
ECOLOGIA

ERICA JANAINA RODRIGUES DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE CORANTES
AZÓICOS POR *Allium cepa* E ESTUDO DA
CAPACIDADE DE REMOÇÃO DESTES COMPOSTOS
EM SOLUÇÃO POR
*Saccharomyces cerevisiae***

ERICA JANAINA RODRIGUES DE ALMEIDA

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE CORANTES AZÓICOS POR *Allium cepa* E ESTUDO DA CAPACIDADE DE REMOÇÃO DESTES COMPOSTOS EM SOLUÇÃO POR *Saccharomyces cerevisiae*

Orientador: PROF. DR. CARLOS RENATO CORSO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Ecólogo.

Rio Claro
2010

576 Almeida, Erica Janaina Rodrigues
A447a Avaliação da toxicidade de corantes azóicos por *Allium cepa* e estudo da capacidade de remoção destes compostos em solução por *Saccharomyces cerevisiae* / Erica Janaina Rodrigues Almeida. - Rio Claro : [s.n.], 2010
84 f. : il., figs., gráfs., fots.

Trabalho de conclusão de curso (Ecologia) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Carlos Renato Corso

1. Microorganismos. 2. Toxicidade. 3. Corantes têxteis. 4. *Allium cepa*. 5. *Saccharomyces cerevisiae*. 6. Biodegradação. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

*Sei que minha caminhada tem um destino e uma direção,
Por isso devo medir meus passos,
Prestar atenção no que faço e no que fazem
os que por mim também passam ou pelos quais passo eu...
Que eu não me iluda com o ânimo e o vigor dos primeiros trechos,
porque chegará o dia em que os pés não terão tanta força
e se ferirão no caminho e se cansarão mais cedo...
Todavia, quando o cansaço houver, que eu não me desespere
e acredite que ainda terei forças para continuar,
principalmente quando houver quem me auxilie...
É oportuno que, em meus sorrisos, eu me lembre de que existem os que choram,
que, assim, meu riso não ofenda a mágoa dos que sofrem.
Por outro lado, quando chegar a minha vez de chorar,
que eu não me deixe dominar pela desesperança,
mas que eu entenda o sentido do sofrimento,
que me nivela, que me iguala, que torna todos os homens iguais...
Quando o dia brilhar, que eu tenha vontade de ver a noite
em que a caminhada será mais fácil e mais amena;
Quando for noite, porém, e a escuridão tornar mais difícil a chegada,
que eu saiba esperar o dia como aurora, o calor como bênção...
Que eu perceba que a caminhada sozinho pode ser mais rápida, mas muito mais vazia...
Quando eu tiver sede, que encontre a fonte no caminho...
Quando eu me perder, que ache a indicação, a seta, a direção...
Que eu não siga os que desviam, mas que ninguém se desvie seguindo os meus passos...
Que a pressa em chegar não me afaste da alegria
de ver as flores simples que estão à beira da estrada...
Que eu não perturbe a caminhada de ninguém; que eu entenda que seguir faz bem,
mas que, às vezes, é preciso ter-se a bravura de voltar atrás,
recomeçar e tomar outra direção...
Que eu chegue, sim, mas, ainda mais importante,
que eu faça chegar quem me perguntar...*

- Drumond -

Dedico a...

Meus pais Francisco e Adinalva,
 *“Chamá-los de amigos seria injusto.
Muito pouco para quem acompanha cada passo da minha vida.
Muito pouco para quem foi médico e guardião
nas minhas noites febris.
Pouco para quem já foi meu advogado de defesa
nas injustiças que, às vezes, a vida me impôs.
Pouco para quem me ama e me apóia incondicionalmente,
sem pedir nada em troca.
Pouco para quem muitas vezes abriu mão de seus sonhos
para que eu realizasse os meus.
Chamá-los de companheiros pacientes nos meus erros
e professores nas dúvidas trazidas da escola
ou colhidas na vida.
Com certeza a melhor maneira de exprimir de verdade tudo o
que já fizeram por mim é bem mais simples.
Basta chamá-los de Pai e Mãe”*

Meus irmãos queridos e amados Camila e Guilherme

*“Camila: amiga, irmã, companheira de todos momentos,
quem é responsável por fazer meus dias mais felizes,
que me incentiva e que me apóia, e quem nunca me
deixou desistir, mesmo nos momentos mais difíceis. A quem
eu amo e vou amar cada segundo da minha vida.
Gui: meu menino, quem tem o sorriso mais sincero e
aconchegante desse mundo. Um presente de Deus que chegou
a nossa família para nos iluminar e nos dar um motivo para
sorrir. Quem enche nosso coração de amor e paz.”*

*Nem todas as palavras do mundo seriam suficientes para expressar o
quanto eu os amo e sou grata a vocês. E o quanto eu sou orgulhosa de fazer
parte dessa FAMÍLIA maravilhosa e para mim mais do que perfeita.
Vocês com certeza são um presente que DEUS por algum motivo resolveu
me dar, e a cada dia eu agradeço em oração por essa benção!*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS pelo dom da vida, e por colocar em meu caminho pessoas maravilhosas que me ajudaram a ser o que sou hoje, por ter me dado força nos momentos mais difíceis e por iluminar e proteger meus caminhos!

Aos meus pais Francisco e Adinalva, pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos, tenham sido eles bons ou ruins. Agradeço por fazerem de mim a mulher que sou hoje, vocês são o exemplo que eu quero ter para minha vida, e para mim é o meu maior orgulho dizer que sou filha de vocês, Obrigada por tudo. Amo vocês acima de tudo.

Aos meus irmãos, Camila e Guilherme, responsáveis por iluminar meus dias, me dar motivos para sorrir, e encher meu coração de alegria. Vocês são meus motivos para seguir em frente e nunca desistir. Amo demais. E obrigada por fazerem parte da minha vida.

Ao Professor Corso a quem devo a realização desse trabalho, pois sem o senhor nada disso poderia ter sido concretizado. Obrigada Professor pela confiança, pela paciência, por acreditar em mim e apoiar minhas idéias maluquetes, como o senhor mesmo diz. Exemplo de profissional, Mestre e Amigo, que não faltou comigo em nenhum momento. Quem eu tenho orgulho de trabalhar e tive o prazer de conhecer. Peço a Deus todos os dias que ilumine seus caminhos e de sua família e espero ainda trabalhar com o senhor por um bom tempo, afinal o mestrado nos aguarda. Muito obrigada meu Mestre!

A Fapesp por financiar esse projeto e tornar meu sonho possível de ser realizado. Ao Lab. Multi, agradeço a todos vocês, Beto, Grazy, Chal, Bill e Burns, pela ótima convivência e por fazer dos momentos de trabalho, momentos agradáveis e gostosos de serem vividos. Beto agradeço em especial a você por ter me ensinado quase tudo que eu sei de um laboratório hoje. Obrigado pela paciência e confiança, pra mim é mais do que um orgulho trabalhar ao seu lado. Agradeço também a todos os outros técnicos, docentes e funcionários que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Aos meus amigos velhos e novos, pessoas que vou levar pra minha vida inteira. Amigos que hoje considero meus irmãos, cada um com sua particularidade, com seu jeitinho especial foi chegando e ficando. Não vejo mais minha vida sem a presença de cada um de vocês. Obrigada galera pelos momentos mais que perfeitos que nós vivemos nesses quatro anos de convivência, obrigada pelas risadas, pelos choros, obrigada por existirem. Vou tentar agradecer um pouco a cada um de vocês, mas isso não será nada fácil. Então lá vai.

Tici com certeza conhecer você foi uma das melhores coisas que me aconteceu nesses quatro anos, não sou muito boa com as palavras e você sabe bem disso, mais obrigada por

fazer parte da minha vida, obrigada por ser minha amiga, por aturar meu mau humor, por cuidar muitas vezes de mim, ouvir meus desabafos, e o melhor rir e se divertir comigo. Você com certeza é mais uma irmã que Deus me deu, e nada que eu falasse aqui seria o suficiente pra expressar o quanto eu amo você.

Guanduzinha macia, te amo muito. Obrigada por tudo, tê-la como amiga é um orgulho. Você é a pessoa mais sorridente, forrozeira e batalhadora que eu conheço, é impossível traduzir em palavras toda sua maciez. E nunca perguntem para ela de onde ela veio transferida, não façam isso... rrsrrs Te amo demais!

Rep. Madrugas, ai meu Deus, o que seriam dos meus dias em Rio Claro sem vocês heim. É impossível imaginar isso, eu sinceramente não consigo. Pakito, amigo e irmão, é o oquinho mais doce que Deus já colocou nesse mundo. É quem me faz sorrir, é quem me dá os melhores conselhos, é quem eu amo de um tanto que não consigo explicar. É um menino homem que já não se encontra mais por aí, espécie mais do que rara. Gosta de pakitar as vezes, mas o que seria de nós sem esses seus momentos. Zeca, ou melhor Zequinha, adoro seu mau humor, ainda bem que ele não é contagiante. Eu te amo demais viu, não se esqueça disso nunca. Tulio, o que dizer de você heim, meu confidente, quem me escuta sem me criticar (as vezes só), quem sempre diz que tudo vai melhorar. E juro que vou sentir muita falta de dizer “Acordaaa Tulioo”. Obrigada por existir em minha vida. Te amo muito menino. Demoro ou Demis, você é sem dúvida uma das pessoas mais espontâneas e engraçadas que eu conheço. Obrigada por ser meu amigo, obrigada pelos momentos de alegria que vivemos nesses quatro anos. Te amo demais. Concluindo Rep. Madrugas OBRIGADA. Amo demais todos vocês!

Pan obrigada pelos momentos de desbravadores em campo, pelas risadas e pelos momentos de alegria muito bem vividos. Dudu com seu violão e dom pra arte embalou nossas vidas durante esses quatro anos, com melodias doces e mais que contagiantes. Caramelo você sem dúvida foi quem melhor se expressou nesses quatro anos, e me diz uma coisa, “você tem dado”, ou tudo isso seria um motivo de “chacota”. Obrigada meninos. Amo demais vocês também.

Obrigada a toda a Turma de Ecologia 2007, vocês foram mais do que especiais pra mim, e nada do que eu vivi seria possível sem a presença de cada um de vocês.

Daia nem lembro mais a quanto tempo a gente se conhece, obrigada pelos momentos maravilhosos que já passamos juntas, e espero que muitos mais momentos assim apareçam em nossos caminhos. Obrigada por ser minha amiga, obrigada por me fazer rir, e por ter entrado em meu caminho.

Tchuczinha jamais esqueceria de você. Te amo muito minha baixinha. E você heim Tofuzinho, com certeza será um dos maiores médicos que esse país já teve. Mesmo estando longe, saiba que eu te amo e tenho orgulho de ser sua amiga.

E por fim agradeço a todas as pessoas que passaram pela minha vida até aqui e que de alguma forma contribuíram pra eu ser a pessoa que sou hoje. Obrigada por Tudo Pessoal. E eu só tenho mais uma coisa a dizer “*só enquanto eu respirar vou me lembrar de todos vocês!*”.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO -----	9
2. OBJETIVOS -----	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	12
3.1. Problemas Ambientais Causados por Efluentes de Indústrias Têxteis	12
3.2. Corantes Têxteis-----	13
3.3. Toxicidade dos Corantes Têxteis-----	16
3.4. Testes de Toxicidade-----	17
3.5. Testes de Toxicidade com <i>Allium cepa</i> -----	18
3.6. Sistemas de Tratamentos de Efluentes Têxteis-----	18
3.7. Mecanismos de Biossorção-----	22
3.8. Mecanismos de Biodegradação-----	23
3.9. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	24
4. MATERIAL E MÉTODOS -----	26
4.1. Material e Aparelhos utilizados-----	26
4.2. Acid Orange 7-----	26
4.3. Direct Violet 51-----	27
4.4. Chrysoidine-----	28
4.5. Preparo das soluções de Corantes e Controle Positivo-----	28
4.6. <i>Allium cepa</i> -----	30
4.7. Teste de Toxicidade-----	31
4.8. Análise Qualitativa e Quantitativa dos Corantes-----	32

4.9.	Preparo da suspensão de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	33
4.10.	Obtenção do Peso Seco das Suspensões de <i>S. cerevisiae</i> -----	33
4.11.	Análises Espectrofotométricas UV-VIS-----	33
4.11.1.	Testes de Biossorção-----	33
4.11.2.	Testes de Biodegradação-----	34
4.12.	Testes de Toxicidade Após os Experimentos de Remoção-----	36
4.12.1.	Teste de Toxicidade Após Biossorção e Biodegradação-----	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	37
5.1.	Testes de Toxicidade-----	37
5.2.	Obtenção do Peso Seco das Suspensões de <i>S. cerevisiae</i> -----	45
5.3.	Obtenção dos Espectros de Absorção dos Corantes-----	45
5.3.1.	Obtenção dos Comprimentos de Onda Máximos dos Corantes-----	45
5.3.2.	Obtenção dos Espectros de Absorção para o teste de Biossorção-----	50
5.3.3.	Obtenção dos Espectros de Absorção para o teste de Biodegradação	54
5.4.	Análises Espectrofotométricas UV-VIS-----	58
5.4.1.	Testes de Biossorção-----	58
5.4.2.	Testes de Biodegradação-----	63
5.5.	Testes de Toxicidade Após Experimentos de Remoção-----	68
5.5.1.	Testes de Toxicidade Após Experimento de Biossorção-----	68
5.5.2.	Teste de Toxicidade Após Experimento de Biodegradação-----	71
6.	CONCLUSÕES -----	74
	REFERÊNCIAS -----	76

1. INTRODUÇÃO

A medida que a humanidade aumenta sua capacidade tecnológica de intervir na natureza, para satisfazer suas necessidades e desejos crescentes, surgem os conflitos quanto ao uso do espaço, dos recursos e da disposição dos resíduos no ambiente. Nos dois últimos séculos, um modelo de civilização se impôs, trazendo a industrialização como forma de produção e organização de trabalho, e como consequência de sua produção, a disponibilidade de uma diversidade enorme de substâncias químicas potencialmente tóxicas e a geração de resíduos em quantidade significativamente prejudicial ao ambiente (ZAGATTO, 2006).

