VIVIAN SILVA LIRA

**AVALIAÇÃO DO USO DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* E
CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII NA REDUÇÃO DA
COLORAÇÃO E ECOTOXICIDADE DE CORANTES PUROS E EM
EFLUENTES TÊXTEIS**

Sorocaba
2022

VIVIAN SILVA LIRA

**AVALIAÇÃO DO USO DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* E
CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII NA REDUÇÃO DA
COLORAÇÃO E ECOTOXICIDADE DE CORANTES PUROS E EM
EFLUENTES TÊXTEIS**

Tese de doutorado apresentada como requisito para a obtenção do título de Doutora em Ciências Ambientais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" na Área de Concentração Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental

Orientadora: Prof. Dra. Renata Fracácio Francisco

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Tonello

Sorocaba

2022

L768a	<p>Lira, Vivian Silva</p> <p>Avaliação do uso de <i>Microcystis aeruginosa</i> e <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> na redução da coloração e ecotoxicidade de corantes puros e em efluentes têxteis / Vivian Silva Lira. -- Sorocaba, 2022</p> <p>61 p.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba</p> <p>Orientadora: Renata Fracácio Francisco</p> <p>Coorientador: Paulo Sérgio Tonello</p> <p>1. cianobactéria. 2. corantes. 3. efluente têxtil. 4. biorremediação. 5. Danio rerio. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Aplicação de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* na redução da coloração e ecotoxicidade de corantes e efluentes têxteis

AUTORA: VIVIAN SILVA LIRA

ORIENTADORA: RENATA FRACÁCIO FRANCISCO

COORIENTADOR: PAULO SERGIO TONELLO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Ambientais, área: Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
RENATA FRACACIO FRANCISCO
Data: 16/09/2022 14:20:09 -0300
Verifique em <https://verificador.dl.br>

Documento assinado digitalmente
MARIA DA GRAÇA GAMA MELÃO
Data: 16/09/2022 14:29:52 -0300
Verifique em <https://verificador.dl.br>

Prof^ª. Dr^ª. RENATA FRACÁCIO FRANCISCO (Participação Virtual)
Engenharia Ambiental / Instituto de Ciências e Tecnologia UNESP Campus de Sorocaba

Prof^ª. Dr^ª. MARIA DA GRAÇA GAMA MELÃO (Participação Virtual)
Departamento de Hidrobiologia / Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) - Câmpus São Carlos

Prof^ª. Dr^ª. VIVIANE MOSCHINI CARLOS (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Ambiental / Unesp Instituto de Ciência e Tecnologia de Sorocaba

Prof^ª. Dr^ª. SUZELI RODGHER (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Ambiental / Instituto de Ciência e Tecnologia do Campus de São José dos Campos/UNESP

Prof^ª. Dr^ª. ALINE FERNANDA CAMPAGNA FERNANDES (Participação Virtual)
Departamento de Biociências / Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Aline Fernanda
Campagna Fernandes

Assinado de forma digital por Aline
Fernanda Campagna Fernandes
Dados: 2022.10.05 14:20:48 -03'00'

Sorocaba, 16 de setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por conceder-me a oportunidade de engrandecimento científico;

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, campus Sorocaba, por todo suporte, espaço e infraestrutura cedidos;

À minha orientadora Renata Fracácio Francisco, pela dedicação, confiança, orientação e por todo o tempo que despendeu para que esse trabalho fosse concluído;

Ao Prof^o. Dr. Paulo Sérgio Tonello pelo apoio e coorientação, sempre interessado e disponível para me auxiliar;

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais por todo o conhecimento adquirido;

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (processo n^o 2018/05650-7).

Às técnicas do laboratório de solos e química, Susan Lessa e Letícia Gonçalves por serem sempre tão solícitas e atenciosas;

Aos companheiros de turma de pós-graduação, Sofia Coelho, Marcela Merides, Cláudia Watanabe, principalmente à Janete pela colaboração, amizade e companheirismo;

Às alunas de iniciação científica da Unesp Priscila e Jenifer, por todo auxílio nos testes e manutenção das culturas;

Pela colaboração da Dra. Mônica Lopes Ferreira, da técnica Aline a do pesquisador Leandro com os testes embrionários no Instituto Butantan;

À Dra. Ingritt Moreira e a Prof^a. Dra. Inessa Lacativa Bagatini pela parceria com as culturas de cianobactéria e realização de testes no Laboratório de Ecofisiologia Fitoplanctônica da UFSCar;

E aos meus pais, por estarem sempre interessados e dispostos a me ouvirem, procurando sempre me apoiar e motivar, muitíssimo obrigada!!!

Toda conquista começa com a decisão de tentar!

Gail Devers

RESUMO

A crescente escassez de fontes de água potável, bem como o cumprimento obrigatório de exigências legais para lançamento em corpos d'água ou rede coletora de esgotos, acabam demandando alternativas para o tratamento de efluentes. Entre os inúmeros setores que geram efluentes com potencial de toxicidade, o têxtil se destaca. As indústrias têxteis geram grande quantidade de efluentes com uma carga de corantes que são naturalmente de difícil degradação. Uma alternativa para remediação desses corantes é fundamental e, entre os possíveis tratamentos, a biorremediação é uma alternativa. Esta pesquisa teve por objetivo avaliar o potencial de biorremediação de corantes têxteis (tartrazina e índigo blue) e efluentes têxteis pelas cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*. A viabilidade da biorremediação foi avaliada através da toxicidade dos corantes e efeito da coloração sobre as cianobactérias, com contato direto e indireto. Analisou-se o crescimento celular por meio de contagem e a descoloração por meio de espectrofotometria. Também analisou-se a eficiência da biorremediação na descoloração de efluentes provenientes de uma fábrica de jeans e outra de tapetes pela duas espécie de cianobactérias. Os experimentos de biorremediação ocorreram durante 25 dias com amostras de efluentes brutos e também diluídos em 50%. Testes ecotoxicológicos foram realizados com larvas de *Danio rerio* (parâmetros sobrevivência e crescimento) antes e após a biorremediação. Os resultados demonstraram que a *Microcystis aeruginosa* cresceu significativamente em contato direto com o corante amarelo tartrazina, mas em contato indireto houve redução no crescimento com ambos corantes. Em contrapartida, a *Cylindrospermopsis raciborskii* não apresentou um crescimento satisfatório com a tartrazina e foi inibida pelo corante índigo blue. Observou-se redução da cor no efluente de tapetes em 43% na presença da *M. aeruginosa* e 34,6% na ausência dela, sem redução de toxicidade. Conclui-se, portanto, que *M. aeruginosa* tem potencial para crescer em elevadas concentrações de amarelo tartrazina (500 mg/L) e degradar esse corante. Os efluentes têxteis, devido à sua alta complexidade, não são facilmente degradados e apresentaram toxicidade para ambas as cepas. Tempos menores de biorremediação devem ser contemplados, com base nos dados de descoloração, onde o metabolismo deve ser estimulado, por manipulações do efluente, em favor da viabilidade celular exponencial.

Palavras-chave: cianobactéria, corantes, efluente têxtil, jeans, tapetes, biorremediação, *Danio rerio*.

ABSTRACT

The growing scarcity of drinking water sources, as well as the mandatory compliance with legal requirements, end up demanding alternatives for the treatment of effluents. Among the numerous sectors that generate effluents with the potential for toxicity, textiles stand out. The textile industries generate large amounts of effluents with a load of dyes that are naturally difficult to degrade. An alternative for the remediation of these dyes is essential and, among the possible treatments, bioremediation is an alternative. This research aimed to evaluate the bioremediation potential of textile dyes (tartrazine and indigo blue) and textile effluents by the cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrospermopsis raciborskii*. The viability was evaluated through the toxicity of the dyes and the effect of the stain on the cyanobacteria, with direct and indirect contact. Cell growth was analyzed by counting and discoloration by spectrophotometry. We also analyzed the efficiency of bioremediation in the discoloration of effluents from a jeans factory and a carpet factory by the two species of cyanobacteria. The bioremediation experiments took place with samples of raw effluents also diluted by 50%. Ecotoxicological tests were performed with *Danio rerio* larvae (survival and growth parameters) before and after bioremediation. The results showed that *Microcystis aeruginosa* grew significantly in direct contact with the yellow dye tartrazine, but in indirect contact, there was a reduction in growth with both dyes. On the other hand, *Cylindrospermopsis raciborskii* did not show satisfactory growth with tartrazine and was inhibited by the indigo blue dye. A reduction in color was observed in the effluent of carpets by 43% in the presence of cyanobacteria and 34.6% in the absence of them, with no reduction in toxicity. It is concluded, therefore, that *M. aeruginosa* has the potential to grow in high concentrations of tartrazine yellow (500 mg/L) and to degrade this dye. Textile effluents, due to their high complexity, are not easily degraded and are toxic to both strains. Shorter bioremediation times must be considered, based on the discoloration data, where metabolism must be stimulated, by manipulations of the effluent, in favor of exponential cell viability.

Keywords: cyanobacteria, dyes, textile effluent, jeans, carpets, bioremediation, *Danio rerio*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem da cianobactéria <i>M. aeruginosa</i> , destaque para o heterocito em a e o acineto em b	22
Figura 2. Imagem da cianobactéria <i>C. raciborskii</i> , destaque para o heterocito em a e o acineto em b	24
Figura 3. Imagem dos cultivos de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (esquerda) e <i>Microcystis aeruginosa</i> (direita).	29
Figura 4. Imagem dos ensaios com os padrões puros dos corantes através de contato direto e indireto (sobreposição). Frascos dipostos sobre uma caixa de luz com o corante amarelo tartrazina, índigo blue e grupos controles (transparentes).	30
Figura 5. Desenho experimental da avaliação do crescimento celular das culturas de cianobactérias aos padrões puros dos corantes de forma indireta.	31
Figura 6. Curvas de crescimento da <i>M. aeruginosa</i> expostas de forma direta e indireta aos corantes, construídas através das médias ao longo de 168h.	34
Figura 7. Curvas de crescimento da <i>C. raciborskii</i> expostas de forma direta e indireta aos corantes, construídas através das médias ao longo de 168h.	35
Figura 8. Imagens dos testes em andamento com os efluentes da Fábrica de calça jeans (acima) e da Fábrica de tapetes (abaixo).	41
Figura 9. Efluente bruto da fábrica de jeans (padrão de referência) ao centro, a direita o efluente somente aerado e a esquerda o efluente com <i>M. aeruginosa</i> após 25 dias de tratamento.	45
Figura 10. Efluente bruto da fábrica de tapetes (padrão de referência) ao centro, a esquerda o efluente somente aerado e a direita o efluente com <i>M. aeruginosa</i> após 25 de dias de tratamento.	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características de vários parâmetros de efluentes têxteis relatados na literatura, e resultados das análises de metais, nitrogênio total, nitrato, nitrito, DBO e DQO do efluente bruto avaliado.	20
Tabela 2. Resultados das análises de metais, nitrogênio total, nitrato e nitrito dos padrões puros dos corantes. (LQ – Limite de quantificação).	32
Tabela 3. Resultados das análises de metais, nitrogênio total, nitrato, nitrito, DBO e DQO dos efluentes brutos (LQ – Limite de quantificação).	43
Tabela 4. Sobrevivência das larvas de <i>Danio rerio</i> expostas por 168h aos efluentes após 25 dias de biorremediação com <i>Microcystis aeruginosa</i> (MIC) e aos efluentes somente aerados.	49

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
CAPÍTULO I	17
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
1.1 A INDÚSTRIA TÊXTIL E IMPLICAÇÕES AMBIENTAIS	17
1.2 EFLUENTES TÊXTEIS.....	18
1.3 CIANOBACTÉRIAS	21
1.3.1 Aspectos Gerais	21
1.4 <i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i>	22
1.5 <i>CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII</i>	22
1.6 APLICAÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS EM BIORREMEDIAÇÕES	24
<i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i> E <i>CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII</i> : ALTERNATIVAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS	26
CAPÍTULO II.....	27
<i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i> E <i>CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII</i>: ALTERNATIVAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS?	27
1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAIS E MÉTODOS	28
2.1 CULTIVO DAS CIANOBACTÉRIAS	28
2.2 ANÁLISE DO CRESCIMENTO CELULAR DAS CIANOBACTÉRIAS EXPOSTAS AOS PADRÕES PUROS DOS CORANTES	29
2.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA COLORAÇÃO DOS CORANTES NO CRESCIMENTO CELULAR	30
2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS PADRÕES PUROS DOS CORANTES	31
2.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS PADRÕES PUROS DE CORANTES	32
3.2 ANÁLISE DO CRESCIMENTO CELULAR DAS CIANOBACTÉRIAS EXPOSTAS AOS PADRÕES PUROS DOS CORANTES	33
4. CONCLUSÃO.....	35
VIABILIDADE NA REDUÇÃO DA COLORAÇÃO DE DIFERENTES EFLUENTES TÊXTEIS POR <i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i>	36
CAPÍTULO III	37

VIABILIDADE NA REDUÇÃO DA COLORAÇÃO DE DIFERENTES EFLUENTES TÊXTEIS POR <i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i>	37
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAIS E MÉTODOS	39
2.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS EFLUENTES TÊXTEIS BRUTOS.....	39
2.2 CULTIVO DAS CIANOBACTÉRIAS	40
2.3 BIORREMEDIAÇÃO	40
2.4 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS ANTES E APÓS A BIORREMEDIAÇÃO	41
2.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO	42
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EFLUENTES BRUTOS	42
3.2 BIORREMEDIAÇÃO DOS EFLUENTES TÊXTEIS	44
3.3 TESTES ECOTOXICOLÓGICOS ANTES E APÓS A BIORREMEDIAÇÃO.....	47
4. CONCLUSÃO	49
CONCLUSÃO FINAL E RECOMENDAÇÕES FUTURAS	51
REFERÊNCIAS	53

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

A crescente escassez de fontes de água acaba por demandar alternativas para o tratamento de efluentes. Entre os inúmeros setores geradores de efluentes com potencial de toxicidade tem-se o têxtil. Existem três tipos diferentes de fibras usadas na fabricação de vários produtos têxteis: fibras de celulose, protéicas e sintéticas. Cada tipo de fibra é tingido com diferentes tipos de corantes. As fibras de celulose são tingidas com corantes reativos, corantes diretos, corantes naftol e corantes índigo. As fibras protéicas são tingidas com corantes ácidos e corantes lanaset. As fibras sintéticas são tingidas com corantes dispersos, corantes básicos e corantes diretos (Ghaly et al., 2014).

