem possibilitado a remoção de corantes de efluentes têxteis a um baixo custo, promovida pelos mecanismos enzimáticos e as interações físico-químicas entre a molécula do corante e os componentes da parede celular. O presente trabalho tem como objetivo o estudo da remoção biológica dos corantes têxteis, tipo índigo carmim, através da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados mostram que o microrganismo utilizado foi eficiente na remoção do corante, além de ter possibilitado a produção de biopolímeros como os biossurfactantes, possivelmente utilizando o corante como fonte de energia e o glicerol como fonte de carbono.

**Palavras-chave:** Efluente têxtil, *Pseudomonas aeruginosa*, Índigo carmim.

## 1. INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da indústria têxtil, cresce a preocupação ambiental com a quantidade de efluentes produzidos que são altamente coloridos. A composição desses efluentes é variada, os principais contaminantes são os corantes utilizados no tingimento do tecido, que são desperdiçados cerca de 20% em seus rejeitos. Os problemas associados a esse tipo de efluente são a toxicidade e o potencial carcinogênico, além do dano aos corpos receptores dificultando a transmissão de luz, e assim comprometendo a dinâmica dos copos aquáticos.

Os azo corantes são extensamente usados na indústria de acabamento têxtil, refletindo, portanto a importância dos estudos que visem tratar efluentes que os contém. Esse tipo de corante é caracterizado por sua típica ligação -N=N-. Uma variedade de microrganismos pode degradar os azo corantes no ambiente natural, eles são úteis nessa degradação porque têm a capacidade de clivagem redutiva nas ligações azo, fato que geralmente está associado às enzimas azoredutases (KUNZ *et al.*, apud EVAGELISTA-BARRETO, 2006)

O corante Índigo Carmim ( $C_{16}H_8N_2S_2O_8Na_2$ ), pertence à família dos corantes indigóides, possui grande importância por sua ampla utilização. *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa, em forma de bastonete, amplamente distribuída nos ambientes aquáticos e terrestres, apresenta uma alta versatilidade metabólica em degradar compostos orgânicos o que faz deste microrganismo um excelente agente de degradação de compostos xenobióticos. Nesse contexto surgem alternativas de tratamento com microrganismos vivos ou mortos que tem possibilitado a remoção de corantes de efluentes têxteis a um baixo custo. Neste processo, a descoloração é promovida pelos mecanismos enzimáticos e as interações físico-químicas entre a molécula do corante e os componentes da parede celular.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nas últimas décadas, os problemas ambientais têm se tornado cada vez mais críticos e frequentes, principalmente devido ao desmedido crescimento populacional e ao aumento da atividade industrial. Com esses fatores, os problemas consequentes da ação antrópica têm atingido dimensões catastróficas, podendo ser observadas nas alterações da qualidade do solo, ar e água. A contaminação desta última é um grande problema da sociedade contemporânea. Dentro desse contexto, o setor têxtil se destaca por apresentar grande parque industrial e gerar enormes volumes de efluentes, os quais podem causar sérios problemas ambientais se não houver tratamento (KUNZ, 2002).

Os efluentes líquidos da indústria têxtil quando não tratados são altamente poluidores, pela presença de diversos compostos químicos utilizados na confecção do tecido. Os principais contaminantes dos efluentes têxteis são os corantes utilizados no tingimento do tecido. Estima-se que no processo de tingimento pelo menos 20% dos corantes têxteis sejam descartados em efluentes, devido a perdas ocorridas durante o processo de fixação da tintura às fibras. A remoção desses compostos dos rejeitos industriais é um dos grandes problemas ambientais enfrentados pelo setor têxtil (OLIVEIRA e SOUZA, 2004).

É importante ressaltar que os riscos crônicos dos corantes estão relacionados principalmente às etapas de biotransformação, ou seja, a rota do metabolismo dos organismos. Com relação à fixação dos corantes, o grupo mais representativo e largamente empregado pertence à família dos azo corantes que representam cerca de 60% dos corantes atualmente utilizados no mundo (VANDEVIVERE *et al.*, 1998).