Atualmente a produção e eliminação dessas substâncias tóxicas pelas indústrias é um dos mais importantes assuntos em controle de poluição, o que tem levado os pesquisadores a buscar ferramentas para diminuir ou eliminar a toxicidade de efluentes gasosos, líquidos e sólidos, formados em distintos processos, sempre levando em conta as regulamentações e legislações voltadas à proteção ambiental (FORGIARINI, 2006).

Nesse contexto, temos a indústria têxtil que é uma das primeiras indústrias na história da maioria dos países, inclusive do Brasil, sendo responsável pela geração de muitos empregos diretos e indiretos. Esta característica faz com que ela assuma um papel de extrema importância na economia, bem como na qualidade de vida da população que atua nesse segmento (SILVA FILHO et al. 2007). Contudo ela também é responsável por produzir grande quantidade de resíduos com alto potencial tóxico e altamente nocivos ao ambiente.

Dentre as diversas substâncias utilizadas pelas indústrias têxteis como matéria-prima, temos os corantes sintéticos. Hoje em dia cerca de 10.000 corantes são produzidos em escala industrial, sendo que aproximadamente 2.000 encontram-se disponíveis para o segmento têxtil, onde a sua utilização é extensiva (RODRIGUES, 2003; DALLAGO et al. 2005). Estima-se que aproximadamente 15% da produção mundial de corantes é perdida para o meio ambiente durante a sua síntese, processamento ou aplicação. O que é um fator preocupante visto que cerca de um milhão de toneladas é dispersa no ambiente anualmente (SHINTAKU et al. 2004; GUARATINI; ZANONI, 2000).

De acordo com Guaratini e Zanoni (2000), o lançamento não controlado destes resíduos em maior ou menor nível de concentração fatalmente interferirá na absorção de luz pelos habitantes vegetais e animais do ambiente aquático, na potencial acumulação e/ou ainda transportados para as estações de tratamento de água municipais (principalmente os corantes com alta solubilidade em água) contribuindo para a contaminação dos mananciais e da água distribuída à população.

2. OBJETIVOS

Entendendo todas essas problemáticas, o presente estudo teve os seguintes objetivos:

- Determinar o grau de toxicidade dos corantes têxteis azóicos Acid Orange 7, Direct Violet 51 e Chrysoidine utilizando como organismo-teste bulbos de *Allium cepa*;
- Remover os corantes das soluções por meio de processos de bio sorção e biodegradação, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*;
- Realizar novos testes de toxicidade para determinar o que ocorreu com a toxicidade dos corantes após os processos bio sortivo e de biodegradação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Problemas Ambientais Causados Por Efluentes de Indústrias Têxteis

O alto nível de industrialização, a necessidade do aumento de produção aliada à alta densidade populacional, distribuídas principalmente em áreas geográficas próximas aos baixios de rios e regiões litorâneas, e a intensa atividade agrícola têm aumentado significativamente os lançamentos de despejos e resíduos nos cursos d'água. Aliados a esses fatos, a quantidade, a diversidade, o transporte e o consumo de produtos químicos aumentam a probabilidade dos riscos nesses ambientes (ZAGATTO, 2006). Com estes ingredientes os problemas decorrentes da ação antrópica têm atingido dimensões catastróficas, podendo ser observadas por meio de alterações na qualidade do solo, ar e água (KUNZ; PERALTA-ZAMORA, 2002).

Sendo assim os efluentes industriais têm contribuído significativamente para as modificações ambientais, reduzindo a diversidade de espécies autóctones e aumentando desordenadamente a densidade de determinadas espécies indesejáveis. São exemplos típicos dessas modificações as freqüentes florações de algas, o significativo decréscimo da qualidade das águas, as freqüentes mortandades de peixes e, até mesmo, a morte de rios (ZAGATTO, 2006).

Nesse contexto, dentre os vários resíduos industriais gerados os têxteis apresentam grande potencial de poluição principalmente quando lançado em mananciais (SILVA FILHO et al. 2007). Eles são considerados de alto poder tóxico para a biota aquática, além de causarem eutrofização das águas, alterações na DBO e no oxigênio dissolvido, diminuição da fotossíntese, devido à diminuição de entrada de luz na água, e diferentes graus de toxicidade, além de serem causadores potenciais de mutagênese e carcinogênese em organismos que vierem a entrar em contato com o corante, ou com seus resíduos. Quando estes efluentes sofrem reações químicas com outros compostos no meio, ou então quando são biodegradados por microrganismos, pode ocorrer, por exemplo, a formação de aminas aromáticas, as quais podem muitas vezes ser mais tóxica que o próprio corante inicial contido no efluente (RODRIGUES, 2003).

Os efluentes têxteis caracterizam-se por ter uma baixa degradabilidade sendo considerado um dos mais difíceis de serem tratados. A origem sintética e a estrutura molecular complexa dos corantes dificultam a sua degradação, pois grande parte dos microrganismos presentes na natureza não possuem enzimas específicas para realizar esse processo. Além disso, estes resíduos não têm um método adequado de tratamento, sendo que, efluentes tratados não eficientemente são descartados no ambiente contendo ainda alta carga poluidora, levando a deterioração dos ambientes aquáticos (DELLAMATRICE et al. 2008).

3.2. Corantes Têxteis

Em um sentido amplo, o termo corante designa toda e qualquer substância que dá cor, colore, tingue, pinta. Em química, corante denomina apenas as substâncias de caráter aromático, capazes de colorir irreversivelmente um substrato suporte (DELLAMATRICE et al. 2008). Os corantes sintéticos são utilizados para a coloração de vários substratos, incluindo papel, couro, pele, cabelos, alimentos, plásticos e materiais têxteis (CONTATO, 1995). Eles são retidos no substrato por adsorção física, sais ou formação de complexos com metais, solução, retenção mecânica ou pela constituição de pontes químicas covalentes. (DELLAMATRICE et al. 2008).

Os corantes sintéticos têxteis representam um grande grupo de substâncias orgânicas que podem apresentar efeitos indesejáveis ao meio ambiente, e, além disso, algumas delas podem apresentar riscos aos usuários (GUARATINI; ZANONI, 2000).

Devido à sua própria natureza, eles são altamente detectáveis a olho nu, sendo visíveis em alguns casos mesmo em concentrações tão baixas quanto 1 ppm (1 mg/L). Este

comportamento apresenta a desvantagem de que uma pequena quantidade lançada em efluentes aquáticos pode causar uma acentuada mudança de coloração dos rios, mas a vantagem de que a presença de corantes pode ser facilmente detectada pelo público e autoridades que controlam os assuntos ambientais (GUARATINI; ZANONI, 2000).

Tendo em vista que corante, são compostos complexos, muitas vezes é impossível traduzi-los por uma fórmula química, - alguns são misturas de vários compostos e outros não possuem estrutura química definida. Por esse motivo a nomenclatura usual raramente é usada, preferindo-se utilizar os nomes comerciais. Para identificar os mesmos corantes, comercializados com diferentes nomes, utiliza-se o Colour Index (CI), publicação da American Association of Textile Chemists and Colorists e da British Society of Dyers and Colorists, que contém uma lista organizada de nomes para designar os diversos tipos de corantes existentes (ABIQUIM, 2010).

Segundo Guaratini e Zanoni (2000), os corantes podem ser classificados de acordo com sua estrutura química (antraquinona, azo etc) ou de acordo com o método pelo qual é fixada a fibra têxtil. Sendo assim, os principais grupos de corantes classificados pelo modo de fixação são:

- **Corantes reativos:** possuem um grupo eletrofilico capaz de formar ligação covalente com grupos hidroxila das fibras celulósicas, com grupos amino, hidroxila e tióis das fibras protéicas e também com grupos amino das poliamidas. Os principais corantes reativos contêm a função azo e antraquinona como grupos cromóforos e os grupos clorotriazinila e sulfatoetilsulfonila como grupos reativos.
- **Corantes diretos:** caracterizam-se como compostos solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose (algodão, viscose etc.) por meio de interações de Van der Waals. Esta classe de corantes é constituída principalmente por corantes contendo mais de um grupo azo (diazó, triazo etc.) ou pré-transformados em compostos metálicos.
- **Corantes ácidos:** correspondem a um grande grupo de corantes aniônicos portadores de um a três grupos sulfônicos. Estes grupos substituintes ionizáveis tornam o corante solúvel em água e têm vital importância no método de aplicação do corante em fibras protéicas (lã, seda) e em fibras de poliamida sintética.
- **Corantes básicos:** correspondem a um grupo de corantes catiônicos, solúveis em água, que é utilizado para tinturas em nylon, poliésteres, lã e acrílicos. Podem ser corantes azóicos, metano, antraquinona, dentre outros.

- **Corantes a cuba:** é uma grande e importante classe de corantes baseada nos índigos, tiondígoídes e antraquinóides. São aplicados praticamente insolúveis em água, porém durante o processo de tintura eles são reduzidos em solução alcalina, transformando-se em composto solúvel.
- **Corantes de enxofre:** é uma classe de corantes que após a aplicação caracterizam-se por compostos macromoleculares com pontes de polissulfetos, os quais são altamente insolúveis em água. Estes compostos têm sido utilizados principalmente na tintura de fibras celulósicas, conferindo cores pretas, verde oliva, azul marinho, marrom, apresentando boa fixação. É um grupo pequeno, mas muito empregado por seu baixo custo. Entretanto, estes corantes usualmente apresentam resíduos altamente tóxicos.
- **Corantes dispersivos:** é uma classe de corantes insolúveis em água aplicados em fibras de celulose e outras fibras hidrofóbicas através de suspensão. Este grupo de corantes tem sido utilizado principalmente para tinturas de fibras sintéticas tais como acetato, celulose, nylon e poliéster.
- **Corantes pré-metalizados:** são úteis principalmente para tintura de fibras protéicas e poliamida. São caracterizados pela presença de um grupo hidroxila ou carboxila na posição orto em relação ao cromóforo azo, permitindo a formação de complexos com íons metálicos. Neste tipo de tintura explora-se a capacidade de interação entre o metal e os agrupamentos funcionais portadores de pares de elétrons livres, como aqueles presentes nas fibras protéicas. A desvantagem ecológica deste tipo de corante está associada ao alto conteúdo de metal presente nas águas de rejeito.

Entre todos os corantes sintéticos sintetizados hoje, a classe com maior número de representantes listados no Colour Index é a dos azóicos (RODRIGUES, 2010). Eles constituem o maior e mais diversificado grupo de corantes produzidos (PANDEY et. al 2006), representando cerca de 60 % do total consumido no mundo, e são extensivamente utilizados no tingimento de fibras têxteis. Essa grande utilização pode ser explicada pelo fato de que eles permitem um método de tingimento de fibras celulósicas com alto padrão de fixação e alta resistência contra luz e umidade (GUARATINI; ZANONI, 2000).

Esses compostos caracterizam-se por apresentarem em sua estrutura química um ou mais grupamentos $-N=N-$ ligados a sistemas aromáticos (KUNZ; PERALTA-ZAMORA, 2002). Eles geralmente são recalcitrantes à degradação devido à sua natureza xenobiótica (PANDEY et al. 2006), e possuem uma elevada resistência frente a processos aeróbios de biodegradação e, conseqüentemente resistem a muitos dos processos de tratamento de

resíduos (SOUZA; PERALTA-ZAMORA, 2006). Contudo, microrganismos extremamente versáteis desenvolvem sistemas enzimáticos capazes de realizar a descoloração e mineralização de corantes azóicos em determinadas condições ambientais (PANDEY et al. 2006).

O grande problema destes compostos esta na sua biotransformação, pois esta pode levar à formação de aminas aromáticas livres, benzidinas e outros intermediários com grande potencialidade carcinogênica (GUARATINI; ZANONI, 2000).