Os efluentes originados durante os processos fabris incluem principalmente corantes e, em menor grau, várias substâncias como aditivos químicos, sais, detergentes, auxiliares (por exemplo surfactantes e agentes dispersantes), soda cáustica e ácidos (Tomei et al. 2016).

Esses corantes e produtos químicos, além de sua aparência inaceitável e efeito tóxico após a decomposição, podem contaminar o solo, os sedimentos e as águas superficiais nas proximidades, tornando-se um grande desafio à poluição ambiental global (Yaseen e Scholz, 2019).

Além dos problemas relacionados à liberação de substâncias tóxicas ou à descarga de compostos que podem ser convertidos em metabólitos que são mais prejudiciais ao meio ambiente, os efluentes apresentam forte coloração. Tornando-se uma fonte de poluição visual, que também oferece sérios riscos ambientais; principalmente devido à interferência nos processos fotossintéticos naturais que causa perdas incalculáveis em médio e longo prazo para toda a biota aquática (Ventura-Camargo e Marin-Morales, 2013). Sabe-se que efluentes têxteis podem causar efeitos tóxicos agudos, crônicos e genotóxicos para a espécie de peixe *Danio rerio* (Zhang et al., 2012; Oliveira et al., 2016).

Segundo Tomei et al. (2016) as melhores tecnologias disponíveis para uma abordagem sustentável e eficiente no controle da poluição do setor têxtil estão focadas no ciclo de produção, sendo o alvo principal a redução das emissões de águas residuais. Com relação à coloração dos efluentes, uma fixação de cores mais eficiente reduziria a carga de poluição, porém deve ser necessariamente combinada a uma remoção eficiente, pois a emissão de cor zero não é possível, mesmo com as melhores tecnologias de fixação atualmente disponíveis.

Assim sendo, o tratamento de efluentes têxteis é necessário para proteger o ecossistema e permitir a subsequente reciclagem do efluente tratado para fins de irrigação ou reutilização nos processos da fábrica têxtil (Yaseen e Scholz, 2019).

Investigando a biodiversidade de cianobactérias em quatro efluentes, oriundos de uma usina de açúcar, uma fábrica de papel, uma indústria de corantes e outra farmacêutica, Vijayakumar et al. (2007) registraram a presença 26 espécies em comum a todos os efluentes analisados, entre elas a espécie *Microcystis aeruginosa*.

Diante do exposto, neste estudo pretendeu-se verificar o potencial de biorremediação de corantes e efluentes têxteis distintos, utilizando espécies de cianobactérias não citadas na literatura para essa finalidade, e cuja presença em reservatórios é mundialmente recorrente. Assim sendo, o presente trabalho dividiu-se da seguinte maneira:

- 1) Primeiro capítulo: abordou uma revisão bibliográfica voltada para a problemática do setor têxtil e artigos relacionados a biorremediação com cianobactérias;
- 2) Segundo capítulo: avaliou os aspectos da toxicidade de padrões puros de corantes sobre *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, além do impacto da coloração dos corantes sobre o crescimento celular;
- 3) Terceiro capítulo: analisou-se a potencial utilização da espécie *Microcystis aeruginosa* na descoloração de efluentes têxteis, além da ecotoxicidade dos efluentes pós-tratamento sobre larvas do peixe *Danio rerio*;
- 4) Conclusão final e recomendações futuras.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO I

1. Revisão bibliográfica

1.1 A indústria têxtil e implicações ambientais

O Brasil é a maior cadeia têxtil completa do Ocidente, produzindo desde fibras, através das plantações de algodão, até os desfiles de moda, envolvendo também fiações, tecelagens, beneficiadoras e confecções (ABIT, 2022). A indústria têxtil é o segundo maior empregador da indústria de transformação, gerando 1,36 milhões de empregados diretos e cerca de 8 milhões de indiretos, dos quais 60% são de mão de obra feminina; no ano de 2020 a Cadeia Têxtil e de Confecção gerou um faturamento R\$161 bilhões (ABIT, 2022).

Os maiores polos têxteis brasileiros são o de Americana, composto pelos municípios de Americana, Nova Odessa, Santa Bárbara do Oeste e Sumaré, seguido pelo Vale do Itajaí, destacando-se os municípios de Blumenau e Brusque (IEMI, 2021).

Os efluentes gerados e descartados nos rios pelas indústrias do setor têxtil implicam em diversos impactos ambientais. A indústria têxtil utiliza grandes volumes de água e diversos tipos de substâncias (como corantes, soda cáustica, detergentes, hipoclorito de sódio, formaldeído, entre outros), gerando um conjunto de substâncias potencialmente tóxicas e conseqüentemente efluentes recalcitrantes com alta demanda química de oxigênio (Swami et al., 2012).

As indústrias brasileiras devem atender a determinadas condições e padrões de qualidade ambiental para realizarem o lançamento de seus efluentes em quaisquer corpos hídricos ou mesmos na rede de captação de esgotos, os quais estão descritos nas Resoluções CONAMA nº 357 (CONAMA, 2005) e nº 430/2011 (CONAMA, 2011).

Com base na Resolução CONAMA nº 357 (CONAMA, 2005), em corpos de água doce, Classes 2 e 3, de acordo com uma escala platina-cobalto para avaliação de cor, o valor tolerável de cor real ou verdadeira é de até 75 mg Pt/L. No entanto, essa escala acaba por não ser adequada e aplicável na avaliação da coloração dos efluentes têxteis gerados. Fato que permite que as indústrias ao alcançarem os padrões legalmente permitidos possam liberar seus efluentes ainda coloridos.

Ainda que as Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) sejam responsáveis pela coleta e tratamento de vários desses efluentes industriais, as mesmas em sua grande maioria

utilizam tratamentos biológicos por si só pouco eficientes na remoção completa dos corantes. Desta maneira, os efluentes finais das ETEs acabam sendo lançados diretamente nos corpos d'água, muitas vezes ainda coloridos. Os rios mais afetados por estes tipos de efluentes no polo têxtil de Americana são o Ribeirão Quilombo e o Rio Piracicaba e, no vale do Itajaí, os rios Itajaí-Açú e Itajaí-Mirim.

1.2 Efluentes têxteis

Os efluentes têxteis quando não tratados adequadamente e lançados em corpos d'água, podem causar modificações no ecossistema como a diminuição da transparência da água e penetração da radiação solar, o que pode alterar a atividade fotossintética, o comportamento predatório e forrageio, e o regime de solubilidade dos gases além de introduzir no sistema uma carga de compostos orgânicos que podem interagir com a biota desencadeando efeitos agudos ou crônico, comprometendo a estrutura e função do ambiente aquático.

Segundo Orzechowski et al. (2018) os efluentes têxteis normalmente possuem forte coloração, devido aos corantes que não se aderem totalmente às fibras naturais ou sintéticas, o quais quando presentes nos rios absorvem a luz solar reduzindo sua disponibilidade para os sistemas de fotossíntese, acarretando na privação de oxigênio e, consequentemente, comprometimento da cadeia alimentar (Holkar et al., 2016).

De acordo com a *Ecological and Toxicological Association of the Dyestuffs Manufacturing Industry* (ETAD), após testes com cerca de 4.000 corantes, detectou-se altos valores de toxicidade em mais de 90%, destacando-se entre os mais tóxicos os corantes diazo, básicos e diretos (Robinson et al., 2001).

Além dos corantes, os efluentes têxteis também apresentam uma composição extremamente heterogênea (Tabela 1), coloração forte, muito material particulado suspensos, pH e concentrações de demanda química de oxigênio (DQO) muito variáveis e flutuantes, além de grande quantidade de sódio, potássio e outros metais, de acordo com a Tabela 1.

Os tratamentos convencionais de efluentes industriais compostos por tantos materiais tóxico e recalcitrante, têm muitas deficiências, pois muitos poluentes podem passar por esses sistemas sem serem degradados de forma satisfatória. Em alguns casos, essas substâncias recalcitrantes também são adsorvidas na superfície do lodo primário e

secundário, causando mais problemas de acúmulo. Além de sua eficácia limitada, esses procedimentos são caros e produzem grandes quantidades de resíduos que precisam de tratamentos subsequentes (Holkar et al., 2016; Sözen et al., 2020).

Mais de 100.000 tipos de corantes, incluindo corantes azo e pigmentos diferentes, são amplamente utilizados em várias etapas de processamento nas indústrias têxteis, portanto, a poluição gerada pelos materiais corantes é inevitável (David Noel e Rajan, 2014). Assim como efluentes com grande diversidade de composições, isso dificulta uma padronização dos mesmos, como se pode observar na Tabela 1.

Portanto, é crescente o interesse em estudar métodos alternativos que reduzam a toxicidade dos corantes e permitam o reaproveitamento da água na própria indústria têxtil. Nesse sentido, o desenvolvimento de tecnologias ambientalmente mais limpas e de baixo custo utilizando microrganismos são considerados uma opção atrativa para a descontaminação dessas águas residuárias (Mansour et al., 2016).

Tabela 1. Características de vários parâmetros de efluentes têxteis relatados na literatura, e resultados de análises de metais, nitrogênio total, nitrato, nitrito, DBO e DQO do efluente bruto avaliado.

Parâmetros (mg/L)	LQ	Presente pesquisa	Eswaramoorthi et al. (2008)	Joshi e Santani (2012)	Kamal et al. (2016)	Priya e Selvan (2017)
Alumínio	0,01	0,150	-	-	-	-
Antimônio	0,005	0,263	-	-	-	-
Arsênio	0,01	0,0192	<10	-	-	-
Bário	0,01	0,0479	-	-	-	-
Berílio	0,01	<0,01	-	-	-	-
Bismuto	0,01	<0,01	-	-	-	-
Boro	0,01	0,0112	<10	-	-	-
Cádmio	0,001	< 0,001	-	0,02-0,74	< 0,001	0,07-2
Cálcio	0,5	13,6	-	-	9,33-9,09	-
Chumbo	0,01	<0,01	-	0,16-0,35	< 0,001	-
Cobalto	0,01	<0,01	-	-	-	-
Cobre	0,005	0,0474	<10	0,17-9,26	0,012-0,02	2-6
Molibdênio	0,01	<0,01	-	-	-	-
Níquel	0,01	<0,01	<10	0,06-1,16	0,006-0,009	0,5-3
Potássio	0,5	8,39	-	40,5-113,64	-	30-50
Prata	0,01	<0,01	-	-	-	-
Selênio	0,008	<0,008	-	-	-	-
Silício	0,5	13,8	-	-	-	-
Sódio	0,5	30,9	700	86,32-259,06	4807-4390,3	400-600
Tálio	0,01	<0,01	-	-	-	-
Titânio	0,01	<0,01	-	-	-	-
Urânio	0,01	<0,01	-	-	-	-
Vanádio	0,01	<0,01	<10	-	-	-
Zinco	0,01	0,183	<10	0,48-7,32	0,091-0,141	3-6
Nitrogênio Total	1	2,27	10-30	-	-	-
Nitrato-N	5	<5	<5	-	-	-
Nitrito-N	0,2	<0,2	-	-	-	-
pH	-	6,15	6-10	9,17-12,7	9,3-10,5	5,5-10,5
DBO	90	488	300-500	71,8-852,6	138-181	150-350
DQO	100	1240	1000-1500	449,5-2078,6	448-578	350-700

LQ – Limite de quantificação, - não consta

1.3 Cianobactérias

1.3.1 Aspectos Gerais

As cianobactérias são consideradas um dos organismos vivos mais antigos do planeta Terra, existentes há mais de 2,8 bilhões de anos (Knoll, 1999). São seres procariontes fotossintéticos antigos, abundantes e amplamente diversos, que são vistas como promissoras fábricas de células para produção de produtos químicos (Cassier-Chauvat et al., 2017).