Os processos de tratamentos adotados pelas indústrias têxteis que operam por meio de sistemas físico-químico, seguido do tratamento biológico via lodo ativado, embora apresente eficiência relativamente alta na remoção da cor (cerca de 80%), apresenta como inconveniência a geração de lodo, considerado crítico do ponto de vista ambiental, visto o percentual de corantes adsorvidos criando um problema de disposição (KUNZ *et al.*, 2002).

Ferreira (2001), diz que devido à complexidade, variedade e natureza química dos corantes presentes no efluente têxtil, não há um método universal para o seu tratamento. Tal situação verifica-se, sobretudo em relação à natureza química dos corantes que são “projetados” para resistirem à ação de agentes oxidantes, suor, sabão e luz uma vez que os produtos finais devem atender o padrão de exigência do consumidor tanto inicialmente quanto após o uso prolongado. Assim estes compostos apresentam elevada estabilidade e baixa degradabilidade.

Diante disso, a biorremediação surgiu com a alternativa de utilizar microrganismos para o tratamento desses efluentes, já que a habilidade de degradação de diversos compostos pelos microrganismos é bastante conhecida. O tratamento com microrganismos vivos ou mortos tem possibilitado a remoção de corantes de efluentes têxteis a um baixo custo. Neste processo, a descoloração pode ser promovida levando em consideração os mecanismos enzimáticos e as interações físico-químicas entre a molécula do corante e os componentes da parede celular (KUNZ et al., 2002).

MCMULLAN *et al* (2001) relatam que a habilidade dos microorganismos para descolorir e metabolizar corantes há muito tempo já é conhecida, e o uso de tecnologias a base de biorremediação para o tratamento de efluente têxtil tem atraído interesse de grupos de pesquisa que uscam a otimização dos processos de descoloração. As bactérias também têm sido utilizadas na degradação de corantes. Estes microrganismos são particularmente úteis para a degradação de azo corantes, pois possuem a capacidade de realizar a clivagem redutiva nas ligações azo deste tipo de composto (KUNZ et al, 2002).

Segundo Parales e Haddock (2004) as reações microbiológicas executam um papel chave na biocatalização e na biodegradação. Algumas bactérias são capazes de imobilizar metais pesados tóxicos que contaminam aquíferos, ilustrando dessa forma o potencial dos microorganismos na remoção ou absorção de poluentes.

*Pseudomonas aeruginosa* possui grande versatilidade nutricional, o que lhe permite crescer rapidamente em diferentes condições, sendo potencialmente capaz de degradar mais de 100 compostos orgânicos diferentes (BARBOSA e TORRES, 1998, apud EVANGELISTA-BARRETO, 2006).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Microrganismo**

O microrganismo utilizado para o estudo foi a *Pseudomonas aeruginosa*. A bactéria foi repicada para o meio líquido BHI e incubada por 24h a 35°C. Em seguida foi repicada e preservada em meio sólido inclinado AN (Nutrient Agar – BIOLIFE<sup>®</sup>).

#### **3.2 Teste de degradação do corante Índigo Carmim**

##### **▪ Preparação Inóculo**

Para o inóculo o microrganismo foi cultivado em frascos Erlenmeyer de capacidade 250mL com 50mL do meio Luria Bertani suplementado com glicerol (v/v) como fonte de carbono, e incubado a 37°C por 24h sob agitação em shaker a 150 rpm. Em seguida foi realizada a leitura espectrofotométrica da densidade óptica a 660 nm. (D.O.<sub>660nm</sub> de 2,12).

##### **▪ Preparação do corante**

Uma solução estoque do corante Índigo Carmim (1000 mg/L) foi preparada, para posteriormente ser adicionado ao meio de cultura na concentração final de 10mg/L, esta concentração é a sugerida pelas indústrias têxteis como a mais utilizada no processo. Esta solução foi previamente filtrada com esterilidade, em filtro de 0,45 µm.

##### **▪ Teste de degradação**

O experimento foi realizado em triplicata, em frascos Erlenmeyers de 250mL de capacidade com corante numa concentração de 10mg/L, glicerol (v/v).