3.3. Toxicidade dos Corantes Têxteis

A maior parte dos corantes não apresenta toxicidade elevada, sendo considerados mais tóxicos os básicos e diazo diretos (BUMPUS, 1995 apud DELLAMATRICE, 2008). Estudos têm mostrado que os efeitos deletérios da presença de azo corantes nos corpos d'água vão muito além da poluição visual, (PEREIRA; FREIRE, 2005; KUNZ, PERALTA-ZAMORA, 2002), pois eles são altamente prejudiciais para o meio ambiente. Devido a isso novas técnicas de tratamento mais rigorosas estão sendo instaladas nas indústrias, com o intuito de minimizar a concentração dessas substâncias e conseqüentemente os subprodutos que são gerados durante os seus processos de degradação (GHOREISHI; HAGHIGHI, 2003).

Os corantes apresentam alta recalcitrância no meio aquático, e sua persistência deve-se ao fato deles apresentarem em sua composição química uma grande quantidade de anéis aromáticos, ligações azóicas, aminas e grupos sulfônicos. Estas características conferem aos efluentes têxteis contendo corante um lento processo de biodegradação, além disso, os resíduos destes compostos possuem um alto potencial tóxico para os organismos a eles expostos (VITOR; CORSO, 2008; CARNEIRO et al. 2004).

A toxicidade dos compostos azo para o ser humano está associada com a redução dessas substâncias e a clivagem da ligação azo, responsável pela formação de aminas aromáticas. Vários corantes azóicos utilizados em alimentos, medicamentos e cosméticos podem ser reduzidos em meio anaeróbio no trato intestinal (CHUNG et al. 1978) assim pode-se supor que a ingestão de determinados corantes azóicos é um risco para a saúde humana. Bonser (1956) relatou a indução de tumores na bexiga pelo 1-amino-2-naftol, gerado no processo de redução do Acid Orange 7.

Sharma et al. (2009) detectaram a possibilidade de bioacumulação de corantes em peixe, o que poderia acarretar na entrada dessas substâncias na cadeia alimentar. O estudo também mostrou que efluentes têxteis contendo corantes azóicos foram citotóxicos e

mutagênicos para eritrócitos de peixes, reduzindo sua quantidade e causando distúrbios na sua morfologia.

3.4. Testes de Toxicidade

A toxicidade é uma propriedade inerente à substância que produz efeitos danosos aos organismos a ela expostos, durante um determinado período de tempo, e em concentrações específicas (ABNT, 2004). Sendo assim, os testes de toxicidade consistem em expor organismos representativos a essas substâncias e avaliar os efeitos causados. Os efeitos tóxicos vão desde mortalidade até efeitos chamados sub-letais, tais como mudança no crescimento, no desenvolvimento, na reprodução, no comportamento etc (KAMIDA, 2004).

Os ecossistemas aquáticos recebem inúmeras substâncias químicas que são diretamente introduzidas no meio ambiente através dos despejos industriais e domésticos ou indiretamente, por águas de chuva ou carreadas pelo escoamento superficial dos solos. Sem dúvida esse aporte constante de substâncias químicas no meio ambiente altera o equilíbrio dos ecossistemas (VALENTIM; DEZOTTI, 2008).

Portanto, além das determinações químicas e análises de parâmetros físico-químicos, os testes de toxicidade com organismos aquáticos, e outros organismo foram elaborados para fornecer dados qualitativos e quantitativos sobre os efeitos tóxicos de substâncias químicas sobre os organismos aquáticos, e vem se mostrando muito úteis para orientar decisões de pesquisadores, indústrias e agências ambientais, voltadas para evitar ou minimizar os impactos da poluição hídrica (VALENTIM; DEZOTTI, 2008)

Para se compreender os efeitos das substâncias tóxicas temos os testes de toxicidade aguda e o teste de toxicidade crônica. O teste de toxicidade aguda corresponde à primeira etapa de um teste de toxicidade, e é responsável por fornecer informações sobre a letalidade de uma substância ou uma mistura, sendo utilizado para determinar a concentração suficiente para dizimar 50% dos organismos-teste. Essa concentração é estimada pela exposição a uma série de diferentes concentrações de uma solução. O efeito agudo é definido como uma resposta severa e rápida a um estímulo, a qual se manifesta em um intervalo curto de tempo variando de 0 a 96 horas (ABNT, 2003).

O teste crônico expõe os organismos-teste ao agente potencialmente tóxico durante todo ou parte de seu ciclo de vida, incluindo estágios sensíveis como juventude, crescimento, maturidade sexual e reprodução. Avaliam-se efeitos como desenvolvimento e reprodução. O resultado é expresso em Concentração de Efeito Não Observado - CENO, sendo esta a mais

alta concentração do agente testada que não provoca efeito quando comparada com o controle. E em Concentração de Efeito Observado - CEO, que é a mais baixa concentração que causa efeito significativo sobre a população quando comparada ao controle (BRENTANO, 2006).

3.5. Testes de Toxicidade com *Allium cepa*

A aplicação dos ensaios de toxicidade fornece informações sobre a potencialidade de uma substância química apresentar ou não efeitos tóxicos, a natureza desses efeitos e seu grau de toxicidade. Com esse conhecimento prévio pode-se definir em quais condições um produto potencialmente perigoso, mas de grande utilização (talvez indispensável) pode ser empregado com o mínimo de risco para o meio ambiente (VALENTIM; DEZOTTI, 2008).

Testes de toxicidade com diversos organismos têm sido utilizados em países desenvolvidos e em desenvolvimento, como complemento às análises físico-químicas de diversas substâncias. Com o auxílio destes ensaios, podem-se estabelecer padrões de emissão que permitam identificar problemas de lançamento de misturas de substâncias tóxicas, estabelecer prioridades de controle em regiões críticas, viabilizar as ações corretivas apropriadas, bem como monitorar o ecossistema aquático, tendo em vista os usos predominantes das águas (CESAR et al. 1997).

Sendo assim, dentre os vegetais superiores utilizados como modelos teste, a espécie de angiospermas *Allium cepa* vem se mostrando um eficiente modelo genético de monitoramento ambiental (DAMBROS, 2008).

O ensaio com *Allium cepa* permite a realização experimentos em um curto espaço de tempo, com as vantagens de se ter um baixo custo e facilidade de manuseio, além de fornecer dados confiáveis. Ele é um teste sensível e mostra uma boa correlação com outros sistemas de teste. Assim, resultados positivos para toxicidade no teste de *Allium cepa* devem ser considerados como uma advertência e também uma indicação de que o produto testado pode trazer risco para o meio ambiente e também para a saúde humana (FISKESJÖ, 1985).

3.6. Sistemas de Tratamentos de Efluentes Têxteis

Em geral, os processos de tratamento estão fundamentados na operação de sistemas físico-químicos de precipitação- coagulação, seguidos de tratamento biológico via sistema de

lodos ativados. O sistema apresenta uma eficiência relativamente alta, permitindo a remoção de aproximadamente 80% da carga de corantes (KUNZ; PERALTA-ZAMORA, 2002).

As indústrias têxteis de grande porte dão preferência para os tratamentos biológicos de seus efluentes, enquanto indústrias de médio porte têm adotado sistemas de tratamento envolvendo métodos como coagulação química, adsorção por carbono ativado e, menos freqüentemente ultrafiltração. Esses sistemas são não-destrutivos, assim o volume dos rejeitos é diminuído, porém a disposição das fases sólidas ficam sem solução (DELLAMATRICE et al. 2008).

O aumento da complexidade e dificuldade para o tratamento de efluentes industriais de um modo geral tem levado à busca constante de novas metodologias para tratamento destes rejeitos. Dispomos de uma grande variedade de métodos físicos, químicos e biológicos e a escolha do melhor, ou melhores, métodos seguramente deve ser feita levando-se em conta os objetivos a serem alcançados com o tratamento (KUNZ; PERALTA-ZAMORA, 2002). As tabelas 1 e 2 mostram um resumo dos métodos não biológicos para tratamentos de efluentes, bem como as vantagens e desvantagens desses sistemas.

Para Guaratini e Zanoni (2000) o tratamento eficiente das águas de rejeito da indústria têxtil requer programas de investimento a longo prazo e alto custo. A implantação destes sistemas certamente requer trabalho substancial de engenharia civil com plantas de grandes áreas de construção e altos investimentos. É importante salientar que, a adequação de qualquer um dos métodos de tratamento escolhido para degradação do corante será muito mais efetivo, mais fácil e mais barato se realizado na estação de tratamento da indústria, ou seja, antes de atingir os mananciais. O aumento da diluição destes compostos na presença de outras descargas de origem industrial e doméstica em sistemas de esgoto comum, exigiriam procedimentos muito mais drásticos, sensíveis e caros para identificação e remoção específica destes corantes.

Tabela 1. Resumo dos tratamentos (não biológicos) disponíveis para efluentes têxteis.

	Princípios Gerais	Corantes Alvo	Vantagens	Desvantagens
Degradação Química Ozônio	Para tratamento de efluente têxtil o ozônio se mostra muito atrativo. Geralmente os cromóforos com grande número de conjugação de ligações duplas podem ser atacados pelo ozônio direta ou indiretamente, descolorando o efluente.	A dosagem aplicada no efluente depende do total de cor e COD presentes (agente oxidante poderoso com capacidade de reagir com inúmeros compostos).	Aplicado no estado gasoso: sem alteração do volume.	Meia-vida curta (20 minutos) implica na ozonação continuada, conseqüentemente o alto custo. Possível aumento da toxicidade de alguns intermediários de reação, o que implica no acompanhamento do processo através de testes de toxicidade.
Hipoclorito de Sódio (NaOCl)	Em solução é completamente dissociado a Na^+ e ClO^- , enquanto uma pequena porção é hidrolisada a hidróxido de sódio e ácido hipocloroso. O poder oxidante deste e do hipoclorito quebram as moléculas de corante.	Não indicado para os corantes dispersos e diretos. Boa ação para os corantes monoazo e antraquinona.	Inicia e acelera a clivagem da ligação azo.	Liberação de aminas aromáticas.
Eletrólise	A degradação da molécula é realizada eletroquimicamente através do potencial ou corrente controlada, ou através de componentes secundários gerados no processo.	Indicado para todas as classes de corantes.	Compostos resultantes da degradação não são tóxicos. Baixo ou gasto inexistente de compostos químicos.	Alto gasto de eletricidade. Porém a produção de reações paralelas que geram cloro, radicais hidroxila, tem diminuído a potencialidade do método.
Reações Fotoquímicas	Degrada moléculas de corantes a CO_2 e água, pelo uso de UV na presença de H_2O_2 . A degradação ocorre em função da formação de radicais hidroxila.	Inúmeros corantes, principalmente azóicos.	Sem produção de lodo. Mineralização de uma vasta gama de substâncias de relevância ambiental, inclusive muito corantes têxteis.	Formação de subprodutos como halídeos, metais, sais inorgânicos, aldeídos e ácidos carboxílicos. Problemas de ordem prática: como fonte de radiação ultravioleta artificial, penetração da radiação no meio de reação, dificuldades na separação dos fotocalisadores. Difícil implementação em larga escala pelos motivos acima citados.
Coagulação Eletrocinética	Adição de sulfato férrico e cloreto férrico.	Excelente remoção de corantes diretos.	Econômico e interessante método para remoção de corante.	Produção de grande volume de lodo, e conseqüentemente aumento do custo para a disposição final do lodo.

FONTE: Adaptado de Zollinger, 1991; Guaratini e Zanoni, 2000; Robinson et al. 2001; Kunz et al. 2002 apud Almeida, 2008.

Tabela 2. Resumo dos tratamentos (não biológicos) disponíveis para efluentes têxteis.

Método	Princípios Gerais	Corantes Alvo	Vantagens	Desvantagens
Técnicas de Adsorção	Passagem da amostra em adsorvente na forma de filtro. Carvão ativado, sílica gel, bauxita, resinas de troca iônica.	O sucesso da adsorção é determinado pela interação do corante e do adsorvente.	Efetivo para tratamento de pequenos volumes.	Lento e não econômico.
Carvão Ativado	A técnica mais usada e conhecida para remoção de corantes. Superfície adsortiva é positiva.	Remoção de corantes catiônicos mordentes, e ácidos, e em menor extensão corantes dispersos, direto e reativos.	Alta eficiência da remoção da cor.	Custo elevado. Reativação não é totalmente efetiva.
Alternativas (Turfa, serragem, e outros derivados de celulose, como bambu, casca de eucalipto e quitosana)	Adsorção.	Boa remoção de uma vasta gama de corantes, exceto os catiônicos. Boa capacidade adsortiva para corantes ácidos.	Bom adsorvente devido à estrutura celular.	Áreas específica para adsorção menor do que a do carvão ativado. Tempo de retenção elevado.
Troca-Iônica	O efluente é removido através de uma resina até que todos os sítios estejam saturados.	Corantes catiônicos e aniônicos podem ser removidos.	Regeneração sem perda dos adsorventes. Recuperação do solvente após o uso e remoção dos corantes solúveis.	Não efetivo para corantes dispersos. Custo elevado dos solventes orgânicos.
Coagulação/Filtração	Uso de polieletrólitos – $Al_2(SO_4)_3$, amônia e/ou flocculantes (sais de ferro e alumínio).	Tratamento mais adotado nas indústrias têxteis, geralmente seguidos de tratamento biológico.	Graus variados de sucesso para tratamento terciário do efluente, especialmente na remoção da cor.	Resultado depende do tipo de corante a ser removido, composição, concentração e fluxo do rejeito. A alta eficiência está ligada à utilização de um excesso de polieletrólitos, o que acrescenta grande volume de resíduo ao efluente e grande formação de lodo.
Fentons Reagentes H_2O_2-Fe (II) Sais.	Separação química que se utiliza da propriedade de sorção ou de ligação com o corante.	Descoloração de corantes solúveis e insolúveis.	Técnica química indicada quando o efluente é resistente ao ataque microbiano ou tóxico para a biomassa.	Geração de lodo devido à flocculação do reagente e das moléculas de corante.