São os únicos seres procariontes que realizam fotossíntese oxigenada, característica a qual as diferencia de outras bactérias fotossintetizantes, sendo consideradas o mais antigo filo de bactérias Gram-negativas que moldaram a atmosfera do nosso planeta, podendo ainda apresentar crescimento heterotrófico facultativo (Flores e Wolk, 1985; Hamilton et al. 2016).

A presença de vacúolos gasosos permite que as cianobactérias ajustem sua posição vertical na água coluna, flutuando em direção a fontes de luz ou afundando para acessar concentrações mais altas de nutrientes ou evitar foto-oxidação (Walsby e Booker, 1980; Klemer et al., 1996; Padisák, 1997).

Ao colonizar a maioria das águas (doces, salobras e marinhas) e solos do nosso planeta, onde enfrentam desafios e competição (ou simbioses) com outros organismos biológicos, as cianobactérias se desenvolveram como organismos amplamente diversos (Cassier-Chauvat et al., 2017).

As cianobactérias habitam uma vasta gama de ambientes tanto aquáticos, quanto terrestres, estando também presente em ambientes ecológicos extremos, como os de regiões polares frias, desertos, salinas e fontes termais em todo o mundo (Mouné et al., 2003; Papke et al., 2003; Seckbach, 2007; Zakhia et al., 2008; Ionescu et al., 2010).

Conhecidos por ocuparem nichos não acessíveis por outros microrganismos, também sobrevivem à exposição a altas luzes ultravioletas, dessecação, intensas temperaturas, pH extremo e alta salinidade (Carr e Whitton, 1973).

Segundo Knauth (2005) os mecanismos atuais de tolerância das cianobactérias provavelmente foram herdados das cianobactérias ancestrais, as quais desenvolveram mecanismos de tolerância às mudanças drásticas na temperatura, salinidade, disponibilidade de íons e o surgimento de uma atmosfera oxigenada.

1.4 *Microcystis aeruginosa*

Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing 1846 é uma cianobactéria colonial pertencente à ordem Chroococcales (Figura 1). São colônias flutuantes, usualmente microscópicas, irregulares no contorno, com lobos e crateras distintos. As colônias apresentam uma fina camada de mucilagem, alta densidade de células, com diâmetro da célula variando de 4-6 µm, as quais são irregularmente aglomeradas e mais ou menos densas (Komárek et al., 2002).

Segundo Komárek et al. (2002) trata-se da mais importante cianobactéria presente nos ecossistemas aquáticos.

O tamanho da colônia permite uma grande vantagem competitiva, tais como: a redução da predação pelo zooplâncton (Lampert, 1981), proteção contra foto-oxidação, contaminantes químicos e potenciais algicidas (Wu et al., 2011; Wang et al., 2013; Li et al., 2015).

Figura 1. Imagem da cianobactéria *M. aeruginosa*.

Fonte: USGS, 2022.

1.5 *Cylindrospermopsis raciborskii*

Cylindrospermopsis raciborskii (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju 1972, são cianobactérias de tricomas solitários, retos ou ligeiramente curvos; células cilíndricas, 2 a 3 µm de diâmetro, 7 a 11 µm de comprimento, com aerótopos, que permitem o posicionamento

na coluna d'água; célula apical acuminada; heterocitos cônicos, terminais, o quais possibilitam a formação de células de resistência em condições ambientais não ideais; acinetos cilíndricos, Figura 2 (Padisák, 1997; Sant'Anna et al., 2007).

A literatura relata a constante distribuição mundial e predominância da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* sobre outros grupos fitoplanctônicos (Dörr et al., 2010; Rastogi et al., 2014; Mowe et al., 2015).

Padisák (1997) afirma que o sucesso ecológico de *C. raciborskii* está diretamente relacionado a sua capacidade de migração na coluna d'água, capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, tolerância à baixa luminosidade, habilidade em utilizar fontes internas de fósforo, alta afinidade com fósforo e amônio, resistência à herbivoria pelo zooplâncton, alta capacidade de dispersão, em virtude dos acinetos resistentes e sobrevivência em condições levemente salinas.

De acordo com Antunes et al. (2015) cepas de *C. raciborskii* de diferentes partes do mundo exibem ampla tolerância a variações de temperatura (Kokociński et al., 2010; Everson et al., 2011), e são capazes de sustentar biomassa em temperaturas tão baixas quanto 11°C (Bonilla et al., 2012). Ainda segundo o mesmo autor, dados de modelagem matemática demonstraram que as florações de *C. raciborskii* são prováveis de ocorrer entre as temperaturas de 25 a 32°C (Recknagel et al., 2014), com temperaturas mais altas sendo favoráveis à formação de florações.

Ao contrário da maioria das cianobactérias esta espécie tem tolerância à sombra e se beneficia de baixas intensidades de luz, formando até florações persistentes (Padisák, 1997; Briand et al., 2002). Essa espécie apresenta grande adaptação fisiológica a uma ampla gama de intensidades de luz. Estudos demonstram que, células de *C. raciborskii* adaptadas a altos valores de irradiância foram mais produtivas nessas condições, enquanto células aclimatadas ao escuro foram mais produtivas em irradiância moderada (O'Brien et al., 2009; Antunes et al., 2015), apresentando atividades fotossintéticas significativamente maiores do que as de outras espécies de cianobactérias, como *Microcystis* e *Aphanizomenon* (Wu et al., 2009).

Figura 2. Imagem da cianobactéria *C. raciborskii*, com destaque para o heterocito em **a** e o acineto em **b**.

Fonte: Aragão-Tavares, 2013.

1.6 Aplicação de cianobactérias em biorremediações

As cianobactérias têm apresentado uma ampla capacidade metabolizadora, tanto de produtos naturais quanto de xenobióticos (Cohen, 2002; Dubey et al., 2011). São descritos na literatura alguns estudos utilizando as cianobactérias na biotransformação de pesticidas (El-Bestawy et al., 2007), como o inseticida endossulfan (Kumar et al., 2008). Mansy e El-Bestawy (2002) constataram a biotransformação da Fluometurona, com redução de mais de 85% na concentração, por *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena cylindrica*, *Anabaeanaflos-aquae* e *Anabaena spiroides*. Essa classe de organismos possuem um papel importante para a redução de poluentes orgânicos no ambiente, seja por mecanismos de bioacumulação, bioconcentração ou por biodegradação.

De acordo com a literatura há diversos estudos avaliando a degradação de corantes por outras espécies cianobactérias (Jinqi e Houtian, 1992; Kalavathi et al., 2001; Shah et al., 2001; Queiroz e Stefanelli, 2011; Vyayakumar e Manoharau, 2012; Henciya et al., 2013; Jaysudha e Sampathkumar, 2014; Dellamatrice et al., 2017).

Dellamatrice et al. (2017) observaram a descoloração e desintoxicação de efluentes têxteis induzidas por três cepas de cianobactérias, concluindo que as mesmas foram capazes de reduzir a carga poluente do efluente em até 28%. Shah et al. (2001) notaram que a cianobactéria *Phormidium valderianum* foi capaz de alcançar 90% de eficiência na

descoloração dos corantes Acid Red, Acid Red 119 e Direct Black 155, obtendo melhor atuação em pH alcalino 11, característica comum em efluentes têxteis.

Dellamatrice et al.(2017) observaram que a biodegradação do corante índigo por *Phormidium valderianum* ocorreu após 19 dias de incubação, não havendo mais cor no efluente e a formação de biofilme nas paredes do reator. Vyayakumar e Manoharau (2012) observaram não somente a descoloração, mas também a redução da concentração de nitritos, fosfatos, amônia, cálcio e magnésio.

No entanto, apesar da utilização de cianobactérias ser viável e eficiente, sabe-se que são potencialmente produtoras de cianotoxinas. Existem diversos tipos de toxinas: como as microcistinas (LR, RR, YR, LA, 7dmLR,WR, LF, LY e LW), as saxitoxinas, neosaxitoxinas, gonyautoxinas (GTX1-4), cilindrospermopsina e outros análogos (Dörr et al., 2010; Ferrão-Filho e Kozlowsky-Suzuki, 2011; Carneiro et al., 2013, Moreira et al., 2014; Zastepa et al., 2015).

CAPÍTULO II

MICROCYSTIS AERUGINOSA E CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII: ALTERNATIVAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS?

CAPÍTULO II

***Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*: alternativas na biorremediação de corantes têxteis?**

1. Introdução

Estima-se que o setor têxtil libera no ambiente aquático aproximadamente 15-50% da carga total de corantes utilizados durante o processamento têxtil (Nojavan et al., 2013). Segundo David Noel e Rajan (2014) os corantes sintéticos são amplamente utilizados no tingimento têxtil, e os comumente usados são azodatos (orange3R), antraquinona (blue3R) e índigos. As indústrias têxteis consomem grandes volumes de água, consequentemente gerando imensas quantidades de efluentes.

Estes efluentes quando não tratados adequadamente podem interagir com a biota desencadeando efeitos tóxicos, comprometendo a estrutura e função do ambiente aquático (Kaur e Kaur, 2015; Jong et al., 2016; Abe et al., 2017). Pesquisas com a espécie de peixe *Danio rerio* evidenciam que efluentes têxteis podem causar efeitos agudos e genotóxicos (Zhang et al., 2012), assim como os corantes amplamente usados na produção de cosméticos e tingimento de tecidos que tem potencial neurotóxico sobre a espécie (Oliveira et al. 2016; Abe et al., 2017; Meireles et al., 2018).

Ainda, de acordo com a literatura, a concentração de corantes como o índigo blue encontrado usualmente em efluentes têxteis varia de 300 a 740 mg/L (Conceição et al., 2013; Couto et al., 2018). Segundo Beach et al. (2011) a concentração aproximada do corante amarelo tartrazina, encontrada em banhos de tingimento de tecidos, fica em torno de 16.509 mg/L. Mas após o processos fabris essa concentração é reduzida, e são gerados efluentes com cerca de 500 mg/L (informação obtida por comunicação pessoal com a empresa Dynatech®).

Tendo em vista a importância dos recursos hídricos tanto para o abastecimento humano quanto para a manutenção da biota aquática tal fato merece atenção e melhor compreensão dos seus efeitos sobre os organismos vivos além de formas de remediação ou possíveis aplicações.

A utilização de cianobactérias na degradação ou acumulação de compostos xenobióticos tem sido frequentemente relatada, por exemplo, na remoção de metais potencialmente tóxicos (Cd, Mn, Cr e Ni.), inseticidas, herbicidas (Asthana et al., 1995; Khattar et al., 1999; Matsunaga et al., 1999; Mohamed, 2001; Cáceres et al., 2008; Forlani et al., 2008) e corantes (Jinqi e Houtian, 1992; Kalavathi et al., 2001; Shah et al., 2001; Queiroz e Stefanelli, 2011; Vijayakumar e Manoharan, 2012; Henciya et al., 2013; Dellamatrice et al., 2017).

No Brasil os gêneros mais frequentes são *Cylindrospermopsis* e *Microcystis* (Sant'Anna et al., 2007; Ferrão-Filho et al., 2009; Soares et al., 2013; Bittencourt-Oliveira et al., 2014). Nessa mesma vertente, Mowe et al (2015), observaram a prevalência do gênero *Microcystis* em toda a Ásia tropical, África e América Central, e do gênero *Cylindrospermopsis* na Austrália tropical, América e África.

Neste contexto, a utilização de cianobactérias na biorremediação tende a ser uma alternativa interessante, pois sendo um processo natural há menor necessidade de utilização de substâncias químicas ou de processos que demandam algum custo energético, além de permitir o emprego de uma classe de organismos que normalmente tendem a ser uma problemática mundial.

Face ao exposto, este trabalho pretende verificar se a utilização das cianobactérias cosmopolitas *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* na biorremediação de corantes é viável.

2. Materiais e métodos

2.1 Cultivo das cianobactérias

As duas espécies de cianobactérias *Microcystis aeruginosa* (Kützing) e *Cylindrospermopsis raciborskii* foram isoladas do reservatório de Barra Bonita (Barra Bonita - São Paulo) e mantidas em culturas axênicas na coleção de culturas de microalgas de água doce do Laboratório de Ficologia, Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos (WDCM: UFSCar CC 835). Para realização dos testes as cepas foram cultivadas em meio WC (Guillard e Lorenzen, 1972), pH 7, em frascos de 500 mL seguindo-se as recomendações de ABNT NBR 12648 (2011), conforme Figura 3. O crescimento celular foi analisado por contagem em câmaras de Neubauer.

Figura 3. Imagem dos cultivos de *Cylindrospermopsis raciborskii* (esquerda) e *Microcystis aeruginosa* (direita).

Fonte: Acervo pessoal.