O cultivo foi realizado por um período de 48 horas, sob agitação orbital (150rpm) a temperatura de 37°C. Nos horários de 24h, 36h e 48h as amostras foram submetidas à centrifugação de 3500 rpm por 20 min, para separação das células do líquido metabólico, e conseqüente realização de testes como: Demanda Química de Oxigênio – DQO, pH, cor verdadeira e índice de emulsificação.

### **3.3 Análises realizadas**

#### **3.3.1 - DQO**

As determinações de DQO foram realizadas por método titulométrico. A análise foi realizada em duplicatas.

#### **3.3.1 - COR**

##### **▪ Cor aparente**

Foi determinada por absorvância em espectrofotômetro cujo comprimento de onda foi após curva de varredura do corante, que apresentou máxima absorvância a 608 nm, medido em espectrofotômetro UV-Visível da marca Thermo Electron Corporation com modelo Nicole e100, do líquido metabólico não centrifugado.

##### **▪ Cor verdadeira**

Foi determinada por absorvância em espectrofotométrico cujo comprimento de onda foi definido fazendo-se varredura do corante, que apresentou máxima absorvância a 608 nm, medido em espectrofotômetro UV-Visível da marca Thermo Electron Corporation com modelo Nicole e100, do líquido metabólico centrifugado.

#### **3.3.2 - pH**

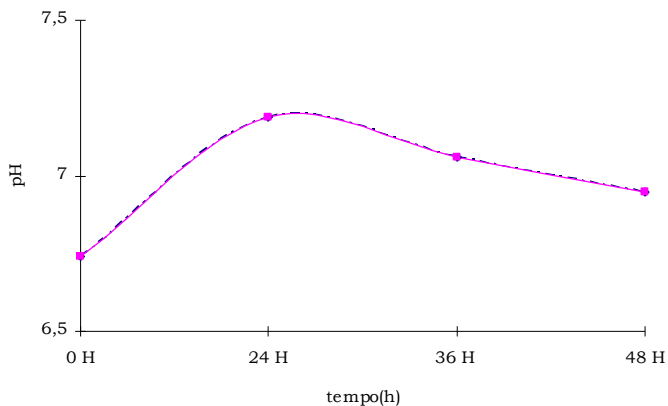
Foi determinado utilizando o pHmetro EVLAB, modelo EV:03.

#### **3.3.3 - Produção de biopolímeros**

O líquido metabólico livre de células foi utilizado para determinar o índice de emulsificação segundo Cooper e Goldemberg (1984), de cada uma das alíquotas coletadas em tempos diferentes de cultivo. O método estima a quantidade de biossurfactante produzida pelo microrganismo na presença de uma fonte de carbono, neste caso foi utilizado o glicerol.

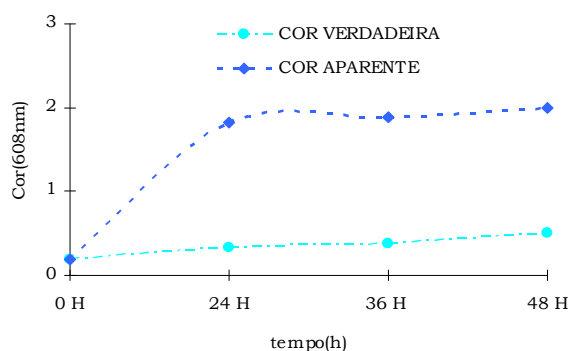
## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos do estudo de remoção do corante azo Índigo carmim pela cepa *Pseudomonas aeruginosa* no líquido metabólico livre de células, através dos parâmetros avaliados mostram que ao se estudar a variação do pH (ver figura 1) durante o cultivo, este apresentou resultados bastante significativos, pois demonstra que a cepa foi capaz de iniciar a remoção do corante no final da fase exponencial, início da estacionária, com 24 horas de crescimento, onde provavelmente tenha ocorrido a liberação das amins, fazendo com que os valores de pH decrescessem sutilmente. Para Kolekar et al. (2008), a maioria dos corantes azo são reduzidos numa faixa de pH próximo a neutralidade, principalmente quando associada a temperatura mesofílica. Outro fato interessante a se observar, é a concentração estudada que irá influenciar diretamente os demais parâmetros.