FONTE: Adaptado de Zollinger, 1991; Guaratini e Zanoni, 2000; Robinson et al. 2001; Kunz et al. 2002 apud Almeida, 2008.

Oliveira (2005) ressalta que em estações de tratamento de esgotos que recebem efluentes de indústrias de tingimento contendo corantes não é recomendada a utilização de cloro nas etapas de desinfecção, pois esse processo, apesar de eliminar a cor dos corantes, pode levar à formação de compostos clorados mutagênicos ainda mais potentes que os corantes originais.

Aliado a tudo isso, uma visão moderna com relação a efluentes industriais deve estar baseada não somente no tratamento deste, e sim na busca constante da minimização de resíduos gerados a partir de tecnologias limpas, ou seja, o pensamento deve se voltar para a fonte do efluente dentro da fábrica e não somente como resolver o problema após sua geração (KUNZ; PERALTA-ZAMORA, 2002).

3.7. Mecanismo de Biossorção

As alternativas para o combate dos efeitos nocivos dos corantes lançados nos efluentes têxteis implicam numa interdisciplinaridade, pois muitos aspectos são de natureza química, física ou biológica e requerem, portanto, a associação de metodologias a fim de se atingir o objetivo principal, que é a gradual redução de problemas ambientais, causados por esses produtos (VITOR, 2005).

Todos os corantes utilizados na indústria têxtil são projetados para resistir ao suor, luz, substâncias químicas, incluindo agentes oxidantes e ataque microbiano. Devido a essas características, efluentes contendo corantes, são difíceis de serem tratados por métodos convencionais de descoloração físico-químicos e biológicos. (AKSU et al. 2008).

Assim a biossorção é utilizada para realizar a remoção das moléculas consideradas tóxicas de ambientes aquosos. Esse fenômeno pode ocorrer por adsorção à parede celular dos microrganismos ou outros substratos que permitam a deposição do corante, e também pela absorção intracelular destas substâncias, que venham a ter afinidade com organelas ou estruturas existentes dentro da célula (CORSO 1998). Técnicas de adsorção mostraram grande eficiência, capacidade e aplicabilidade em grande escala para remover corantes não biodegradáveis de efluentes têxteis. Para esse tipo de tratamento pode ser usado, por exemplo, carvão ativado, que possui grande capacidade de adsorção, devido a sua estrutura altamente porosa (AKSU et al. 2008).

O uso de superfícies biológicas de microrganismos como leveduras e fungos como materiais adsorventes na remoção dos corantes em meio aquoso também é bastante utilizado. As moléculas de corantes ficam retidas a esses microrganismos sem que ocorra a sua

biodegradação. Este fato é extremamente importante, pois permite que o corante seja removido da solução em que se encontra junto com o microrganismo ao qual está retido, evitando o desdobramento da molécula de corante em subprodutos tóxicos (FAHL, 2002).

As leveduras têm sido utilizadas para processos biossorbitivos por apresentarem características desejáveis, tais como alta resistência mecânica e osmótica (TRINDADE, 1986).

Sivasamy e Sundarabal (2010) testaram a biossorção do azo corante Orange G utilizando biomassa fúngica de *Aspergillus niger* e *Trichoderma* sp. Eles analisaram a capacidade de remoção em função de diferentes valores de pH e diferentes concentrações de biomassa, e constataram que a biossorção máxima para este corante ocorreu no pH 2. E que o fungo *Aspergillus niger* funcionou melhor como biossorvente no processo de remoção deste corante.

Enayatzamir et al. (2009) testaram a capacidade de biossorção dos corantes Direct Violet 51, Reactive Black 5, Ponceau Xylidine e Bismark Brown R pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado em alginato de cálcio e como células livres. Os resultados mostraram que os níveis de descoloração quando se utiliza o fungo imobilizado foram inferiores aos níveis de descoloração quando se utilizaram as células livres, especialmente para os corantes Reactive Black 5 e Bismark Brown R, mas ambos foram eficientes na descoloração das soluções.

Corso (1998) testou capacidade de biossorção dos corantes Direct Red 23, Direct Violet 51, Procion Red HE-7B e Procion Violet H3R em solução aquosa utilizando formas paramorfogênicas de *Aspergillus oryzae*. O estudo foi conduzido utilizando variação de pH, e biomassa pelletizada autoclavada e não autoclavada. Para todos corantes estudados, o pH que melhor se enquadrou em termos de capacidade de remoção frente às biomassas pelletizadas não autoclavadas e autoclavadas de *Aspergillus oryzae* foi o pH 2,5 e a biomassa autoclavada apresentou uma maior capacidade de remoção em todos os valores de pH.

3.8. Mecanismo de Biodegradação

A degradação biótica ou biodegradação refere-se ao processo em que um determinado microrganismo presente no ambiente, é capaz de converter uma estrutura química complexa em uma molécula mais simples. Eles utilizam essas moléculas como substrato, a fim de obter a energia necessária ao seu crescimento e metabolismo. A degradação de compostos xenobióticos por microrganismos pode ser aeróbia, com o uso de oxigênio como último

aceptor de elétrons, ou anaeróbia, tendo como substrato eletrofilicos sulfatos e nitratos. Normalmente, os processos aeróbios são mais rápidos, devido ao predomínio de microrganismos aeróbios com crescimento acelerado (BURATINI, 2006).

Comumente o processo de biodegradação de um determinado composto, resulta na formação de substâncias mais simples, mas em determinadas situações pode ocorrer a formação de espécies químicas mais complexas ou perigosas (MANAHAM, 1992), que é o que ocorre com corantes azóicos quando degradados por microrganismos, pois como já citado, a quebra principalmente das ligações azo pode levar à liberação de aminas aromáticas mutagênicas e potencialmente carcinogênicas (PASZCZYNSKI et al. 1995).

Azmi et al. (1998), relataram a biodegradação do corante Crystal Violet por *Phanerochaete chrysosporium*, e verificaram que em uma cultura líquida o corante testado desapareceu, porém outros subprodutos foram sintetizados. Os autores ainda afirmaram que o sistema lignolítico foi o responsável pela degradação do corante.

Rajaguru et al. (2000) testaram a degradação dos corantes sulfonados Orange G, Amido Black 10B, Direct Red 4BS e Congo Red em bioreatores compostos de fase anaeróbia sucedida por fase aeróbia onde foram observadas quebras das moléculas na fase aeróbia, com a produção de aminas aromáticas as quais foram totalmente degradadas na fase aeróbia.

Um estudo de biodegradação foi realizado por Glenn e Gold (1983), no qual eles descreveram a descoloração de três corantes poliméricos por *Phanerochaete chrysosporium*, e determinaram que o uso desses corantes acionava o sistema de degradação de lignina.

Machado et al. (2006) também descreveu a descoloração de 28 corantes reativos utilizados para o tingimento da fibra de algodão, utilizando os fungos basidiomicetos *Trametes villosa* e *Pycnoporus sanguineus*. Os fungos apresentaram um excelente desempenho na descoloração dos corantes atuando em diferentes estruturas químicas da molécula, reforçando o potencial destes fungos para trabalhos de descontaminação do meio ambiente.

3.9. *Saccharomyces cerevisiae*

As leveduras são fungos unicelulares e importantes sistemas-modelo para a pesquisa básica na biologia de células eucarióticas. *Saccharomyces cerevisiae* e espécies filogeneticamente próximas são as mais empregadas pelo homem, que as utilizam em várias indústrias de fermentação alimentícia e de bebidas (KAPOOR; VIRARAGHAVAN, 1995).

As principais características que tornam as leveduras microrganismos interessantes para processos industriais é a capacidade de desenvolvimento em substrato barato e facilmente disponível, facilidade de obtenção e multiplicação, possibilidade de cultivo independente do ambiente, pequena exigência de água e de área, além de sintetizar produtos de valor nutritivo (OURA, 1995).

A ação redutora desta levedura foi observada pela primeira vez, pela adição de enxofre a uma suspensão de fermento biológico em solução de açúcar, onde foi verificada o desprendimento de sulfeto de hidrogênio (RODRIGUES; MORAM, 2001).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material e Aparelhos Utilizados

- Aparelhos: Espectrofotômetro Shimadzu Ultravioleta – Visível (UV-VIS) modelo 2401 PC, Estufa de Cultivo da marca Nova Ética, Balança Analítica Modelo ADA 210/L, Centrifuga Centribio modelo 80-2B, Centrifuga Fanem modelo Excelsa 2, Agitador de Tubos Phoenix modelo AP56, Agitador Magnético modelo Fisatom 752, pHmetro Digimed modelo DMPH-2, Autoclave Fabe modelo 104C, Câmara de Germinação tipo BOD Marconi modelo MA403.

- Material: tubos, béqueres, espátulas, balões volumétricos, pissetas, bastão de vidro, provetas, conta – gotas, e outros materiais de uso comum em laboratório.

- Reagentes: corantes Acid Orange 7, Direct Violet 51, Chrysoidine, todos da “Aldrich Chemical Company”, bulbos de *Allium cepa*, ZnSO₄ 0,05M, fermento biológico fresco da marca “Fleischman”.

4.2. Corante Acid Orange 7

Corante fabricado pela Aldrich Chemical Company, Inc.

Pode ser encontrado com o nome Orange II

C.I. 15510

Solubilidade: Solúvel em água

Grau de Pureza: 90%

Peso molecular: 350,33

Absorbância máxima: 483 nm

Estrutura química: Figura 1

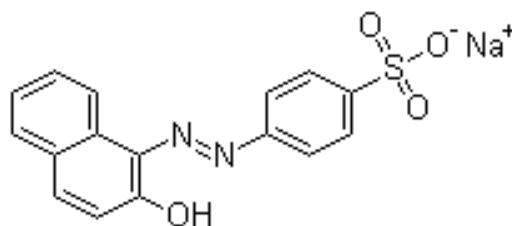


Figura 1. Estrutura Molecular do Corante Acid Orange 7
Fonte: Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc

4.3. Corante Direct Violet 51

Corante fabricado pela Aldrich Chemical Company, Inc.

C.I. 27905

Solubilidade: Solúvel em água

Grau de Pureza: 50%

Peso molecular: 719,71

Absorbância máxima: 544 nm

Estrutura química: Figura 2.

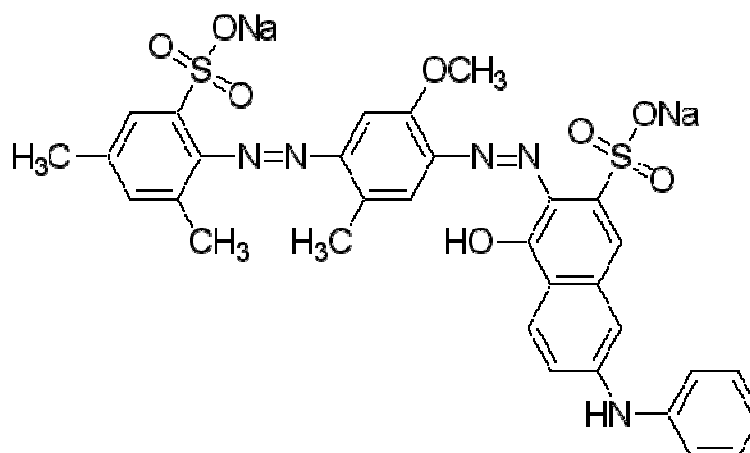


Figura 2. Estrutura Molecular do Corante Direct Violet 51
Fonte: Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc

4.4. Corante Chrysoidine

Corante fabricado pela Aldrich Chemical Company, Inc.

Pode ser encontrado com o nome Basic Orange II

C.I. 11270

Solubilidade: Pouco solúvel em água

Grau de Pureza: 90%

Peso molecular: 248,72

Absorbância máxima: 450 nm

Estrutura química: Figura 3.

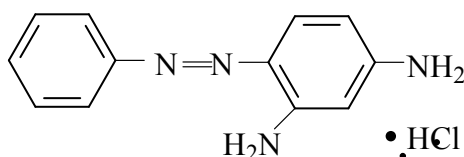


Figura 3. Estrutura Molecular do Corante Chrysoidine

Fonte: Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc

4.5. Preparo das Soluções de Corante e Controle Positivo

Todas as soluções utilizadas nos testes de toxicidade, de bioabsorção e de biodegradação, foram preparadas com água mineral Embaúba, pH 4,62 e cuja composição química (Tabela 3) segue abaixo. Nenhum ajuste de pH foi realizado durante o preparo das soluções.