2.2 Análise do crescimento celular das cianobactérias expostas aos padrões puros dos corantes em contato direto

Para a análise do crescimento celular da cianobactéria em contato direto com os corantes puros foram realizados ensaios utilizando-se soluções de 500 mg/L do corante têxtil sintético índigo blue pureza 95% (Sigma Aldrich®) e do azo corante têxtil tartrazina (padrão puro 100% - cedido pela empresa Dynatech®) que foram mantidos em frascos de cultura celular de 40 mL. Em virtude da insolubilidade do corante índigo blue uma solução estoque do corante foi preparada; em um frasco de vidro de 1000 mL, no qual foram adicionados 0,575 mg do corante, 1,5 mg de ditionito de sódio e 500 mL de meio WC pH 9 (ajustado com solução de Hidróxido de Sódio 0,1 N). O frasco foi autoclavado a 121°C por 15 min, adaptando-se as metodologias de Manu e Chauhari (2003) e Meksi et al. (2012) para que o corante fosse reduzido a sua forma leucoíndigo (solúvel) em solução básica.

Cada tratamento foi feito em triplicata com três repetições sendo: controle (apenas 40 mL de meio WC + inóculo), corante índigo blue e corante tartrazina. Inoculou-se separadamente em cada frasco, em câmara de fluxo laminar, a concentração inicial de 3×10^3 cél/mL de cada cultura, sendo os frascos mantidos na temperatura de 23 ± 1 °C, com iluminação constante de aproximadamente 10^8 μ mol fótons (Quantameter QSL-100,

Biospherical Instruments) sobre uma caixa de luz por 7 dias (Figura 4). A cada 24h agitou-se cada frasco e inverteram-se as posições. Amostras para contagem foram retiradas nos seguintes intervalos de tempo: 24, 72, 120 e 168 horas.

Figura 4. Imagem dos ensaios com os padrões puros dos corantes por meio de contato direto e indireto (sobreposição). Frascos dispostos sobre uma caixa de luz com o corante amarelo tartrazina, índigo blue e grupos controles (transparentes).

Fonte: Acervo pessoal.

2.3 Avaliação da influência da coloração dos corantes no crescimento celular em contato indireto

A fim de avaliar a influência da coloração dos efluentes têxteis no processo de fotossíntese e consequente crescimento celular, foram também realizados ensaios sem o contato direto com os corantes. Para isso, em frascos para cultivo de células de 40 mL, foram adicionados separadamente os corantes previamente dissolvidos na concentração de 500 mg/L. Estes frascos foram sobrepostos por outros frascos contendo meio WC e o inóculo de cada cianobactéria, conforme Figura 5. Seguiram-se os mesmos procedimentos descritos no item 2.2.

Figura 5. Desenho experimental da avaliação do crescimento celular das culturas de cianobactérias aos padrões puros dos corantes de forma indireta (contato indireto).

Fonte: Autoria Própria

2.4 Caracterização dos padrões puros dos corantes

A determinação de metais se deu por espectrometria de emissão de plasma: método de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) segundo método 3120B (APHA, 2012). As amostras foram preparadas de acordo com a EPA US 3010A (1992).

Seguindo as recomendações de Standard Methods for the examination of water and wastewater (APHA, 2012) foram determinados a DBO através do método 5210 B, DQO de acordo com o método 5220 D, e as concentrações de Nitrogênio total por meio do método 4500 A, nitrato conforme método 4110 B e nitrito pelo método 4500 B.

2.5 Tratamento estatístico

Após os testes de biorremediação e toxicidade, os resultados foram analisados estatisticamente através do teste de Mann-Whitney para comparar as diferenças nas médias das curvas de crescimento das cianobactérias, ambos usando o software Toxstat 3.5 (WEST e GULLEY, 1995).

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização química dos padrões puros de corantes

Na concentração de 500 mg/L do padrão puro de Tartrazina observou-se grande quantidade de sódio e nitrogênio, além de potássio e fósforo (Tabela 2). Por se tratar de um azocorante a maior concentração de nitrogênio já era esperada. Com relação ao padrão puro de Índigo a concentração de 100 mg/L, maior concentração a qual permitiu a realização dos métodos de quantificação colorimétricos, o nitrogênio, sódio e potássio, respectivamente, destacaram-se.

Tabela 2. Resultados das análises de metais, nitrogênio total, nitrato e nitrito dos padrões puros dos corantes. (LQ – Limite de quantificação).

Parâmetros (mg/L)	LQ	500 mg/L de Tartrazina	100 mg/L de Índigo
Alumínio	0,01	0,0160	0,0210
Antimônio	0,005	< 0,005	< 0,005
Arsênio	0,01	<0,01	<0,01
Bário	0,01	<0,01	<0,01
Berílio	0,01	<0,01	<0,01
Bismuto	0,01	<0,01	<0,01
Boro	0,01	<0,01	<0,01
Cádmio	0,001	<0,001	<0,001
Cálcio	0,5	<0,5	<0,5
Chumbo	0,01	<0,01	<0,01
Cobalto	0,01	<0,01	<0,01
Cobre	0,005	<0,005	<0,005
Cromo	0,01	<0,01	<0,01
Estanho	0,01	<0,01	<0,01
Estrôncio	0,01	0,0134	<0,01
Ferro	0,01	0,0710	0,0310
Fósforo	0,01	0,460	<0,01
Lítio	0,01	<0,01	<0,01
Magnésio	0,5	<0,5	<0,5
Manganês	0,01	<0,01	<0,01
Molibdênio	0,01	<0,01	<0,01
Níquel	0,01	< 0,01	< 0,01
Potássio	0,5	1,22	0,982

Continua ...

Prata	0,01	<0,01	<0,01
Selênio	0,008	<0,008	<0,008
Sódio	0,5	63,6	1,30
Tálio	0,01	<0,01	<0,01
Titânio	0,01	<0,01	<0,01
Urânio	0,01	<0,01	<0,01
Vanádio	0,01	<0,01	<0,01
Zinco	0,01	<0,01	<0,01
Nitrogênio Total	1	24,8	2,61
Nitrato (como N)	0,1 - 50	<50	<0,1
Nitrito (como N)	0,02 - 10	<10	<0,002

3.2 Análise do crescimento celular das cianobactérias expostas aos padrões puros dos corantes

Após 120h de crescimento, com o padrão puro da tartrazina observou-se $14,9 \times 10^4 \pm 190$ cél.mL⁻¹ em contato direto, uma maior quantidade de células quando comparado ao grupo controle com $12,2 \times 10^4 \pm 93$ cél.mL⁻¹. Mas em contato indireto com o corante houve menor crescimento, $7,78 \times 10^4 \pm 2410$ cél.mL⁻¹ com diferença significativa em relação ao mesmo grupo controle ($p \leq 0,05$; Figura 6). Tal resultado leva a crer que a acentuada cor do corante tartrazina inibiu o crescimento celular, porém em contato direto ocorreu o inverso provavelmente devido a acentuada presença de nitrogênio (24,8 mg/L – Tabela 2), o qual favorece o crescimento da *M. aeruginosa* (PAERL e OTTEN, 2013).

O crescimento celular quando exposta ao padrão puro do índigo blue foi reduzido tanto de forma direta quanto indireta (Figura 6). Com 120h de exposição em contato direto, o padrão puro de índigo blue inibiu completamente o crescimento celular, mas em contato indireto resultou em $1,91 \times 10^4 \pm 1000$ cél.mL⁻¹, diferindo significativamente do grupo controle ($12,2 \times 10^4 \pm 93$ cél.mL⁻¹). Porém, Dellamatrice et al. (2017) relataram 91% de remoção do corante índigo na concentração de 200 mg.mL⁻¹ por outra espécie de cianobactéria, *Phormidium valderianum*, após 14 dias de incubação, no entanto os autores não relataram a concentração de células no inóculo inicial e se houve a solubilização do corante antes dos testes, uma vez que o corante quando solubilizado apresenta acentuado escurecimento da solução.

Figura 6. Curvas de crescimento da *M. aeruginosa* expostas de forma direta e indireta aos corantes, construídas através das médias ao longo de 168h.

Já a cianobactéria *C. raciborskii* exposta à tartrazina apresentou menor crescimento em comparação ao grupo controle, após 168h de crescimento, observou-se $7,17 \times 10^3 \pm 409$ cél.mL⁻¹ em contato direto e $4,03 \times 10^3 \pm 687$ cél.mL⁻¹ em contato indireto (Figura 7), ambos diferindo significativamente do controle ($1,15 \times 10^4 \pm 1160$ cél.mL⁻¹).

Com relação ao índigo blue, o crescimento celular após 72h foi acentuadamente reduzido em contato direto e indireto, resultando em total inibição do crescimento após 168h, conforme exposto na Figura 7.

Pode-se observar que a cianobactéria filamentosa *C. raciborskii* também se desenvolveu melhor com o corante amarelo, mas não foi tão bem-sucedida quanto a *M. aeruginosa*. Ambas as espécies cresceram melhor quando expostas diretamente à tartrazina, comportamento que permitiu concluir que a forte cor amarela do corante interferiu no positivamente no desenvolvimento das cianobactérias, provavelmente afetando o processo de fotossíntese ou a maior presença de nitrogênio estimulou o crescimento.

Nenhum dos padrões puros dos corantes apresentou visualmente descoloração, ao contrário do relatado por Parikh e Madamwar (2005), que mesmo tendo observado que a síntese de clorofila-a pelas cianobactérias *Gloeocapsa pleurocapsoides*, *Phormidium ceylanicum* e *Chroococcus minutus* foi fortemente inibida pelos corantes azo cíclicos, constataram degradação dos corantes por espectroscopia visível.

Figura 7. Curvas de crescimento da *C. raciborskii* expostas de forma direta e indireta aos corantes, construídas através das médias ao longo de 168h.

4. Conclusão

O crescimento da cianobactéria *M. aeruginosa* foi estimulado em contato direto com o padrão puro do corante tartrazina. Em contato indireto houve crescimento em menor proporção, o que permitiu concluir que a coloração amarelada influenciou de maneira negativa o processo fotossintético. Já o corante índigo blue comprometeu o crescimento celular tanto em contato direto quanto indireto com a cianobactéria.

A cianobactéria *C. raciborskii* também foi capaz de se desenvolver em contato direto e indireto com a tartrazina, mas seu crescimento também foi acentuadamente inibido pelo índigo blue.

Conclui-se portanto que apesar das duas espécies de cianobactérias apresentarem potencial de desenvolver-se na presença do corante amarelo tartrazina a espécie *M. aeruginosa* demonstrou melhor capacidade para crescer em elevadas concentrações do corante (500 mg.L⁻¹) e talvez em uma exposição mais prolongada degradar cor.

CAPÍTULO III

**VIABILIDADE NA REDUÇÃO DA COLORAÇÃO DE DIFERENTES
EFLUENTES TÊXTEIS POR *MICROCYSTIS AERUGINOSA***

CAPÍTULO III

Viabilidade na redução da coloração de diferentes efluentes têxteis por *Microcystis aeruginosa*

1. Introdução

Os efluentes domésticos e industriais são compostos por microorganismos, contaminantes orgânicos e inorgânicos, naturais ou sintéticos, com destaque para os patógenos, potencialmente nocivos à saúde humana. A contaminação ambiental por efluentes industriais resulta do processamento de matérias-primas com geração de subprodutos que, muitas vezes, apresentam alta complexidade e ecotoxicidade. Esses resíduos podem persistir em ambientes aquáticos, o que prejudica a viabilidade dos organismos em curto ou longo prazo, considerando as concentrações de contaminantes liberados e o tempo de exposição da biota a eles (Merten e Minela, 2002; Silva e Fracacio, 2021).

Na economia brasileira, o setor têxtil é de grande importância, pois é um forte gerador de empregos, com grande volume de produção e exportações crescentes (Lopes Fujita e Jorente, 2015). Nesse sentido, o setor têxtil se destaca pelo problema da falta de tratamento de seus efluentes (gerados em grandes volumes), o que pode ocasionar sérios problemas de contaminação ambiental (Kunz et al., 2002). Em particular, destacam-se os corantes utilizados no tingimento de fibras têxteis, geralmente resistentes ao tratamento biológico, o que implica necessariamente na liberação de resíduos líquidos altamente coloridos. Nestes efluentes também existem auxiliares químicos que dificultam o tratamento. Estima-se que aproximadamente 20 - 30% da carga de corante é liberada nos resíduos de corante durante o processamento têxtil (Silva et al., 2012; Sözen et al., 2020).

A literatura relata os efeitos potencialmente tóxicos, citotóxicos, genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos em diferentes organismos quando expostos a corantes, além de ser uma fonte de poluição visual, que acaba comprometendo a penetração da luz e conseqüentemente a fotossíntese da biota aquática (Novotný et al., 2006; Jadhav et al., 2011; Ventura-Camargo e Marin-Morales, 2013). A redução da toxicidade é relevante uma vez que corantes sintéticos e outros componentes químicos podem causar efeitos deletérios tanto no

comprometimento do sistema locomotor de larvas de *D. rerio* (Abe et al., 2017) e alterações bioquímicas em embriões (Maireles et al., 2018)

De acordo com Pagga e Taeger (1994), nas estações de tratamento aeróbico convencionais de esgoto, a maioria dos corantes azo não são degradados pelas bactérias e, portanto, cerca de 40 a 80% dos corantes adsorvem fisicamente ao lodo de esgoto.