**Figura 1: Perfil do pH do cultivo no período de remoção do Índigo carmim pela *Pseudomonas aeruginosa*.**

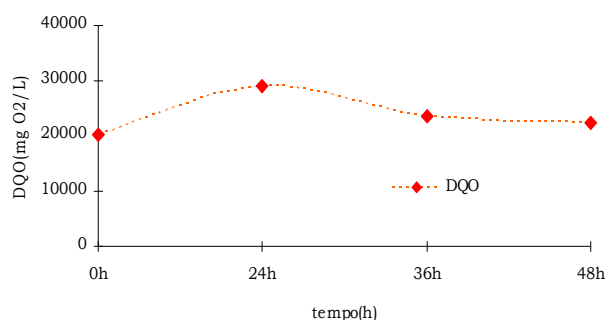
Quanto ao parâmetro Cor (verdadeira e aparente), figura 2, os resultados indicam que o comportamento da cepa estudada, influenciou na alteração da coloração da biomassa durante o cultivo. Segundo Lodatto e col. (2007), esta mudança na cor da biomassa, indica que ocorreu uma bioconversão do corante pelo microrganismo, sugerindo um processo de adsorção. Entretanto, o aumento da absorbância na faixa de comprimento de onda de 608 nm (considerada ótima para o corante Índigo carmim), indicando a formação de subprodutos, ainda coloridos, da degradação, que sejam revelados neste mesmo comprimento de onda. Portanto, não foi viável o emprego deste parâmetro na avaliação da eficiência da remoção de cor no presente estudo. A preocupação em se avaliar a Cor, dá-se que para alguns autores como (MAURYA et al. 2006; VIJAYARAGHAVAN e YUN. 2008), a cor é a poluição visível, que interfere diretamente na dinâmica dos corpos aquáticos, reduzindo a atividade fotossintética. A agitação das células contribui para que parte da energia seja oxidada via glicólise e ciclo TCA, gerando desta maneira nucleotídeos reduzidos. Quando os nucleotídeos são reoxidados via sistema de transporte de elétrons produzem alta energia, ou seja, ATP, proporcionando crescimento e manutenção celular (CHEN, 2002, apud EVANGELISTA-BARRETO, 2006). No entanto, o consumo do NADH na fosforilação oxidativa resulta em um efeito negativo na etapa de descoloração (ISIK & SPONZA, 2003, apud EVANGELISTA-BARRETO, 2006). O que seria uma possível explicação para o aumento na cor.



**Figura 2: Resultados de Cor<sub>(608nm)</sub> (verdadeira e aparente) na remoção do Índigo carmim pela *Pseudomonas aeruginosa***

Na figura 3 são mostrados os resultados da Demanda Química de Oxigênio (DQO) que foi realizada com o líquido metabólico livre de células, onde se avaliou a possível degradação do corante Índigo carmim pela ação da *P. aeruginosa*, num período de 48 horas de cultivo, sob condições aeróbias numa temperatura de 37°C. Os valores da DQO evidenciam a degradação do corante após o período de 24 horas de cultivo, que foi confirmado com os demais parâmetros (pH e Cor), que indicam que após o tempo de adaptação do

microrganismo (12h iniciais), a cepa passou a consumir o corante como fonte de energia, já que havia o glicerol no meio, que foi utilizado como fonte de carbono e possível doador de elétrons. O fato de algumas bactérias serem capazes de reduzir/remover os corantes azo, indica uma pré-adaptação às condições existentes. Entretanto, após o período de maior degradação (24 h), houve uma “aclimatação” ou ainda pode ter ocorrido uma produção de metabólitos tóxicos, onde a cepa conseguiu estabilizar o consumo de oxigênio para se manter viável, devido ao aumento no nível de toxicidade do corante. A toxicidade dos corantes azo e seus intermediários parece estar relacionada com a natureza do organismo degradador (CHEN, 2002, apud AMBRÓSIO, 2002). Embora *Pseudomonas luteola*, por exemplo, apresente habilidade de degradar corantes azo reativos, os metabólitos produzidos são tóxicos e ainda podem ser utilizados como fonte de energia, conforme testes de inibição da emissão da luz por esta bactéria bioluminescente, todos os corantes exibiram aumento na toxicidade após tratamento, exceto o preto direto (AMBRÓSIO, 2002). Para Guo e col. (2008), a fonte de carbono age diretamente na descoloração, principalmente quando se utiliza um meio inoculante considerado complexo, que foi o caso deste estudo, onde havia na composição extrato de levedura que propicia o aumento da descoloração em condições ambientais, como pH, como mostra a figura 1, e temperatura, que neste caso foi na faixa mesofílica.