Tabela 3. Composição Química da água mineral, utilizada no preparo das soluções

Composição Química	(mg/L)
Cálcio	0,19
Magnésio	0,07
Potássio	0,24
Sódio	0,58
Bicarbonato	0,70
Fluoreto	0,02
Nitrato	1,5
Cloreto	0,36

Para os três corantes analisados foram preparadas inicialmente soluções com concentração em largo espectro variando de 0 a 5.000 µg/mL. Após este primeiro teste foi possível determinar quais as concentrações estariam mais próximas dos valores para CI_{50} e CI_{100} de cada uma das substâncias testadas. E sendo assim os experimentos posteriores foram sendo realizados, com o intuito de se chegar esses valores. Abaixo segue o preparo das soluções do ultimo teste de toxicidade realizado com cada um dos corantes, sendo que em todos os outros testes realizados anteriormente, o procedimento de preparo foi o mesmo.

- Acid Orange 7: foi preparada uma solução estoque com concentração igual a 6.500 µg/mL. A partir desta solução foram feitas diluições para se chegar às concentrações de: 2.000, 2.500, 3.000, 3.500, 4.000, 45.00, 5.000, 5.500, e 6.000 µg/mL.

- Direct Violet 51: a solução estoque preparada possuía concentração igual a 2.500 µg/mL. E as diluições foram feitas para chegar às seguintes concentrações: 50, 250, 500, 750, 1.000, 1250, 1.500, 1.750 e 2.000 µg/mL.

- Chrysoidine: para este corante a dissolução foi realizada utilizando 50 mL de etanol 70%, completando o volume final para 500 mL, com água mineral, pois o mesmo possui baixa solubilidade em água. A solução estoque foi preparada com concentração igual a 45 µg/mL. As diluições foram realizadas para se chegar as concentrações de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 µg/mL.

- Solução de Sulfato de Zinco 0,05M: o sulfato de zinco 0,05 M foi dissolvido em água mineral e essa solução foi utilizada como controle positivo do experimento.

4.6. *Allium cepa*

Para a realização dos testes de toxicidade foram selecionados bulbos com diâmetro semelhante, variando entre 1,5 e 2,0 cm. Bulbos com estes tamanhos permitem melhor acondicionamento dos mesmos em tubos de ensaio durante os testes. (FISKESJÖ, 1985; GUERRA, 2009.)

Antes do início de cada teste, os bulbos eram limpos, folhas secas mais externas, restos de tecidos e raízes secas foram removidos, tomando-se sempre o cuidado de manter intacto o anel de primórdios radiculares.

Sabe-se que dentro de uma população normal é esperada a existência de bulbos com baixa taxa de desenvolvimento, portanto, antes do início de cada teste, os bulbos eram mantidos em água mineral pura por um período de 24 ou 48 horas. Nesta primeira etapa, eles eram acondicionados em uma folha de isopor devidamente perfurada - para permitir o contato do anel radicular com a água – e depois colocados dentro de uma bandeja com água mineral (Figura 4). Após esse período eram selecionados para a realização do teste de toxicidade somente os bulbos que já tinham iniciado o desenvolvimento de suas raízes. E para cada concentração de solução de corante foram separados cinco bulbos que apresentassem um mesmo padrão de crescimento das raízes, ou seja, tamanhos de raízes semelhantes



Figura 4. Esta foto ilustra como foi desenvolvida a etapa inicial de crescimento das raízes de *Allium cepa*, sendo esta etapa realizada somente na presença de água mineral pura.

4.7. Teste de Toxicidade

O experimento foi conduzido em Câmara de Germinação tipo BOD sob temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Em todos os testes, para cada uma das concentrações testadas, as soluções de corante eram distribuídas em cinco tubos de ensaio, e cada tubo recebia um bulbo de *Allium cepa*, desta forma, em cada teste foi realizada uma quintuplicata de cada concentração de corante testada. E este método foi utilizado para os três corantes. Os bulbos foram acondicionados de forma que ficassem constantemente em contato com as soluções. O controle negativo foi composto por água mineral, e como controle positivo foi realizado com solução de sulfato de zinco 0,05 M.

Cada teste teve duração de 72 horas e diariamente em cada um dos tubos foram repostas as respectivas soluções, que eventualmente foram perdidas por absorção e evaporação, permitindo assim o permanente contato das raízes com as soluções. Ao término do período de exposição (Figura 5) as raízes de cada bulbo foram medidas com auxílio de papel milimetrado, e a média de crescimento foi calculada. O conjunto de dados obtidos permitiu o cálculo da taxa de inibição de crescimento das raízes em cada uma das

concentrações, bem como os cálculos para CI_{50} e CI_{100} frente ao crescimento médio obtido pelo controle negativo. Os resultados foram analisados no programa estatístico Origin 5.0, por meio de regressões lineares.



Figura 5. Nesta figura está ilustrado um dos testes de toxicidade realizado com o corante Direct Violet 51.

4.8. Análise Qualitativa e Quantitativa dos Corantes

- Análise Qualitativa: As soluções dos corantes foram preparadas utilizando-se 1 mL de solução com concentração igual a 1 mg/mL e 9 mL de água mineral, atingindo-se a concentração de 100 μ g de corante/mL de solução. As varreduras espectrais das soluções foram realizadas em comprimentos de onda específicos para cada corante, 225 a 600 nm para o Acid Orange 7, 190 a 650 nm para o Direct Violet 51, e 190 a 600 nm para o Chrysoidine, em cubeta de quartzo, caminho óptico de 5 mm, onde pode-se verificar o comprimento de onda máximo para cada um dos corantes testados.

- Análise Quantitativa: Para a obtenção dos espectros de absorção em cada um dos testes de remoção, foram preparadas soluções dos corantes testados em diferentes concentrações, de acordo com as concentrações de CI_{50} e CI_{100} obtidas no teste de toxicidade.

Foram então estabelecidas correlações entre as absorbâncias e as variações da concentração de cada solução.

4.9. Preparo das Suspensões de Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi obtida de fermento biológico fresco da marca “*Fleischman*”, lotes de números 02042 e 01091.

As suspensões utilizadas nos processos de biodegradação e bioissorção foram preparadas em diferentes concentrações. Portanto para o preparo suspensões, foram pesados em balança analítica separadamente 5, 30 e 45 gramas de fermento biológico, que foi dissolvido em água destilada, e logo em seguida esse material foi centrifugado por 10 minutos a 6.000 rpm. Essa etapa de centrifugação foi realizada em média 4 vezes para cada quantidade de biomassa utilizada, com o objetivo de se obter um sobrenadante límpido. Depois de limpo o precipitado foi ressuspenso em água destilada e o volume final ajustado para 100 mL, obtendo assim suspensões a 5, 30 e 45%.

4.10. Obtenção do Peso Seco das Suspensões de *S. cerevisiae*

As medidas de peso seco foram realizadas para se verificar a quantidade de biomassa presente em 1 mL de cada suspensão preparada, 5, 30 e 45%. Assim foi possível determinar qual a quantidade de biomassa responsável pela descoloração das soluções de corante.

Para a obtenção desses dados foram colocados 3 cadinhos (previamente identificados) em estufa a 105 °C por 12 horas. Após esse período os cadinhos foram pesados em balança analítica até a obtenção de peso constante. Nos cadinhos 1, 2 e 3 foram colocados respectivamente 1 mL das suspensões a 5, 30 e 45%. Feito isso, todos os cadinhos foram mantidos em estufa a 105 °C por 24 horas. Após esse tempo de secagem, foi obtido o peso seco das suspensões em balança analítica.

4.11. Análises Espectrofotométricas UV-VIS

4.11.1. Teste de Bioissorção

O teste de bioissorção foi realizado com as concentrações aproximadas de CI_{100} para os corantes Direct Violet 51 e Chrysoidine, e CI_{50} para o corante Acid Orange 7. O valor de CI_{100}

não foi utilizado para o teste de bioadsorção do Acid Orange 7, pois esse valor apresentou-se muito alto, e estava dificultando a realização dos testes.

O processo de bioadsorção foi realizado em triplicata, da seguinte maneira para cada um dos corantes:

- Acid Orange 7 e Direct Violet 51: a solução de Acid Orange 7 utilizada no processo de bioadsorção tinha concentração igual a 3.540 µg/mL, e para o Direct Violet 51 a concentração foi de 3.900 µg/mL. Para estes corantes, os testes bioadsorptivos foram realizados utilizando uma suspensão de leveduras a 45%. Em cada um dos tubos de ensaio utilizado foram adicionados 10 mL de solução de corante e 4 mL de suspensão de levedura. Depois de prontos eles foram agitados e colocados em estufa de cultivo a $30 \pm 1^\circ \text{C}$ por 2 horas. Devido à alta concentração das suspensões, a cada 20 minutos os tubos foram agitados, para assim uniformizar a solução, evitar o acúmulo de levedura no fundo do tubo e manter constante o contato da levedura com a solução de corante.

- Chrysoidine: a concentração da solução testada foi igual a 77 µg/mL. Para este corante o teste bioadsorptivo foi realizado utilizando uma suspensão de levedura a 5%. Em cada um dos tubos utilizados foram adicionados 10 mL de solução de corante e 2 mL de suspensão. Depois de prontos os tubos foram agitados e colocados em estufa de cultivo a $30 \pm 1^\circ \text{C}$ por 30 minutos.

Em todos os testes, após o período de contato com a levedura, todos os tubos foram centrifugados, em centrífuga Centribio modelo 80-2B, durante 30 minutos a 4000 rpm. Uma alíquota do sobrenadante de cada um dos tubos foi retirada para a realização das análises espectrofotométricas UV-VIS. Após essa análise foi possível determinar qual a concentração de corante remanescente e a porcentagem de descoloração de cada um dos corantes. O volume restante dos sobrenadantes foi reservado para a realização do teste de toxicidade.

4.11.2. Teste de Biodegradação

O teste de biodegradação dos corantes foi realizado com as concentrações aproximadas da concentração de inibição de 50% do crescimento das raízes de *Allium cepa* (CI₅₀) determinadas no teste de toxicidade. Para a realização do teste as soluções de corante, os tubos de ensaio e as tampas dos tubos, utilizados no experimento foram autoclavadas por 15 minutos a 120 °C, para assim diminuir a possibilidade de contaminação por outros microrganismos.

Após serem autoclavadas as soluções de corantes foram analisadas espectrofotometricamente para que fosse possível verificar se não havia ocorrido nenhuma mudança na estrutura da molécula depois de ter sido submetida a uma alta temperatura. Os corantes Acid Orange 7 e Direct Violet 51, não apresentaram nenhuma mudança, enquanto o corante Chrysoidine mudou sua estrutura. Portanto para o teste de biodegradação com o corante Chrysoidine, a solução do mesmo não foi autoclavada, somente se autoclavou a vidraria e as tampas que seriam utilizadas.

O teste com os corantes Acid Orange 7 e Direct Violet 51 foi realizado em triplicata, e em cada um dos tubos de ensaio foram colocados 10 mL de solução de corante nas concentrações 3.540 e 410 µg/mL respectivamente, e foi adicionado 4 mL de suspensão de levedura *Saccharomyces cerevisiae* a 30%. Os tubos foram agitados e colocados em estufa de cultivo a 30 ± 1 °C, e a cada 24 horas alíquotas dos sobrenadantes foram retiradas para a realização de leituras espectrofotométricas, e avaliação das mudanças espectrais nas curvas de absorção máxima, ocorridas nas amostras quando comparadas com as curvas de absorção máxima nos espectros das soluções controle, que não entraram em contato com a levedura.

O processo de biodegradação foi analisado com os valores das absorbâncias relativas ($Abs_{1^{\circ}\lambda_{máximo}}^1 / Abs_{2^{\circ}\lambda_{máximo}}^2$) que, segundo Glenn e Gold (1983) ocorre quando os valores dessas absorbâncias se alteram, ou seja, enquanto os valores permanecem constante o que está predominando é o processo biossortivo.

Para o corante Chrysoidine o teste foi conduzido em um período de 120 minutos, pois o processo de biodegradação ocorreu de forma mais acelerada, devido à baixa concentração de CI_{50} . O teste também foi realizado em triplicata, com uma concentração inicial de corante igual a 7 µg/mL (concentração aproximada do CI_{50}), onde em 10 mL de solução de corante foram adicionados 1 mL de suspensão de levedura a 5%. Depois de preparados os tubos foram agitados e colocados em estufa de cultivo a 30 ± 1 °C. Uma varredura espectrofotométrica foi realizada após 2 horas de contato, e nesse intervalo de tempo já foi possível notar uma considerável mudança nos picos máximos de absorção do corante, indicando que as moléculas de corante já haviam sofrido degradação. Devido a isso o teste de biodegradação desse corante teve apenas 2 horas de duração. A forma de análise do processo de biodegradação foi a mesma utilizada para os outros dois corantes testados.

4.12. Testes de Toxicidades Após Experimentos de Remoção dos Corantes

4.12.1. Teste de Toxicidade Após Bioissorção e Biodegradação

Para a realização dos ensaios de toxicidade após os processos de bioissorção e biodegradação, em relação aos bulbos de *Allium cepa* foi seguido a mesma metodologia já descrita no item 4.6. Sendo assim os bulbos foram limpos e colocados em água mineral pura por 24 ou 48 horas para que se iniciasse o processo de crescimento das raízes.