A indústria têxtil costuma utilizar o processo de lodo ativado para remover os altos níveis de DQO nos efluentes, porém, ele sozinho não consegue lidar com o tratamento de resíduos altamente coloridos (Holkar et al., 2016; Sözen et al., 2020). No entanto, a necessidade atual não exige apenas tecnologias para remoção de cor, mas que também envolve produzir água reutilizável, mineralizar compostos aromáticos ou recuperar os corantes, remover toxicidade, não produzir lodo tóxico ou possivelmente não produzir lodo (Holkar et al., 2016).

Os métodos de tratamento convencionais (combinação aeróbio-anaeróbio) podem descolorir bastante uma grande variedade de tipos de corantes, com uma porcentagem de remoção de mais de 76%. Estes são métodos baratos, sem formação de espuma, mas não eliminam todas as partículas de corante, têm a formação de metano e o sulfeto de hidrogênio como subprodutos, são métodos inflexíveis, exigem grande área de terra, produzem lodo e demoram muito (Katheresan et al., 2018).

Portanto, a degradação desses corantes torna-se imprescindível e, dentre os possíveis tratamentos, a biorremediação é definida como um processo natural no qual microrganismos são utilizados para desintoxicar ou remover poluentes, sendo um método promissor na remoção e degradação de diversos poluentes ambientais, como o óleo, corantes, inseticidas e herbicidas (Raghukumar et al., 2001; Forlani et al., 2008; Koul e Fulekar, 2013; Dellamatrice et al., 2017).

A capacidade das cianobactérias para degradar corantes já foi inúmeras vezes reportada, e vários estudos realizados ao longo tempo (Jinqi e Houtian, 1992; Kalavathi et al., 2001; Shah et al., 2001; Vijayakumar e Manoharan, 2012; Henciya et al., 2013; Dellamatrice et al., 2017).

Por ser um processo natural no qual os microrganismos utilizam em seus metabolismos os compostos poluentes como fontes de carbono, transformando-os em substâncias de pouca ou nenhuma toxicidade pois resultam em gás carbônico, água, biomassa e sais minerais, a biorremediação com cianobactérias oferece uma melhor solução de tratamento em relação aos métodos convencionais, o que reduz ainda mais o impacto ambiental devido à sua capacidade de utilizar CO₂, além de se mostrar mais econômica em

comparação ao uso de outros grupos de microrganismos (Idi et al., 2015). Assim, levando em consideração os benefícios econômicos e ambientais, apesar das possíveis cianotoxinas geradas, as cianobactérias podem ser uma alternativa na biorremediação de corantes têxteis.

Espécies de cianobactérias, como gênero *Oscillatoria*, *Plectonema terebrans*, *Phormidium tenue* e *Microcystis aeruginosa* desenvolvidas comumente em ambientes aquáticos, demonstram potencial para biorremediação de efluente de fábrica de papel, em derramamentos de óleo (Raghukumar et al., 2001; Cohen, 2002; Burger et al. , 2022) e efluente da indústria de tingimento (Vijayakumar e Manoharan, 2012).

Dentre as cianobactérias dominantes no Brasil, destaca-se o gênero *Microcystis* (Soares et al., 2013), cujas proliferações são identificadas em praticamente todos os lugares (Zurawell et al., 2005; Harke et al., 2016). Por sua vez, *Microcystis aeruginosa* é frequentemente relatada na Ásia tropical, África, América do Sul e Central (Mowe et al., 2015).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de descoloração de diferentes efluentes têxteis por uma espécie de cianobactéria resistente e dominante em diversos ecossistemas e ainda não relatada na literatura para esse fim, *Microcystis aeruginosa*. Foi utilizada uma abordagem adicional dos efeitos tóxicos dessas cianobactérias sobre a sobrevivência de larvas de *Danio rerio* expostas a testes ecotoxicológicos, antes e após o tratamento realizado.

2. Materiais e métodos

2.1 Caracterização química dos efluentes têxteis brutos

Os efluentes têxteis foram coletados de uma fábrica de jeans (Município de Araguari - Minas Gerais) e uma fábrica de tapetes (município de São Carlos - São Paulo). A determinação dos metais foi realizada por espectrometria de emissão de plasma: método de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) de acordo com o método 3120B (APHA, 2012). As amostras foram preparadas de acordo com EPA US 3010A (1992). Seguindo as recomendações dos Métodos Padrão para o exame de água e esgoto (APHA, 2012), a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) foi determinada usando o método 5210 B, Demanda Química de Oxigênio (COD) de acordo com o método 5220 D, e as concentrações de nitrogênio total usando o método 4500 A, nitrato usando o método 4110 B e nitrito usando o método 4500 B.

2.2 Cultivo das cianobactérias

A espécie de cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (Kützing) foi isolada do reservatório de Barra Bonita (São Paulo - Brasil) e é mantida em cultura axênica na coleta de culturas de microalgas de água doce do Laboratório de Ficologia do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Paulo Carlos (WDCM: UFSCar CC 835). Para os testes, a cepa foi cultivada em meio WC (Guillard e Lorenzen, 1972), pH 7, em frascos de 500 mL seguindo as recomendações de temperatura e luz da ABNT NBR 12648 (2011). A contagem das células foi realizada pelo método descrito por Utermöhl (1958), em câmaras de sedimentação de 2 a 10 mL, dependendo da densidade celular, e microscópio invertido Zeiss (Axiovert 40C). Para realizar a contagem de células durante os experimentos com os efluentes de biorremediação, foi necessário diluir as amostras com meio WC, devido à coloração e excesso de material particulado, sendo posteriormente corrigido pelo fator de diluição.

2.3 Biorremediação

Os experimentos de biorremediação foram realizados em frascos de vidro com capacidade de 1,5 L com amostras de efluentes brutos (100%) e diluídos em 50% com água ultrapura para reduzir a possível toxicidade dos efluentes sobre as cianobactérias. Em um volume de 1 L, 50 mL da cultura de *Microcystis aeruginosa* foram inoculados separadamente, inóculo com $8,64 \times 10^3 \pm 93$ cel / mL em cada condição experimental citada acima. Paralelamente, foram mantidos frascos contendo apenas os efluentes para avaliação da degradação sem as cianobactérias. Os experimentos foram mantidos à temperatura de 25 ± 2 °C, 12 horas de luz (600 lux) e com aeração constante, como ilustrado na Figura 8.

A descoloração foi avaliada por espectrofotometria na região do UV-visível (espectrofotômetro Hach modelo DR3900) a cada 48 horas durante 25 dias, com base nos tempos de biorremediação relatados por Parikh e Madamwar (2005) e Vijayakumar e Manoharan (2012), sendo 26 e 30 dias de duração, respectivamente. Os comprimentos de onda utilizados foram de 425 nm para o efluente da fábrica de tapetes e 667 nm para o efluente da fábrica de jeans, por serem a banda com maior absorbância de cada uma.

Figura 8. Imagens dos testes em andamento com os efluentes da Fábrica de calça jeans (acima) e da Fábrica de tapetes (abaixo).

Fonte: Acervo pessoal

2.4 Ensaios ecotoxicológicos antes e após a biorremediação

Os testes foram realizados expondo larvas de *Danio rerio*, seguindo as recomendações da ABNT NBR 15499 (2016), onde são preparadas 4 réplicas, utilizando 10 larvas por réplica, com idade entre 0 a 24 horas de vida, as quais foram expostas às soluções teste por 168 horas, sendo a sobrevivência avaliada. Os parâmetros dureza, condutividade, pH e oxigênio dissolvido (OD) foram monitorados diariamente, sendo a solução teste renovada a cada 48 horas.

Nos testes com efluentes brutos, foram estabelecidas 6 concentrações de teste, com 100; 75; 50; 25; 12.5; 6.25, diluído em água de cultura (água de abastecimento filtrada em carvão ativado e reconstituída sob 44 mg CaCO₃/L), mais o controle. Os resultados foram expressos em CL15 (concentração nominal do agente químico que causa letalidade para 15% das larvas, em 168 horas de exposição). O valor crônico estimado (VCest; 168h), definido como a concentração nominal do agente químico que não tem efeito significativo na sobrevivência e crescimento larval, em 168 horas de exposição, foi calculado multiplicando o CL(I)15;168h pelo fator de correção 0,3 (ABNT, 2016). Segundo Bertoletti (2009), em

ensaios crônicos de curto prazo com ciprinídeos, a multiplicação pelo fator 0,3 é apropriada para extrapolar os efeitos no crescimento com base na sobrevivência das larvas de *Danio rerio*.

Já para os efluentes biorremediados, não houve diluição para confirmar a redução da ecotoxicidade, os resultados de sobrevivência foram calculados em relação ao grupo controle (somente com água de cultivo).

2.5 Tratamento estatístico

O cálculo da CL(I)15;168h dos efluentes brutos foi realizado por meio do método de Interpolação Linear, utilizando-se o programa estatístico ICPIN (Norberg-King, 1993). E através do teste Exato de Fisher, no software Toxstat 3.5 (West e Gulley, 1995), foram avaliadas as significâncias dos resultados de sobrevivência.

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização química do efluentes brutos

O efluente da fábrica de jeans apresentou concentração acentuada de sódio (977 mg/L), com destaque para as concentrações de Potássio>Fósforo> Silício> Cálcio (Tabela 3). No efluente da fábrica de tapetes, a concentração de sódio foi 30 vezes menor, com destaque para Silício>Cálcio> Potássio> Fósforo (Tabela 4). Efluentes têxteis apresentam alta salinidade (Amaral et al., 2014), devido à presença de diversos sais, principalmente Cloreto de Sódio utilizado para fixar corantes em fibras têxteis (Manu e Chauhari, 2003; Ogugbue et al., 2011).

Existem relatos da presença de diversos metais como Zinco, Chumbo, Cádmio, Níquel, Cobalto, Ferro, Cromo e Cobre em efluentes têxteis, mas em concentrações muito diversas (Imtiazuddin et al., 2012; Joshi e Santani, 2012; Manekar et al., 2014). Esses metais vêm de corantes e aditivos usados, por exemplo, sais, soda cáustica e carbonato de sódio (Yaseen e Scholz, 2019).

Tabela 3. Resultados das análises de metais, nitrogênio total, nitrato, nitrito, DBO e DQO dos efluentes brutos (LQ – Limite de quantificação).

Parâmetros (mg/L)	LQ	Fábrica de jeans	Fábrica de tapetes	CL(I)15;168h*
Alumínio	0,01	1,73	0,150	-
Antimônio	0,005	<0,005	0,263	-
Arsênio	0,01	<0,01	0,0192	-
Bário	0,01	0,023	0,0479	-
Berílio	0,01	<0,01	<0,01	-
Bismuto	0,01	<0,01	<0,01	-
Boro	0,01	0,058	0,0112	-
Cádmio	0,001	< 0,001	< 0,001	0,054
Cálcio	0,5	6,48	13,6	-
Chumbo	0,01	<0,01	<0,01	-
Cobalto	0,01	<0,01	<0,01	-
Cobre	0,005	0,0300	0,0474	0,030
Cromo	0,01	<0,01	<0,01	9,7
Estanho	0,01	<0,01	<0,01	-
Estrôncio	0,01	0,103	0,0638	-
Ferro	0,01	0,737	0,657	-
Fósforo	0,01	9,04	3,29	-
Lítio	0,01	<0,01	0,0835	-
Magnésio	0,5	1,96	1,96	-
Manganês	0,01	1,32	0,0885	-
Molibdênio	0,01	<0,01	<0,01	-
Níquel	0,01	< 0,01	<0,01	5,9
Potássio	0,5	9,27	8,39	-
Prata	0,01	<0,01	<0,01	0,021
Selênio	0,008	<0,008	<0,008	-
Silício	0,5	7,52	13,8	-
Sódio	0,5	977	30,9	2
Tálio	0,01	<0,01	<0,01	-
Titânio	0,01	<0,01	<0,01	-
Urânio	0,01	<0,01	<0,01	-
Vanádio	0,01	<0,01	<0,01	-
Zinco	0,01	0,248	0,183	3,6
Nitrogênio Total	1	6,46	2,27	0,84
Nitrato (como N)	5	<5	<5	-
Nitrito (como N)	0,2	0,81	<0,2	-
DBO	90	138	488	-
DQO	100	550	1240	-

* Bertoletti (2009); - Valores não reportados na literatura.

A quantidade de nitrogênio total no efluente da fábrica de jeans foi maior (6,46 mg/L) do que no efluente da fábrica de tapetes (2,27 mg/L), conforme mostrado na Tabela 3. O contrário ocorre com DBO e DQO cujas maiores concentrações foram obtidas no efluente da fábrica de tapetes (Tabela 3).

De acordo com Yaseen e Scholz (2019), existe uma grande variedade de fábricas têxteis o que torna difícil estimar faixas com concentrações típicas para parâmetros como metais, nutrientes, compostos orgânicos e inorgânicos.