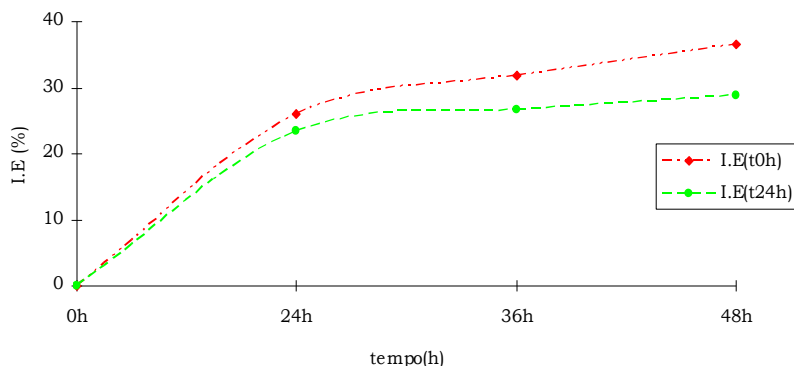


**Figura 3: Perfil de degradação do corante Índigo carmim pela *P.aeruginosa* através da concentração da DQO.**

#### **4.2. – Produção de biopolímeros**

Segundo Makkar e Cameotra (1998), alguns microrganismos produzem biossurfactantes durante o crescimento na presença de algumas fontes de carbono, fato observado neste experimento, onde os resultados quantitativos evidenciaram a produção dos biopolímeros em condições de mesofilia tendo o glicerol (resíduos o biodiesel) como fonte de carbono, fazendo com que a cepa *P.aeruginosa*, tivesse, no início da fase estacionária, uma boa produção de biossurfactante com estabilidade considerada excelente.

No teste quantitativo (FIGURA 4), os resultados do índice de emulsificação mostraram que a cepa em estudo teve condições de produzir o biopolímero em caldo Luria Bertani suplementado com glicerol, que pode ter influenciado diretamente na produção do biossurfactante. Este fato pode ser melhor visto nas amostras de 36 e 48 horas de crescimento, e que manteve-se estável mesmo após uma semana. Comprovando a importância de uma fonte de carbono, mesmo não sendo considerada de fácil assimilação pelo microrganismo, devido à via de degradação que implica o metabolismo do glicerol.



**Figura 4: Resultados do índice de emulsificação na remoção do corante Índigo carmim pela *Pseudomonas aeruginosa*.**

## 5. CONCLUSÕES

\*Os valores de DQO revelam que a *Pseudomonas aeruginosa* foi capaz de remover/degradar o corante Índigo carmim. E que embora o cultivo tenha sido suplementado com glicerol, o microrganismo conseguiu degradar o corante durante a fase estacionária, provavelmente o utilizou como fonte de energia;

\*\* O microrganismo conseguiu adaptar-se as condições adversas do corante e assim liberar suas enzimas para conseqüente degradação do corante após o período de adaptação (24h), propiciando uma boa produção de biomassa. Evidenciando que a toxicidade desse composto não foi capaz de inibir a produção de um bom conteúdo protéico;

\*\*\* A produção de biopolímeros pelo microrganismo estudado foi considerada satisfatória. Quantitativamente a maior produção de biosurfactante foi a partir de 24 horas de crescimento, o que equivale à fase estacionária, evidenciando a adaptação do microrganismo ao corante e conseqüentemente maior viabilidade da cepa.

## REFERÊNCIAS

AMBRÓSIO, S.T., 2002. **Remoção de corantes utilizados em indústria têxtil por *Cunninghamella elegans* UCP 542.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE. 2002.

COOPER, D. G.; GOLDENBERG, B. G. Surface-active agents from two *Bacillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 2, p. 224-229, 1987.