Para os 3 corantes testados, pós o período de contato do corante com a levedura, todos os tubos foram centrifugados e o sobrenadante de cada um foi transferido para outro tubo de ensaio. Cada um desses tubos recebeu um bulbo de *Allium cepa*. O teste foi realizado em triplicata para cada um dos corantes testados, tanto no teste de bioissorção, quanto no de biodegradação. Depois de preparados os tubos foram colocados em BOD a uma temperatura de 21 ± 1 °C, por um período de 72 horas. Após esse período mediu-se o tamanho das raízes e foi calculada a % de inibição de crescimento das mesmas. Como controle positivo foi utilizado uma solução de sulfato de zinco 0,05 M e como controle negativo água mineral pura.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Testes de Toxicidade

Os resultados dos testes de toxicidade para o corante Acid Orange 7, determinaram que para o *Allium cepa* ele possui um baixo grau de toxicidade, apresentando o valor de CI_{50} igual a 3517,00 $\mu\text{g/mL}$ e CI_{100} de 8400,00 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 6). Portanto, dentre os corantes testados, ele foi o que se mostrou menos tóxico, ou seja, teve uma baixa taxa de inibição do crescimento das raízes (Tabela 4).

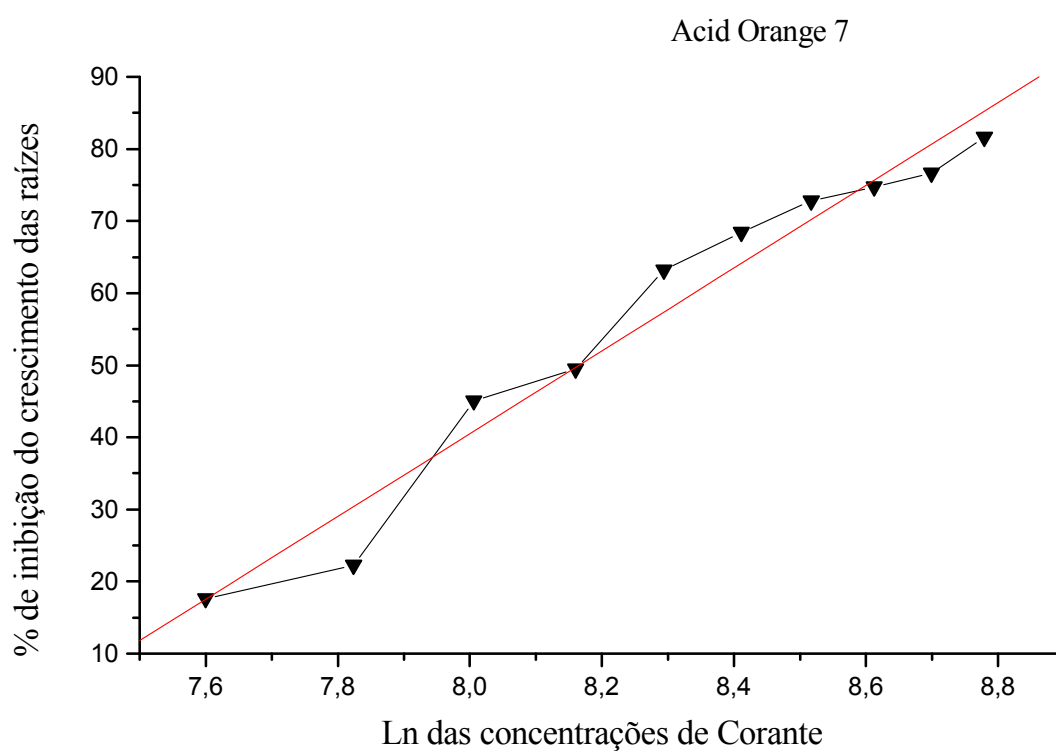


Figura 6. Nesta figura está ilustrado a porcentagem de inibição do crescimento das raízes de *Allium cepa* expostas às diferentes concentrações do corante Acid Orange 7.

$$\% \text{ de Inibição} = -418,945 + (57,4312 \times \text{Ln das concentrações de corante})$$

$$\text{Coeficiente de Correlação (R)} = 0,9813$$

$$CI_{50} = 3.517,00 \mu\text{g/mL} \text{ e } CI_{100} = 8.400,00 \mu\text{g/mL}$$

Tabela 4. Comprimento (cm), média de 5 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas às diferentes concentrações do corante Acid Orange 7.

Repetições	1	2	3	4	5	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	3,60	3,55	3,63	4,05	3,35	3,64 $\pm$ 0,26	-----
2000 $\mu\text{g/mL}$	2,73	2,76	3,33	2,9	3,3	3,00 $\pm$ 0,29	17,60
2500 $\mu\text{g/mL}$	2,35	2,63	3,04	3,05	3,10	2,83 $\pm$ 0,33	22,25
3000 $\mu\text{g/mL}$	2,35	2,10	1,83	1,93	1,77	2,00 $\pm$ 0,23	45,05
3500 $\mu\text{g/mL}$	2,06	2,13	1,86	1,56	1,60	1,84 $\pm$ 0,26	49,45
4000 $\mu\text{g/mL}$	1,36	1,42	1,40	1,35	1,15	1,34 $\pm$ 0,11	63,20
4500 $\mu\text{g/mL}$	1,10	1,10	1,23	1,30	1,03	1,15 $\pm$ 0,11	68,40
5000 $\mu\text{g/mL}$	1,10	1,03	0,96	0,85	1,03	0,99 $\pm$ 0,09	72,80
5500 $\mu\text{g/mL}$	1,06	1,00	0,76	0,90	0,90	0,92 $\pm$ 0,11	74,72
6000 $\mu\text{g/mL}$	0,87	0,80	0,85	0,80	0,95	0,85 $\pm$ 0,06	76,64
6500 $\mu\text{g/mL}$	0,70	0,75	0,70	0,65	0,55	0,67 $\pm$ 0,08	81,60

Méndez-Paz et al. (2005) também realizaram estudos de toxicidade com o Acid Orange 7, utilizando um consórcio de microrganismos em meio anaeróbico, e não constatarem efeito tóxico significativo, uma vez que a biomassa utilizada no teste não diminuiu na presença de maiores concentrações do corante.

O corante Direct Violet 51 apresentou grau de toxicidade intermediário (Figura 7), quando comparado com os outros dois corantes analisados neste estudo, com valor da CI_{50} igual a 400,56 $\mu\text{g/mL}$ e CI_{100} de 3891,00 $\mu\text{g/mL}$. Os dados obtidos no estudo deste corante estão ilustrados na Tabela 5. Na Figura 8 é possível notar a diferença do crescimento das raízes dos bulbos de *Allium cepa*, com o aumento da concentração de corante.

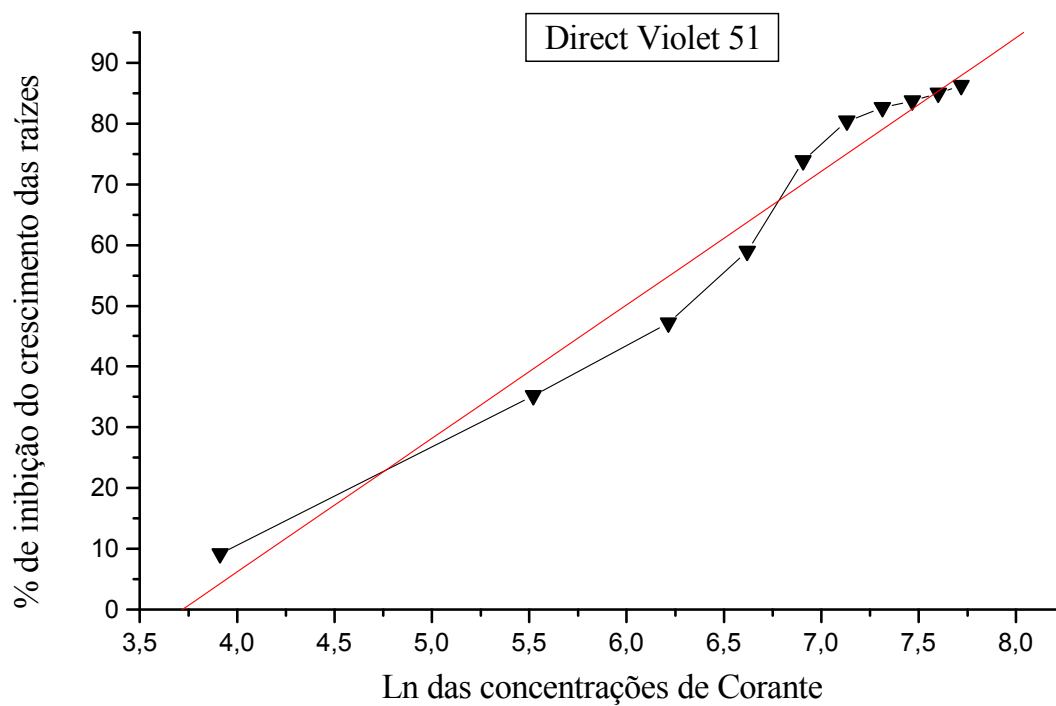


Figura 7. Porcentagem de inibição do crescimento das raízes de *Allium cepa* expostas às diferentes concentrações do corante Direct Violet 51.

$$\% \text{ de inibição} = - 81,79655 + (21,9922 \times \text{Ln das concentrações de Corante})$$

$$\text{Coeficiente de correlação (R)} = 0,9847$$

$$CI_{50} = 400,56 \mu\text{g/mL} \text{ e } CI_{100} = 3.891,00 \mu\text{g/mL}$$

Tabela 5. Comprimento (cm), média de 5 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas às diferentes concentrações do corante Direct Violet 51.

Repetições	1	2	3	4	5	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	4,95	3,35	4,66	5,05	5,00	4,60 $\pm$ 0,72	-----
50 $\mu\text{g/mL}$	4,26	4,07	4,12	3,93	4,51	4,18 $\pm$ 0,22	9,13
250 $\mu\text{g/mL}$	3,22	3,8	2,51	3,06	2,31	2,98 $\pm$ 0,59	35,21
500 $\mu\text{g/mL}$	3,00	2,38	1,95	2,04	2,44	2,43 $\pm$ 0,37	47,17
750 $\mu\text{g/mL}$	1,77	1,85	1,94	2,57	1,30	1,89 $\pm$ 0,46	58,91
1.000 $\mu\text{g/mL}$	1,30	1,06	1,26	1,16	1,21	1,20 $\pm$ 0,09	73,91
1.250 $\mu\text{g/mL}$	0,88	0,90	0,94	0,80	0,98	0,90 $\pm$ 0,07	80,43
1.500 $\mu\text{g/mL}$	0,98	0,80	0,78	0,80	0,65	0,80 $\pm$ 0,12	82,60
1.750 $\mu\text{g/mL}$	0,88	0,80	0,6	0,70	0,75	0,75 $\pm$ 0,11	83,70
2.000 $\mu\text{g/mL}$	0,73	0,75	0,75	0,65	0,55	0,69 $\pm$ 0,09	85,00
2.250 $\mu\text{g/mL}$	0,65	0,56	0,67	0,60	0,65	0,63 $\pm$ 0,05	86,30

Chaube et al. (2010) realizaram teste de toxicidade com o corante Direct Violet 51 cujo intuito foi verificar se o corante inibia o crescimento de uma cultura bacteriana composta por *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *K. pneumonia* e eles determinaram que o corante foi tóxico para as bactérias inibindo o crescimento da cultura. Em outro teste eles avaliaram a taxa de germinação das sementes de *Phaseolus mungo* e *Triticum aestivum*, os resultados por eles obtidos também mostraram que o corante foi tóxico, diminuindo a taxa de germinação quando comparado com o controle.

Corso et al. (2003) também testaram a toxicidade do corante Direct Violet 51 utilizando como organismo-teste *Daphnia similis*. Nesse estudo a concentração letal se deu a partir de 400 $\mu\text{g/mL}$, indicando que o corante foi tóxico para a *Daphnia similis*. O LC_{50} foi igual a 219,29 $\mu\text{g/mL}$.



Figura 8. Nesta ilustração é possível ver claramente o aumento da taxa inibição do crescimento das raízes com o aumento da concentração do corante Direct Violet 51.

Dentre os três corantes testados o Chrysoidine foi o que apresentou a maior taxa de inibição de crescimento das raízes de *Allium cepa*. A porcentagem de inibição quando comparada com as porcentagens dos outros corantes apresentou-se extremamente alta, com um valor para CI_{50} igual a $6,17 \mu\text{g/mL}$. Os dados obtidos estão representados na Figura 9 e Tabela 6.