3.2 Biorremediação dos efluentes têxteis

O efluente da fábrica de jeans apresentava visualmente uma cor azul intensa, o que pode ser atribuído à presença dos corantes índigo. Em relação à remoção dessa cor ao longo de 25 dias, no efluente da fábrica de jeans apenas aerado, foi encontrado 73,6% na remoção da cor, enquanto o efluente com *M. aeruginosa* apresentou apenas 48% de descoloração (Figura 9). A formação de precipitados foi observada em ambos os tratamentos, provavelmente uma fração dos corantes índigo presentes retornou à sua forma insolúvel original. Segundo Manu e Chauhari (2003), os corantes tornam-se solúveis após sua redução em solução alcalina.

Dellamatrice et al. (2017) relataram remoção de 91% do corante índigo por outra espécie de cianobactéria, *Phormidium valderianum*, após 14 dias de incubação. Mas os autores não mencionam a forma insolúvel do corante.

Porém, é importante destacar que o presente trabalho utilizou efluentes gerados após o processo de fabricação. E, portanto, uma matriz muito mais complexa do que o corante índigo como único ingrediente ativo. E ratificando isso, Dellamatrice et al. (2017) após um menor tempo de biorremediação do efluente têxtil, 14 dias de tratamento, obteve 23,8% de descoloração com *Anabaena* sp. e 28,4% com *Phormidium* sp.

Figura 9. Efluente bruto da fábrica de jeans (padrão de referência) ao centro, a direita o efluente somente aerado e a esquerda o efluente com *M. aeruginosa* após 25 dias de tratamento.

Fonte: Acervo pessoal

Em relação ao efluente da fábrica de carpetes, cuja cor visual era amarela devido à presença do azo corante tartrazina (comunicação pessoal na fábrica de carpetes), a taxa de remoção dessa cor ao longo de 25 dias para o efluente aerado foi de apenas 34,6% e 43,5% no efluente com *M. aeruginosa* (Figura 10). Não foi possível associar a descoloração e redução da toxicidade por *M. aeruginosa*, uma vez que os efluentes brutos aerados por 25 dias também estavam descoloridos. Provavelmente devido à fotodegradação do efluente da fábrica de tapetes e precipitação dos corantes índigo presentes no efluente da fábrica de jeans.

A eficiência na remoção da cor dos efluentes avaliados neste estudo foi menor quando comparada à relatada na literatura para diferentes corantes puros, conforme Shah et al. (2001) observaram que a cianobactéria *Phormidium valderianum* foi capaz de atingir 90% de eficiência na descoloração dos corantes Acid Red, Acid Red 119 e Direct Black 155.

Figura 10. Efluente bruto da fábrica de tapetes (padrão de referência) ao centro, a esquerda o efluente somente aerado e a direita o efluente com *M. aeruginosa* após 25 de dias de tratamento.

Fonte: Acervo pessoal.

Kalavathi et al. (2001) afirmam que o mecanismo de remoção de cor é devido à produção de oxigênio molecular, ânions hidroxila e peróxido de hidrogênio durante a fotossíntese. O uso de cianobactérias na degradação ou acúmulo de compostos xenobióticos tem sido frequentemente relatado, por exemplo, na remoção de metais potencialmente tóxicos (Cd, Mn, Cr e Ni) e corantes (Asthana et al., 1995; Khattar et al., 1999; Matsunaga et al., 1999; Mohamed, 2001; Dellamatrice et al., 2017).

A concentração inicial de *M. aeruginosa* nos efluentes foi de $4,1 \times 10^2$ células/mL, após 25 dias houve uma redução acentuada dessa concentração de células, no efluente da fábrica de jeans havia $1,32 \times 10^2$ células/mL e na fábrica de tapetes $2,47 \times 10^2$ células/mL. Os efluentes foram tóxicos para *M. aeruginosa* devido à redução na concentração de células inoculadas, apesar de vários estudos relatarem a capacidade das cianobactérias de crescer em efluentes farmacêuticos, têxteis e industriais (Vijayakumar et al., 2005; Dubey et al., 2011; Burger et al., 2022), de pesticidas (El-Bestawy et al., 2007) e em efluentes de curtume (Nanda et al., 2010).

O gênero *Microcystis* depende dos macronutrientes N e P para seu crescimento, portanto as concentrações tanto de nutrientes quanto de outros metais nos efluentes do presente estudo (Tabela 3) tendem a favorecer seu desenvolvimento. Paerl e Otten (2013) relacionam cargas excessivas de N ao aumento da dominância e expansão geográfica de gêneros de cianobactérias não fixadoras de N₂, especificamente aquelas do gênero *Microcystis*. A quantidade de nitrogênio total no efluente da fábrica de jeans foi maior ($6,46 \text{ mg.L}^{-1}$) do que

no efluente da fábrica de carpetes ($2,27 \text{ mg.L}^{-1}$), de acordo com a Tabela 2. Em virtude disso, cabe ressaltar que nem todo microrganismo será eficiente para biorremediar e crescer em qualquer efluente têxtil devido às suas exigências metabólicas. Portanto, mesmo sendo capazes de proliferar em condições adversas as cianobactérias podem não adaptar-se aos diversos efluentes gerados. Corroborando os dados de biorremediação obtidos na presente pesquisa, na qual constatou-se o crescimento celular de *M. aeruginosa* em contato direto com o corante tartrazina, no entanto o mesmo comportamento não foi observado nos efluentes da Fábrica de tapetes também compostos pelo mesmo corante.

O fósforo também pode garantir a manutenção das células, já que este gênero pode persistir mesmo em condições limitantes de nitrogênio. De acordo com Paerl et al. (2014) mesmo sob condições limitadas de N e N + P, o gênero *Microcystis* manteve sua dominância sobre os demais gêneros analisados em um lago hipertrófico na China.

Nesse aspecto, a redução no número de células provavelmente não está relacionada às concentrações de nitrogênio e fósforo nos efluentes brutos, talvez esteja ligada ao fato da transparência reduzida e conseqüente redução na passagem de luz, embora esta espécie possa mover através da coluna de água. A ausência de proliferação em efluentes altamente coloridos de fábricas de papel também foi associada à limitação da penetração da luz na coluna d'água e à restrição da capacidade fotossintética (Mahmood e Paice, 2006; Burger et al., 2022).

Polyak et al. (2013) observaram toxicidade e inibição do crescimento de duas cepas de *Microcystis aeruginosa* com $50 \text{ }\mu\text{g/L}$ de cobre e $250 \text{ }\mu\text{g/L}$ de zinco. No presente estudo, as concentrações de cobre detectadas também podem ter contribuído para a redução do número de células, $30 - 47,4 \text{ }\mu\text{g/L}$ de cobre, para a fábrica de jeans e fábrica de tapetes, respectivamente. Outra hipótese é que o excesso de sódio em ambos os efluentes ou a própria interação dos metais pode prejudicar o crescimento, reduzindo o metabolismo.

3.3 Testes ecotoxicológicos antes e após a biorremediação

Testes de letalidade com larvas para o efluente da fábrica de jeans resultaram em $\text{CL(I)}_{15;168\text{h}} = 7,19\%$ e $\text{VCest}_{168\text{h}} = 2,16 \text{ (v/v)}$ do efluente bruto e, portanto, um potencial marcado para toxicidade tanto na sobrevivência quanto no crescimento do organismo. Observou-se que 25; 50; 75 e 100% da fábrica de jeans é efluente bruto que causou 100% de mortalidade em menos de 48 horas de exposição. Da mesma forma, o efluente bruto da

fábrica de carpetes indicou CL(I)15;168h = 11,88% e VCest;168h = 3,56% do efluente bruto. Vale ressaltar que as concentrações de cobre, nitrogênio e principalmente sódio no efluente bruto ultrapassaram os valores de CL15 (Cobre, Sódio e Nitrogênio) para as larvas e, portanto, por si só, apresentam potencial ecotóxico. A CL15 e o CVest obtidos neste estudo para ambos os efluentes ratificam a ecotoxicidade potencial de efluentes têxteis não tratados para a biota aquática.

Após 25 dias de testes, o efluente da fábrica de jeans apenas aerado não apresentou toxicidade às larvas, com sobrevivência de 80% dos organismos expostos (Tabela 4). No efluente com *M. aeruginosa*, apesar da sobrevivência de 70% das larvas, houve diferença significativa em relação ao controle.

Em relação ao efluente da fábrica de tapetes, a toxicidade persistiu, pois apenas 60% das larvas sobreviveram tanto no efluente aerado quanto com *M. aeruginosa*, diferindo significativamente quando comparado ao grupo controle conforme mostrado na tabela 2. O efluente diluído em 50%, apresentou 80% de sobrevivência das larvas para efluente aerado e 90% para *M. aeruginosa* (Tabela 4).

Dellamatrice et al. (2017) observaram uma redução na toxicidade dos efluentes têxteis, menos alterações morfológicas nos organismos *Hydra attenuata*, induzidas por três cepas de cianobactérias, concluindo que foram capazes de reduzir a carga poluente do efluente. Esses resultados são corroborados por Vijayakumar et al. (2005) que observaram não só a descoloração de efluentes de uma indústria de tingimento, mas também a remoção completa de nitritos, fosfatos, além da redução de DBO e DQO, após 30 dias de biorremediação com *Oscillatoria brevis*.

No entanto, embora o uso de cianobactérias se mostre viável, sabe-se que a cianobactéria em questão é potencialmente produtora de microcistinas (Ferrão-Filho e Kozlowsky-Suzuki, 2011; Moreira et al., 2014; Zastepa et al., 2015). Nesse sentido, é necessário analisar as possíveis cianotoxinas geradas após o processo.

Tabela 4. Sobrevivência das larvas de *Danio rerio* expostas por 168h aos efluentes após 25 dias de biorremediação com *Microcystis aeruginosa* (MIC) e aos efluentes somente aerados.

	Efluente Fábrica de Jeans			
	Controle	100%	100% + MIC	50% + MIC
Sobrevivência 168h(%)	100	80	70*	80
pH	8,49 ± 0,44	8,38 ± 0,41	8,08 ± 0,33	8,13 ± 0,21
Condutividade (mS/cm)	0,15 ± 0,01	2,78 ± 0,94	4,94 ± 0,39	2,53 ± 0,37
OD (mg/L)	5,35 ± 0,13	5,91 ± 0,71	5,21 ± 0,52	5,24 ± 0,19
	Efluente Fábrica de Tapetes			
	Controle	100%	100% + MIC	50% + MIC
Sobrevivência 168h(%)	100	60*	60*	90
pH	8,79 ± 0,08	8,16 ± 0,78	7,82 ± 0,17	7,57 ± 0,07
Condutividade (mS/cm)	0,158 ± 0,01	0,210 ± 0,04	0,210 ± 0,03	0,382 ± 0,03
OD (mg/L)	5,54 ± 0,56	5,26 ± 0,55	5,14 ± 0,30	5,37 ± 0,4

*p ≤ 0,05

4. Conclusão

Após os 25 dias de biorremediação, nos efluentes diluídos em 50% houve redução na quantidade de células, em comparação ao inóculo inicial. A coloração do efluente bruto da fábrica de tapetes, apenas aerado, reduziu a cor em 34,6% e com a presença das células tal redução foi de 43%. Desta maneira, provavelmente o crescimento celular e metabolismo ativo, ocorreram em tempo anterior aos 25 dias testados, considerando a maior degradação da cor com a presença de cianobactérias no efluente.

Testes ecotoxicológicos com 100% do efluente da fábrica de tapetes revelaram ecotoxicidade persistente para as larvas, com e sem a presença de *M. aeruginosa*. No efluente de biorremediação da fábrica de jeans, houve ecotoxicidade. As cianobactérias não aumentaram a ecotoxicidade dos efluentes diluídos em 50%.

Os efluentes têxteis, devido à sua alta complexidade, não são facilmente degradáveis e, no presente estudo, sua descoloração não foi satisfatória. A ecotoxicidade foi reduzida provavelmente devido à degradação natural de agentes químicos. Não foi possível associar descoloração e redução da ecotoxicidade por *M. aeruginosa* e tempos menores na análise de crescimento celular em efluentes devem ser investigados, a fim de melhor avaliar sua atuação biorremediadora em matrizes complexas com corantes.

**CONCLUSÃO FINAL E
RECOMENDAÇÕES FUTURAS**

CONCLUSÃO FINAL E RECOMENDAÇÕES FUTURAS

A presente pesquisa permitiu concluir que apesar de ambas espécies crescerem em contato com o corante amarelo tartrazina, a *Microcystis aeruginosa* foi a espécie que demonstrou maior viabilidade na descoloração desse corante têxtil. Tendo apresentado um acentuado crescimento em contato direto com altas concentrações do corante amarelo tartrazina. O corante índigo blue inibiu o crescimento das duas cianobactérias.

Os efluentes têxteis causaram toxicidade para as duas cianobactérias, com marcada redução na concentração de células. A descoloração dos efluentes não foi acentuada. A presença das cianobactérias não aumentou a ecotoxicidade dos efluentes biorremediados para larvas de *D. rerio*.

Conclui-se por fim, que a alta complexidade dos efluentes dificulta sua degradação, uma vez que mesmo supostamente possuindo condições para o desenvolvimento da *M. aeruginosa*, não houve sucesso na descoloração e a cepa não se desenvolveu durante a biorremediação.