COOPER, D. G.; PADDOCK, D. A. Production of a biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. **Applied and Environmental Microbiology** 47,173-176.1984.

EVANGELISTA-BARRETO, N.S., 2006. **Descoloração do azo corante alaranjado II por *Geobacillus stearothermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *P. fluorescens* isolados e em cultura mista.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE. 2006.

FERREIRA, O. P. **Desenvolvimento de materiais porosos biodimensionais, à base de Al 3+ e M 2+ (Zn, Mg), para uso na remediação de efluentes de indústrias têxteis.** 132 p. Dissertação (Mestrado) – Laboratório de Química do Estado Sólido – LQES, Universidade Estadual de Campinas, 2001.

GUO, J.; ZHOU, J.; WANG, D.; TIAN, C.; WANG, P.; UDDIN, M.S. **Biodegradation**, v.19, p.15-19, 2008.

KOLEKAR, Y. M.; PAWAR, S. P.; GAWAI, K.R.; LOKHANDE, P.D.; SHOUCHÉ, Y.S.; KODAM, K.M. Decolorization and degradation of Disperse Blue 79 and degradation of Disperse Blue 79 and Acid Orange 10, by *Bacillus fusiformis* KMK5 isolated from the dye contaminated soil. **Bioresource Technology**, 2008.

KUNZ, A. **Remediação de efluente têxtil: combinação entre processo químico (Ozônio) e Biológico (*P. chrysosporium*).** 130 p. Tese de Doutorado – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 1999.

LODATO, A.; ALFIERI, F.; OLIVIERI, G.; DI DONATO, A.; MARZOCHELLA, A.; SALATINO, P. Azo-dye conversion by means of *Pseudomonas* sp. OX1. **Enzyme and Microbial Technology**, v.41, p.646-652, 2007.

MAKKAR, R. S; CAMEOTRA, S. S.. Production of biosurfactant at mesophilic and thermophilic conditions by strain of *Bacillus subtilis*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, vol.20, p. 48-52.1998.

MAURYA, N.S.; MITTAL, A.K.; CORNEL, P.; ROTHER, E. Biosorption of dyes using dead macro fungi: effect of dye structure, ionic strength and pH. **Bioresource Technology**, v.97, p.512-521, 2006.

MCMULLAN, G.; MEHAN, C.; CONNEELY, A.; KIRBY, N.; ROBINSON T.; NIGAM, P.; BANAT, I. M.; MARCHANT, R.; SMYTH, W. F. Microbial decolourisation and degradation of textile dyes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 1-2, p. 81-87, jul. 2001.

MOHANA, S.; SRIVASTAVA, S.; DIVECHA, J.; MADAMWAR, D. Response surface methodology for optimization of medium for decolorization of textile dye Direct Black 22 by a novel bacterial consortium. **Bioresource Technology**, 2007.

MOLEKAR, Y. M.; PAWAR, S.P.; GAWAI K.R.; LOKHANDE P.D.; SHOUCHÉ Y.S.; KODAM K.M. Decolorization and degradation of Disperse Blue 79 and Acid Orange 10, by *Bacillus fusiformis* KMK5 isolated from the textile dye contaminated soil. **Bioresource Technology**, 2008.

OLIVEIRA, J. R.; SOUZA, R. R., **Biodegradação de Efluentes Contendo Corantes Utilizados na Indústria Têxtil.** Universidade Federal de Sergipe – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia – Departamento de Engenharia Química. São Cristóvão, Sergipe, Brasil, 2004.

PARALES, R. E.; HADDOCK, J. D. Biocatalytic degradation of pollutants. **Current Opinion Biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 374-379, ago. 2004.



VANDEVIVERE, P.C.; BIANCHI, R.; VERSTRAETE, W. Review: Treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry: review of emerging technologies. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 72, n. 4, p. 289-302, Aug., 1998.

VIJAYARAGHAVAN,K.; YUN, Y.S. Biosorption of C.I. Reactive Black 5 from aqueous solution using acid-treated biomass of brown seaweed *Laminaria* sp. **Dyes and Pigments**, v.76, p. 726-732, 2008.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos à FUNCAP pela bolsa concedida.