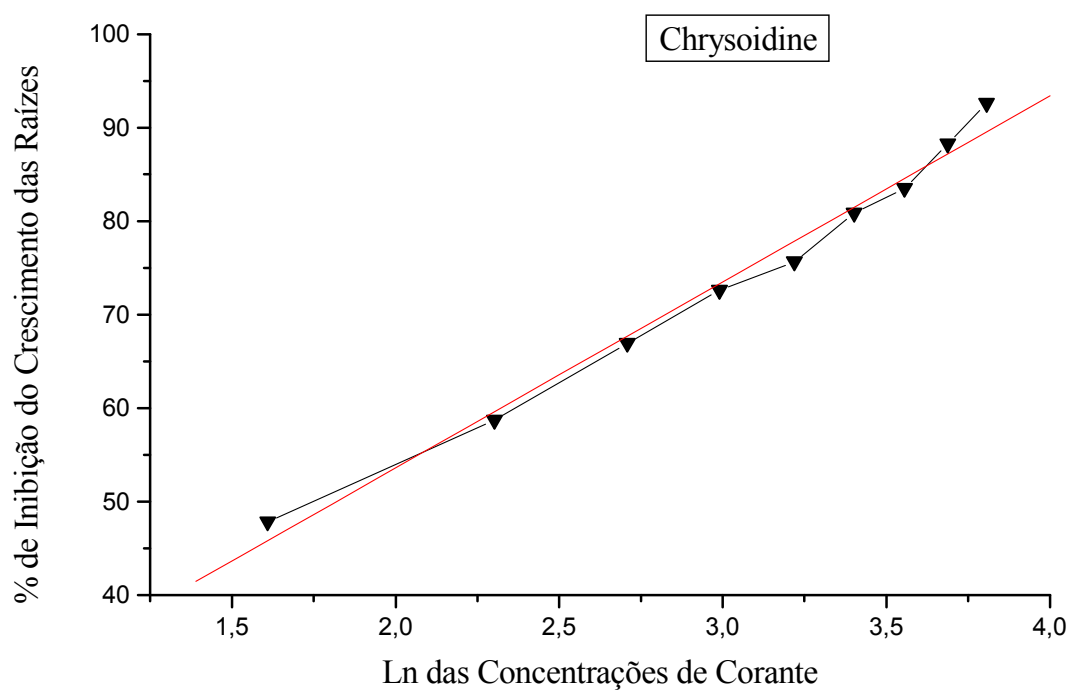


Figura 9. Porcentagem de inibição do crescimento das raízes de *Allium cepa* expostas às diferentes concentrações do corante Chrysoidine.

$$\% \text{ de inibição} = 13,81332 + (19,89222 \times \text{Ln das Concentrações de Corante})$$

$$\text{Coeficiente de Correlação (R)} = 0,9931$$

$$CI_{50} = 6,17 \mu\text{g/mL} \text{ e } CI_{100} = 76,15 \mu\text{g/mL}$$

Tabela 6. Comprimento (cm), média de 5 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas às diferentes concentrações do corante Chrysoidine.

Repetições	1	2	3	4	5	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	2,18	2,42	1,80	2,82	2,30	2,30 $\pm$ 0,37	-----
5 $\mu\text{g/mL}$	1,00	1,15	1,20	1,45	1,20	1,20 $\pm$ 0,16	47,82
10 $\mu\text{g/mL}$	0,80	0,60	1,20	0,95	1,20	0,95 $\pm$ 0,26	58,70
15 $\mu\text{g/mL}$	0,70	0,90	0,85	0,75	0,60	0,76 $\pm$ 0,12	66,95
20 $\mu\text{g/mL}$	0,50	0,80	0,90	0,40	0,55	0,63 $\pm$ 0,21	72,60
25 $\mu\text{g/mL}$	0,55	0,50	0,45	0,70	0,60	0,56 $\pm$ 0,10	75,65
30 $\mu\text{g/mL}$	0,45	0,50	0,45	0,40	0,40	0,44 $\pm$ 0,04	80,86
35 $\mu\text{g/mL}$	0,35	0,35	0,45	0,35	0,40	0,38 $\pm$ 0,04	83,50
40 $\mu\text{g/mL}$	0,30	0,35	0,20	0,25	0,25	0,27 $\pm$ 0,06	88,26
45 $\mu\text{g/mL}$	0,20	0,17	0,20	0,20	0,10	0,17 $\pm$ 0,04	92,60

Altas taxas de toxicidade também foram encontradas em outros estudos. Sole e Chipman (1986) ao realizar ensaios com bactérias constataram alto potencial tóxico e mutagênico deste corante. Chi et al. (2009) também testaram a toxicidade do corante Chrysoidine em tecidos vivos *in vitro*, e o teste apresentou baixa toxicidade. Mas em um segundo teste realizado por esses mesmos autores, foi feita uma solução do corante com a substância cetiltrimetil brometo de amônia, e essa interação se mostrou altamente tóxica, acarretando em mudanças da conformação do DNA das células. Essa mudança do grau de toxicidade da Chrysoidine ao reagir com outras substâncias é de extrema relevância, pois nos efluentes têxteis além dos corantes, são encontrados diversos outros compostos químicos, que provavelmente reagem com os corantes, formando novos compostos. Portanto essas interações dos corantes com outras substâncias químicas podem fazer com que os efluentes se tornem ainda mais tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente.

Sendo assim, os resultados obtidos ficaram dentro dos padrões esperados, uma vez que nosso objetivo era trabalhar com um corante que tivesse baixo grau de toxicidade, um com

toxicidade intermediária e um com alto grau de toxicidade. Comparando a estrutura molecular dos três corantes é possível deduzir as características encontradas pelo fato de que, o Acid Orange 7 apresenta apenas um grupo sulfônico e uma ligação azo, já o Direct Violet 51 se apresenta um pouco mais tóxico provavelmente por possuir 2 ligações azo e 2 grupos sulfônicos. E o Chrysoidine, se apresenta mais tóxica devido ao fato de possuir em sua molécula uma estrutura organoclorada.

5.2. Obtenção do Peso Seco das Suspensões de *S. cerevisiae*

Com os valores do peso seco foi possível determinar a quantidade de biomassa responsável por realizar a descoloração das soluções nos processos de bioadsorção e biodegradação. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 7.

Tabela 7. Peso seco de 1 mL das suspensões de levedura com concentrações iguais a 5, 30 e 45%.

Concentração da suspensão (g/mL)	Peso seco (g)	Quantidade de biomassa presente nas soluções durante os testes de remoção (g/mL)
0,05	0,0084	0,0014
0,30	0,0343	0,0098
0,45	0,1217	0,0348

5.3. Obtenção dos Espectros de Absorção dos Corantes

5.3.1. Obtenção dos Comprimentos de Onda Máximos dos Corantes

Foi possível verificar os comprimentos de onda máximos das soluções experimentais dos corantes testados em diferentes concentrações, por meio dos espectros de absorção obtidos pela análise em espectrofotômetro UV-VIS.

Os espectros do Acid Orange 7, Direct Violet 51 e Chrysoidine, estão representados nas Figuras 10, 11 e 12 e os comprimentos de onda máximos obtidos foram 483, 544 e 450 nm, respectivamente, e se referem ao grupo cromóforo da molécula.

O segundo grupo cromóforo do Acid Orange 7 é caracterizado na região de 320 nm, do Direct Violet 51 em 350 nm, e do Chrysoidine na região de 260 nm. Segundo Chang (2000) essa região de 350 nm corresponde à presença de ligações azóicas, e a região de 260 corresponde a presença de anéis benzênicos. E a região de 320 nm também corresponde à presença de ligações azóicas (SILVERSTEIN et al. 1994).

Para a realização destas varreduras não foi necessário diluir os corantes.

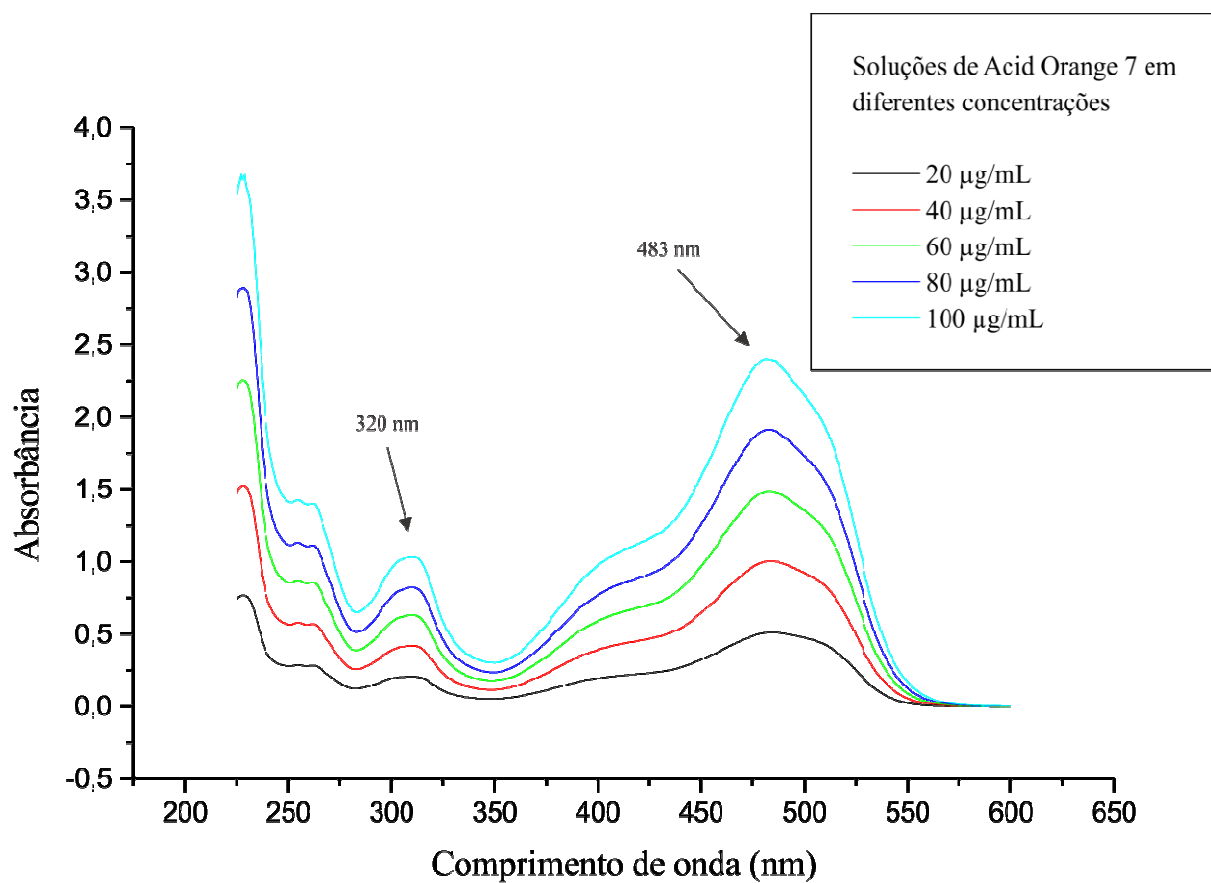


Figura 10. Espectro de Absorção do corante Acid Orange 7 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL.

Caminho óptico de 5mm

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

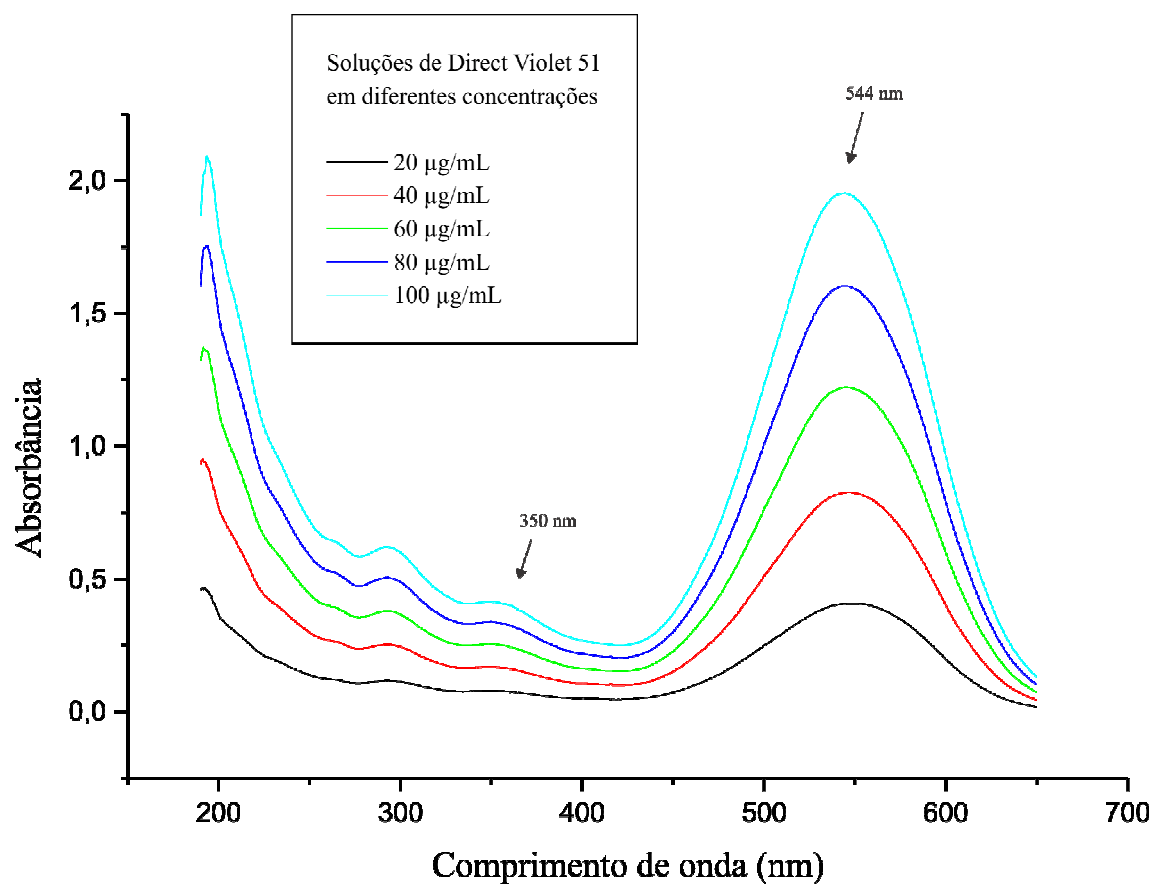


Figura 11. Espectro de Absorção do corante Direct Violet 51 nas seguintes concentrações:

20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL, pH 5,0.