Face ao exposto, seria importante avaliar tempos menores de biorremediação, onde o metabolismo das cepas pode ser estimulado, outra alternativa seria a manipulação do efluente em favor da viabilidade celular exponencial e a utilização de distintas concentrações de inóculos.

REFERÊNCIAS

- ABE, F. R.; MENDONÇA, J. N.; MORAES, L. A. B.; GRAVATO, C.; SOARES, A. M. V. M.; OLIVEIRA, D. P. Toxicological and behavioral responses as a tool to assess the effects of natural and synthetic dyes on zebrafish early life. **Chemosphere**, v. 178, p. 282-290, 2017.
- ABIT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL E DE CONFECÇÃO. **Abit**. Disponível em: <https://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor> Acesso em: 2 agosto 2022.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12648**: ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, 2011. 28 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15499**: ecotoxicologia aquática - Toxicidade Aguda - Método de ensaio com peixe. Rio de Janeiro, 2016. 32 p.
- AMARAL, F. M.; KATO, M. T.; FLORÊNCIO, L.; GAVAZZA, S. Color, organic matter and sulfate removal from textile effluents by anaerobic and aerobic processes. **Bioresour. Technol.**, v. 163, p. 364 – 369, 2014.
- ANTUNES, J. T.; LEÃO, P. N.; VASCONCELOS, V. M. *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. **Front Microbiol.**, v. 6, 473 p. 2015.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22th ed. Washington: 2012. 1360 p.
- ASTHANA, R. K.; CHATTERJEE, S.; SINGH, S. P. Investigations on nickel biosorption and its remobilization. **Process Biochemistry**, v. 30, n. 8, p. 729 – 734, 1995.
- BEACH, E. S., MALECKY, R. T., GIL, R. R., HORWITZ, C. P., COLLINS, T. J. Fe-TAML/hydrogen peroxide degradation of concentrated solutions of the commercial azo dye tartrazine. **Catalysis Science & Technology**, v. 1, n. 3, p. 437-443, 2011.
- BERTOLETTI, E. Determination of chronic ecotoxicity to *Danio rerio*. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 4, n. 1-3, p. 1 – 7, 2009.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; PICCIN-SANTOS, V., MOURA, A. N.; ARAGÃO-TAVARES, N. K. C.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K. Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking supply reservoirs of Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p. 297-309, 2014.
- BONILLA S., AUBRIOT L., SOARES M. C. S., GONZALES-PIANA M., FABRE A., HUSZAR V. L. M., et al. What drives the distribution of the bloom forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*? **FEMS Microbiol. Ecol.** v. 79, p. 594–607, 2012.

BURGER, H.; DICKSON, S.; AWAD, J. et al. Investigation of cyanobacteria blooms in paper mill wastewaters and assessment of zinc as a control agent. **Int. J. Environ. Sci. Technol.** v. 19, p. 1105–1120, 2022.

CÁCERES, T. P., MEGHARAJ, M., NAIDU, R. Biodegradation of the Pesticide Fenamiphos by Ten Different Species of Green Algae and Cyanobacteria. **Curr. Microbiol.**, v. 57, p. 643–646, 2008.

CARNEIRO, R. L.; PACHECO, A. B. F., AZEVEDO, S. M. F. O. “Growth and saxitoxin production by cylindrospermopsis *raciborskii* (cyanobacteria) correlate with water hardness.” **Marine Drugs**, v. 11, n. 8, p. 2949-2963, 2013.

CARR NG, WHITTON BA. **The Biology of Blue-green Algae**. Vol. 9. Berkeley and Los Angeles: Univ of California Press; 1973.

CASSIER-CHAUVAT, C., DIVE, V., CHAUVAT, F. Cyanobacteria: photosynthetic factories combining biodiversity, radiation resistance, and genetics to facilitate drug discovery. **Appl Microbiol Biotechnol.**, v. 101, p. 1359–1364, 2017.

COHEN Y. Bioremediation of oil by marine microbial mats. **Int Microbiol.**, v. 5, n. 4, 189 – 93, 2002.

CONCEIÇÃO, V., FREIRE, F. B., CARVALHO, K. Q. Treatment of textile effluent containing indigo blue dye by a UASB reactor coupled with pottery clay adsorption. **Acta Scientiarum Technology**, 35 (1), 53-58, 2012.

COUTO, C. F., MARQUES, L. S., BALMANT, J., MAIA, A. P. O., MORAVIA, W. G., AMARAL, M. C. S. “Hybrid MF and membrane bioreactor process applied towards water and indigo reuse from denim textile wastewater.” **Environmental Technology**, v. 39 (6), p. 725-738, 2018.

DAVID NOEL, S., RAJAN, M. R. Cyanobacteria as a Potential Source of Phycoremediation from Textile Industry Effluent.” **J. Bioremed. Biodeg.**, v. 5, p. 260. 2018.

DELLAMATRICE, P.M.; SILVA-STENICO, M.E.; MORAES, L.A.B.; FIORE, M.F.; MONTEIRO, R.T.R. Degradation of textile dyes by cyanobacteria, **Brazilian Journal of Microbiology** , v. 48, n. 1, p. 25 – 31, 2017.

DUBEY, S.K.; DUBEY, J.; MEHRA, S.; TIWARI, P.; BISHWAS, A.J. Potential use of cyanobacterial species in bioremediation of industrial effluents. **Afr. J. Biotechnol.**, v. 10, n. 7, 1125 – 1132, 2011.

EL-BESTAWY, E.A.; EL-SALAM, A.Z.A.; MANSY, A.E.R.H. Potential use of environmental cyanobacterial species in bioremediation of lindane-contaminated effluents **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 59, n. 3, p. 180 – 192, 2007.

EPA US (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY). **Method 3010A**: Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts for Total Metals for Analysis

by Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FLAA) or Inductively Coupled Plasma Spectroscopy (ICP), 1st edn. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1992.

EVERSON S., FABBRO L., KINNEAR S., WRIGHT P. Extreme differences in akinete, heterocyte and cylindrospermopsin concentrations with depth in a successive bloom involving *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti) and *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju. **Harmful Algae**, v. 10, p. 265–276, 2011.

FERRÃO-FILHO, A. S., SOARES, M. C. S., MAGALHÃES, V. F., AZEVEDO, S. M. F. O. Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays.” **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 72, p. 479-489, 2009.

FERRÃO-FILHO, A. S., KOZLOWSKY-SUZUKI, B. “Cyanotoxins: Bioaccumulation and Effects on Aquatic Animals.” **Marine Drugs**, v. 9, n.12, p. 2729-2772; 2011.

FLORES, E.; WOLK, C. P. Identification of facultatively heterotrophic, N₂-fixing cyanobacteria able to receive plasmid vectors from *Escherichia coli* by conjugation. **J Bacteriol.**, v. 162, n. 3, p.1339-41, 1985.

FORLANI, G.; PAVAN, M.; GRAMEK, M.; KAFARSKI, P.; LIPOK, J. Biochemical basis for a wide spread tolerance of cyanobacteria to the phosphonate herbicide glyphosate. **Plant Cell Physiol.**, v. 49, p. 443 – 456, 2008.

GHALY, A. E.; ANANTHASHANKAR, R.; ALHATTAB, M.; RAMAKRISHNAN, V. V. Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. **J. Chem. Eng. Process. Technol.**, v. 5, 182 p., 2014.

GUILLARD, R.R.L.; LORENZEN, C.J. Yellow-green algae with chlorophyllide C12. **Journal of Phycology**, v. 8, n.1, p. 10 – 14, 1972.

HAMILTON, T. L.; BRYANT, D. A.; MACALADY, J. L. O papel da biologia na evolução planetária: produção primária de cianobactérias em oceanos proterozóicos com baixo teor de oxigênio. **Microbiologia ambiental**, v. 18, n. 2, p. 325-340, 2016.

HARKE, M.J.; STEFFEN, M.M.; GOBLER, C.J.; OTTEN, T.G.; WILHELM, S.W.; WOOD, S.A.; PAERL, H.W. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. **Harmful Algae**, v. 54, p. 4-20, 2016.

HENCIYA, S.; SHANKAR, M.; MALIGA, P. Decolorization of textile dye effluent by marine cyanobacterium *Linghya* sp. BDU 9001 with coir pith. **Int. J. Environ. Sci.**, v. 3, p.1909 – 1918, 2013.

HOLKAR, C.R.; JADHAV, A.J.; PINJARI, D.V.; MAHAMUNI, N.M.; PANDIT, A.B. A critical review on textile wastewater treatments: possible approaches. **J Environ Manag**, v. 182, p. 351 – 366, 2016.

IDI, A.; MD NOR, M.H.; ABDUL WAHAB, M.F.; IBRAHIM, Z. Photosynthetic bacteria: an eco-friendly and cheap tool for bioremediation. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.**, v. 14, 271 p., 2015.

IEMI - INSTITUTO DE ESTUDOS E MARKETING INDUSTRIAL. **Brasil têxtil 2021**. Disponível em: <https://www.iemi.com.br/produto/brasil-textil/> Acesso em: 10 de janeiro de 2022.

IMTIAZUDDIN, S.M.; MUMTAZ, M.; MALLICK, K.A. Pollutants of wastewater characteristics in textile industries. **J. Basic Appl. Sci.**, v. 8, p. 554 – 556, 2012.

IONESCU, D.; HINDIYEH, M.; MALKAWI, H.; OREN, A. Biogeography of thermophilic cyanobacteria: insights from the ZerkaMa' in hot springs (Jordan). **FEMS Microbiol Ecol.**, v. 72, p.103–113, 2010.

JADHAV, S.B.; PHUGARE, S.S.; PATIL, P.S.; JADHAV, J.P. Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol red and subsequent toxicological evaluation by cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. **Int. Biodeterior. Biodegrad.**, v. 65, n. 6, p. 733 – 743, 2011.

JINQI, L.; HOUTIAN, L. Degradation of azo dyes by algae. **Environmental Pollution**, v. 75, p. 273 – 278, 1992.

JONG, L.; PECH, N.; ARAGÃO UMBUZEIRO, G.; MOREAU, X. Multi-scale biomarker evaluation of the toxicity of a commercial azo dye (Disperse Red 1) in an animal model, the freshwater cnidarian *Hydra attenuata*.” **Water Res.**, v. 96, p. 62–73, 2016.

JOSHI, V.J.; SANTANI, D.D. Physicochemical Characterization and Heavy Metal Concentration in Effluent of Textile Industry. **Universal Journal of environmental research & technology**, v. 2, n. 2, 2012.

KALAVATHI, D. F.; UMA, L.; SUBRAMANIAN, G. Degradation and metabolization of the pigment melanoidin in distillery effluent by the marine cyanobacterium *Oscillatoria boryana* BDU 92181. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 29, p. 246 - 251, 2001.

KAMAL, A. K. I.; AHMED, F.; HASSAN, M.; UDDIN, M.; HOSSAIN, S. M. Characterization of Textile Effluents from Dhaka Export Processing Zone (DEPZ) Area in Dhaka, Bangladesh. **Pollution**, 2, n. 2, p. 153-161, 2016.

KATHERESAN, V.; KANSEDO, J.; LAU, S.; Y. Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 4676 - 4697, 2018.

KAUR, S.; KAUR, A. Variability in antioxidant/detoxification enzymes of *Labeo rohita* exposed to an azo dye, acid black (AB). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 167, p. 108-116, 2015.

KHATTAR, J.I.S.; SARMA, T.A.; SINGH, D.P. Removal of chromium ions by agar immobilized cells of the cyanobacterium *Anacystis nidulans* in a continuous flow bioreactor. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 25, p. 564 - 568, 1999.

KLEMER, A. R.; CULLEN, J. J.; MAGEAU, M.; HANSON, K. M.; SUNDELL, R. A. Cyanobacterial buoyancy regulation: the paradoxical roles of carbon. **J. Phycol.**, v. 32, p, 47–53, 1996.

KNAUTH, L.P.; KNAUTH. Temperature and salinity history of the Precambrian ocean: Implications for the course of microbial evolution Palaeogeogr. **Palaeoclimatol. Palaeoecol.**, v. 219, p. 53-69, 2005.

KOKOCIŃSKI, M.; STEFANIAK, K.; MANKIEWICZ-BOCZEK, K.; IZYDORCZYK, K.; SOININEN, J. The ecology of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyta) in two hypereutrophic lakes dominated by *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales, Cyanophyta). **Eur. J. Phycol.**, v. 45, p. 365–374, 2005.

KOUL, S.; FULEKAR, M.H. Petrochemical Industrial Waste: Bioremediation Techniques: An Overview. **International Journal of Advancements in Research e Technology**, v. 2, n. 7, 2013.

KUMAR, S.; HABIB, K.; FATMA, T. Endosulfan induced biochemical changes in nitrogen-fixing cyanobacteria. **Sci. Total Environ.**, v. 403, p. 130–138, 2008.

KUNZ, A.; ZAMORA, P. P.; DE MORAES, S. G.; DURÁN N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química nova**, v. 25, n. 1, p. 78 - 82, 2002.

LOPES FUJITA, R. M.; JORENTE, M.J.A. Indústria Têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural. **Moda Palavra e-periódico**, v. 15, p. 153 – 174, 2015.

MAHMOOD, T.; PAICE, M. Aerated stabilization basin design and operating practices in the Canadian pulp and paper industry. **Journal of Environmental Engineering and Science**, v. 5, n. 5, p. 383 - 395, 2006.

MANEKAR, P.; PATKAR, G.; ASWALE, P.; MAHURE, M.; NANDY, T. Detoxifying of high strength textile effluent through chemical and bio-oxidation processes. **Bioresource technology**, v. 157, p. 44 - 51, 2014.

MANSY, ABD & EL-BESTAWY, EBTESAM. Toxicity and biodegradation of fluometuron by selected cyanobacterial species. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, p. 125-131, 2002.

MANSOUR, R.; MIGHRI, Z.; MHENNI, F. Exploring the potential uses of *Vitis vinifera* L. leaves as raw material for textile dyeing without metal mordants. **Fibers Polym**, v. 17, p.1621–1626, 2016.

MANU, B.; CHAUHARI, S. Decolorization of indigo and azo dyes in semi continuous reactors with long hydraulic retention time. **Process. Biochem.**, v. 38, p. 1213 – 1221, 2003.

MATSUNAGA, T.; TAKEYAMA, H.; NAKAO, T.; YAMAZAWA, A. Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater. **Journal of Biotechnology**, v. 70, p. 33 – 38, 1999.

MEIRELES, G.; DAAM, M.; SANCHES, A. L. M.; ZANONI, M. V. B.; SOARES, A. M. V. M; GRAVATO, C.; OLIVEIRA, D. P. Red disperse dyes (DR 60, DR 73 and DR 78) at environmentally realistic concentrations impact biochemical profile of early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). **Chemico-Biological Interactions**, v. 292, p. 94 - 100, 2018.

MEKSI, N., TICHA, M. B., KECHIDA, M., & MHENNI, M. F. Using of ecofriendly α -hydroxycarbonyls as reducing agents to replace sodium dithionite in indigo dyeing processes. **Journal of Cleaner Production**, v. 24, p. 149-158, 2012.

MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 3, n. 4, p. 33-38, 2002.

MOHAMED, Z. A. Removal of cadmium and manganese by a non-toxic strain of the freshwater cyanobacterium *Gloeotheca magna*. **Water Research**, v. 35, n. 18, p. 4405 – 4409, 2001.

MOREIRA, C.; RAMOS, V.; AZEVEDO, J.; VASCONCELOS, V. Methods to detect cyanobacteria and their toxins in the environment. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 98, p. 8073 – 8082, 2014.

MOUNÉ S, CAUMETTE P, MATHERON R, WILLISON JC. Molecular sequence analysis of prokaryotic diversity in the anoxic sediments underlying cyanobacterial mats of two hypersaline ponds in Mediterranean salterns. **FEMS Microbiol Ecol.** v. 44, n. 1, p.117-30, 2003.

MOWE, M.A.D.; MITROVIC, S.M.; LIM, R.P.; FUREY, A.; YEO, D.C.J. Tropical cyanobacterial blooms: a review of prevalence, problem taxa, toxins and influencing environmental factors. **J. Limnol.**, v. 74, n. 2, p. 205 – 224, 2015.

NANDA, S.; SARANGI, P.K.; ABRAHAM, J. Cyanobacterial remediation of industrial effluents I. Tannery effluents. **New York Sci. J.**, v. 3, n. 12, p. 32 – 36, 2010.

NOJAVAN, S., TAHMASEBI, Z., BIDARMANESH, T., BEHDAD, H., NASIRI-AGHDAM, M., MANSORI, S., POURAHADI, A. Electrically enhanced liquid-phase microextraction of three textile azo dyes from wastewater and plant samples. **Journal of separation science**, v. 36, n. 19, p. 3256-3263, 2013.

NORBERG-KING, T. 1993. **A linear interpolation method for sublethal toxicity: the inhibition concentration (ICp) approach (Version 2.0)**. US Environmental Protection Agency, Environ. Res. Lab.-Duluth, Duluth, MN, Technical Report 03-93 of National Effluent Toxicity Assessment Center.

NOVOTNÝ, C.; DIAS, N.; KAPANEN, A.; MALACHOVÁ, K.; VÁNDROVCOVÁ, M.; ITÄVAARA, M.; LIMA, N. Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests

to study toxicity of azo and anthraquinone dyes. **Chemosphere**, v. 63, p. 1436 – 1442, 2006.

OGUGBUE, C.; SAWIDIS, T.; ORANUSI, N. Evaluation of color removal in synthetic saline wastewater containing azo dyes using an immobilized halotolerant cell system. **Ecological engineering**, v. 37, p. 2056 - 2060, 2011.

OLIVEIRA, G.A.R, LAPUENTE, J., TEIXIDÓ, E., PORREDÓN, C., BORRÁS, M., OLIVEIRA, D.P. Textile dyes induce toxicity on zebrafish early life stages. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 35, n. 2, p. 429–434, 2016.

ORZECZOWSKI, J.; RAMPINELLI, J.R.; SILVEIRA, M.L.L.; CHAVES, M.B.; FURLAN, S.A. Avaliação do potencial de descoloração e de detoxificação de corantes têxteis por lacase de *Pleurotus sajor-caju*. **Evidência**, v. 18, n. 1, p. 59 – 80, 2018.

PADISÁK, J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. **Archiv Für Hydrobiologie Supplementband Monographische Beitrage**, v. 107, n. 4, p. 563-593, ISSN 0341-288, 1997.

PAERL, H.W.; OTTEN, T.; G. Harmful cyanobacterial blooms: Causes, consequences and controls. **Microb. Ecol.**, v. 65, p. 995 - 1010, 2013.

PAERL, H.W.; XU, H.; HALL, N.S.; ZHU, G.; QIN, B.; et al. Controlling Cyanobacterial Blooms in Hypertrophic Lake Taihu, China: Will Nitrogen Reductions Cause Replacement of Non-N₂ Fixing by N₂ Fixing Taxa? **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.

PAGGA, U.; TAEGER, K. Development of a method for adsorption of dyestuffs on activated sludge. **Water Res.**, v. 28, n. 5, p. 1051 - 1057, 1994.

PAPKE, R. T.; RAMSING, N. B.; BATESON, M. M.; WARD, D. M. Geographic isolation in hot spring cyanobacteria. **Environ Microbiol**, v. 5, p. 650–659, 2003.

PARIKH, A.; Madamwar, D. Textile dye decolorization using cyanobacteria. **Biotechnol. Lett.**, v. 27, p. 323 – 336, 2005.

POLYAK, Y.; ZAYTSEVA, T.; MEDVEDEVA, N. Response of toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to environmental pollution. **Water Air Soil Pollut**, v. 224, 1494 p., 2013.

PRIYA, E. S.; SELVAN, P. S. Water hyacinth (*Eichhorniacrassipes*) – An efficient and economic adsorbent for textile effluent treatment – A review. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 3548-3558, 2017.

QUEIROZ, B. P. V.; STEFANELLI, T. Biodegradação de Corantes Têxteis por *Anabaena flos-aqual*. **Conference: Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v. 8, n. 1, 2011.

RAGHUKUMAR, C.; VIPPARTY, V.; DAVID, J.J.; CHANDRAMOHAN, D. Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 57, p. 433 - 436, 2001.

RECKNAGEL F., ORR P. T., CAO H. Inductive reasoning and forecasting of population dynamics of *Cylindrospermopsis raciborskii* in three sub-tropical reservoirs by evolutionary computation. **Harmful Algae**, v. 31, p. 26–34, 2014.

ROBINSON, T.; MCMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource technology**, v. 77, n. 3, p. 247-255, 2001.

SANT'ANNA, C. L.; MELCHER, S. S.; CARVALHO, M. C.; GEMELGO, M.P.; AZEVEDO, M. T .P. Planktic Cyanobacteria from upper Tietê basin reservoirs, SP, Brazil. **Revista Brasil. Bot.**, v. 30, n. 1, p. 1-17, 2007.

SECKBACH, J. **Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments**; Springer Science & Business Media: Berlin, Germany, ISBN 978-1-4020-6111-0, 2007.

SHAH, V.; GARG, N.; MADAMWAR, D. An integrated process of textile dye removal and hydrogen evolution using cyanobacterium, *Phormidium valderianum*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 17, p. 499 – 504, 2001.

SILVA, M.C.; CORRÊA, A.D.; TORRES, J.A.; AMORIM, M.T.S.P. Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). **Quím. Nova**, v. 35, n. 5, p. 889 - 894, 2012.

SILVA, J.; FRACACIO, R. Toxicological and ecotoxicological aspects of tartrazine yellow food dye: a literature review. **Brazilian Journal of Environmental Sciences (Online)**, v. 56, n. 1, p. 137 - 151, 2021.

SOARES, M.C.S.; HUSZAR, V.L.M.; MIRANDA, M.N.; MELLO, M.M.; ROLAND, F.; LÜRLING, M. Cyanobacterial dominance in Brazil: distribution and environmental preferences. **Hydrobiologia**, v. 717, p. 1 - 12, 2013.

SÖZEN, S.; OLMEZ-HANCI, T.; HOOSHMAND, M. et al. Fenton oxidation for effective removal of color and organic matter from denim cotton wastewater without biological treatment. **Environ Chem Lett**, v. 18, p. 207 - 213, 2020.

SWAMI, C.; SAINI, S.; GUPTA, V.B. A study on green dyeing of cotton with ethanolic extract of *Sesbania aculeate*. **Universal Journal of Environmental Research and Technology**, v. 2, p. 38-47, 2012.

TOMEI, M. C.; PASCUAL, J. S.; ANGELUCCI, D. M. Analysing performance of real textile wastewater bio-decolourization under different reaction environments. **J. Clean. Prod.**, v. 129, p. 468–477, 2016.

USGS - U.S. Department of the Interior, 2022. **Microcystis aeruginosa Microscopic View**. Disponível em: <https://www.usgs.gov/media/images/microcystis-aeruginosa-microscopic-view>. Acessado em: 4 jan. 2022.

UTERMÖL, H.X. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. **Mitt. Int. Verein. Limnol.**, v. 9, p. 1 - 38, 1958.

VENTURA-CAMARGO, B.; MARIN-MORALES, M. Azo Dyes: Characterization and Toxicity– A Review. **Textiles and Light Industrial Science and Technology**, v. 2, n. 2, 2013.

VIJAYAKUMAR, S.; THAJUDDIN, N.; MANOHARAN, C. Role of cyanobacteria in the treatment of dye industry effluent. **Pollution Research**, v. 24, p. 69 - 74, 2005.

VIJAYAKUMAR, S., THAJUDDIN, N., MANOHARAN, C. Biodiversity of cyanobacteria in industrial effluents. **Acta Botanica Malacitana**, v. 32, p. 27-34, 2007.

VIJAYAKUMAR, S.; MANOHARAN, C. Treatment of dye industry effluent using free and immobilized cyanobacteria. **J. Biorem. Biodeg.**, v. 3, p. 1 – 6, 2012.

WALSBY, A. E.; BOOKER, M. J. Changes in buoyancy of a planktonic blue-green alga in response to light intensity. **British Phycological Journal**, v. 15, p. 311 – 319, 1980.

WANG, XINGYU; XIE, MEIJUAN; WU, WEI; SHI, LIMEI; LUO, LAN; LI, PENGFU. Differential sensitivity of colonial and unicellular *Microcystis* strains to an algicidal bacterium *Pseudomonas aeruginosa*, **Journal of Plankton Research**, v. 35, n. 5, p. 1172–1176, 2013.

WEST, I.N.C.; GULLEY, D. TOXSTAT 3.5. Wyoming: University of Wyoming. Wu, X., Kong, F. & Zhang, M. Photoinhibition of colonial and unicellular *Microcystis* cells in a summer bloom in Lake Taihu. **Limnology**, v. 12, p. 55–61, 1995.

YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, p. 1193 – 1226, 2019.

ZAKHIA, F.; JUNGBLUT, A-D.; TATON, A.; VINCENT, W. F.; WILMOTTE, A. Cyanobacteria in cold ecosystems. **Springer-Verlag**, Berlin, p. 121–135, 2008.

ZASTEPA, A.; PICK, F. R.; BLAIS, J. M.; SALEEM, A. Analysis of intracellular and extracellular microcystin variants in sediments and pore waters by accelerated solvent extraction and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Anal Chim Acta**, v. 872, p. 26 – 34, 2015.

ZHANG, W.; LIU, W.; ZHANG, J.; ZHAO, H.; ZHANG, Y.; QUAN X.; JIN, Y. Characterisation of acute toxicity, genotoxicity and oxidative stress posed by textile effluent on zebrafish. **Journal of Environmental Sciences**, 24, n. 11, p. 2019–2027, 2012.

ZURAWELL, R.W.; CHEN, H.; BURKE, J.M.; PREPAS, E.E. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. **J. Toxicol. Environ. Health B**, v. 8, n. 1, p. 1 – 37, 2005.