Caminho óptico de 5mm

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

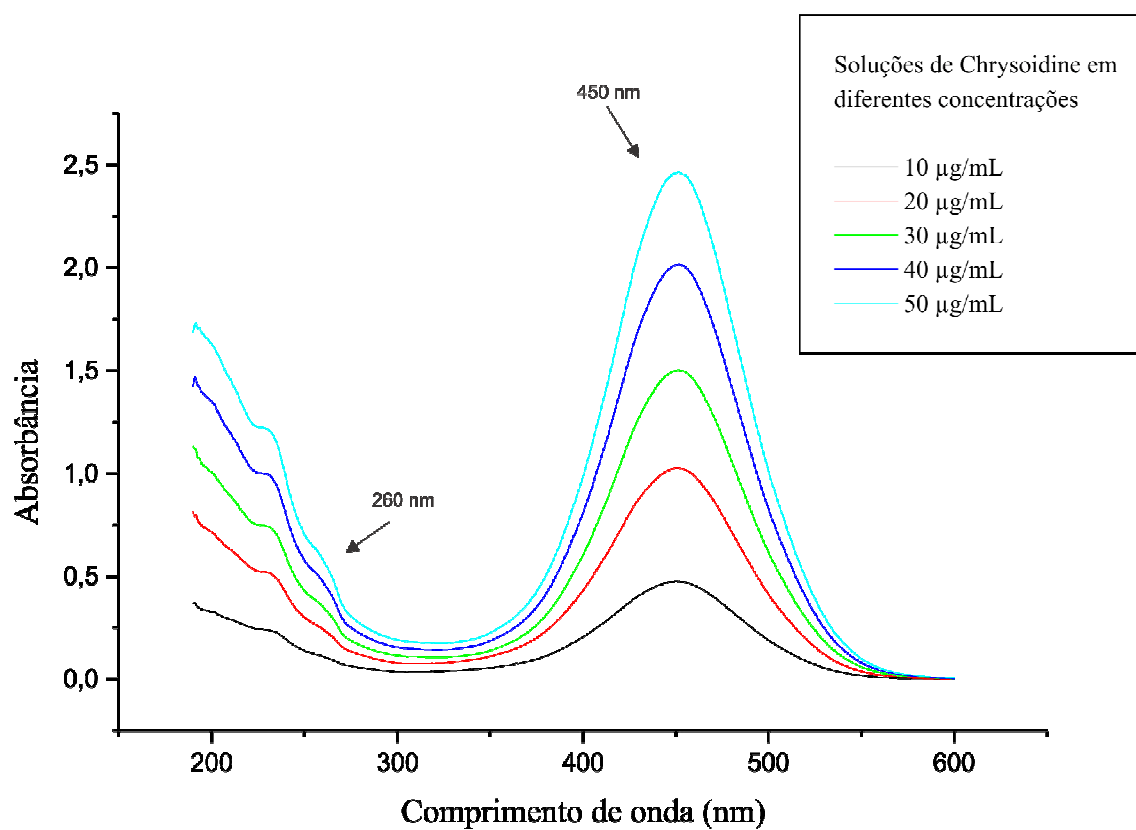


Figura 12. Espectro de Absorção do corante Chrysoidine nas seguintes concentrações: 10, 20, 30, 40 e 50 µg/mL.

Caminho óptico de 5mm

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

5.3.2. Obtenção dos Espectros de Absorção para o Teste de Bioissorção

Para a obtenção dos espectros de absorção utilizado no teste de bioissorção, foram preparadas soluções dos corantes em diferentes concentrações, levando se em consideração a valor de CI_{50} para o corante Acid Orange 7, e CI_{100} para os corantes Direct Violet 51 e Chrysoidine. Foram estabelecidas correlações entre as absorbâncias e as variações da concentração de cada solução. Assim foi possível verificar qual a concentração remanescente de corante nas soluções após os testes bioissorativos.

Devido as altas concentrações foi necessário diluir 25 vezes os corantes Acid Orange 7 e Direct Violet 51 antes da realização das análises espectrofotométricas, e para o corante Chrysoidine não foi necessário realizar diluições. Os dados obtidos foram analisados no programa estatístico Origin 5.0. Os espectros de absorção UV-VIS que foram utilizados para os cálculos de concentração remanescente de corante no experimento de bioissorção estão representados nas Figuras 13, 14 e 15.

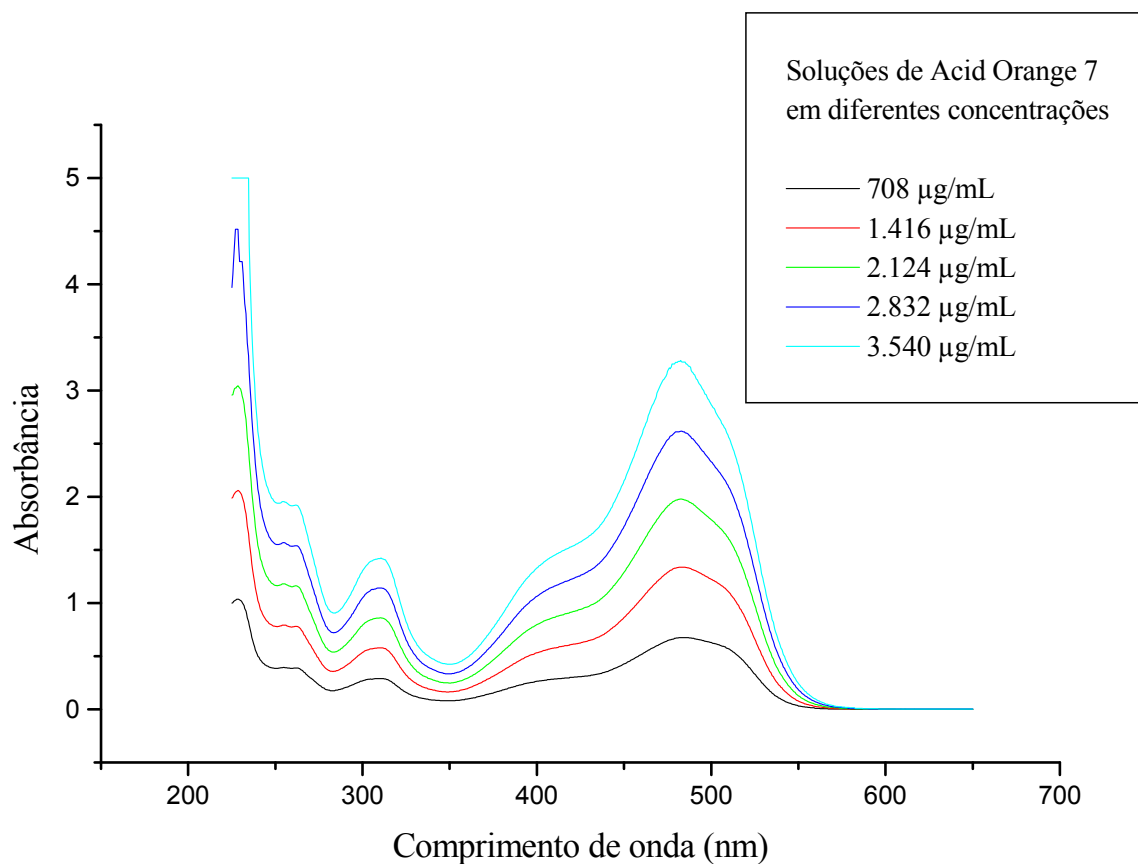


Figura 13. Espectro de absorção do corante Acid Orange 7 nas seguintes concentrações: 708, 1.416, 2.124, 2.832 e 3.540 µg/mL, sendo a concentração máxima um valor aproximado do CI_{50} obtido nos testes de toxicidade.

Caminho óptico de 5mm

$$\text{Absorbância}^{483\text{nm}} = 0,03469 + (0,0009132 \times \text{Concentração do corante})$$

Coefficiente de Correlação (R) = 0,9999

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

Para efeito de leitura espectrofotométrica o fator de diluição para este corante foi de 1:24.

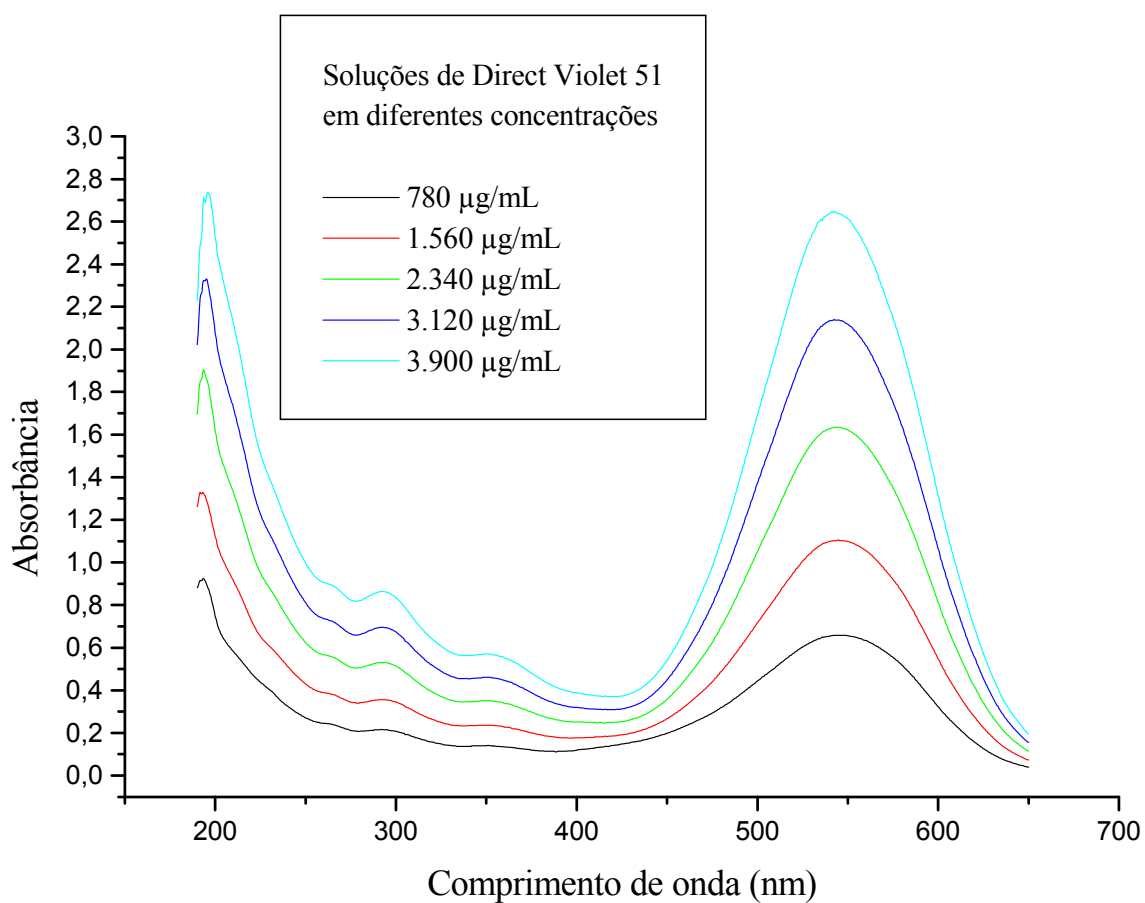


Figura 14. Espectro de absorção do corante Direct Violet 51 nas seguintes concentrações: 780, 1.560, 2.340, 3.120 e 3.900 µg/mL, sendo a concentração máxima um valor aproximado do CI_{100} obtido nos testes de toxicidade.

Caminho óptico de 5mm

$$\text{Absorbância}^{544\text{nm}} = 0,13469 + (0,00064 \times \text{Concentração do corante})$$

Coefficiente de Correlação (R) = 0,9996

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

Para efeito de leitura espectrofotométrica o fator de diluição para este corante foi de 1:24.

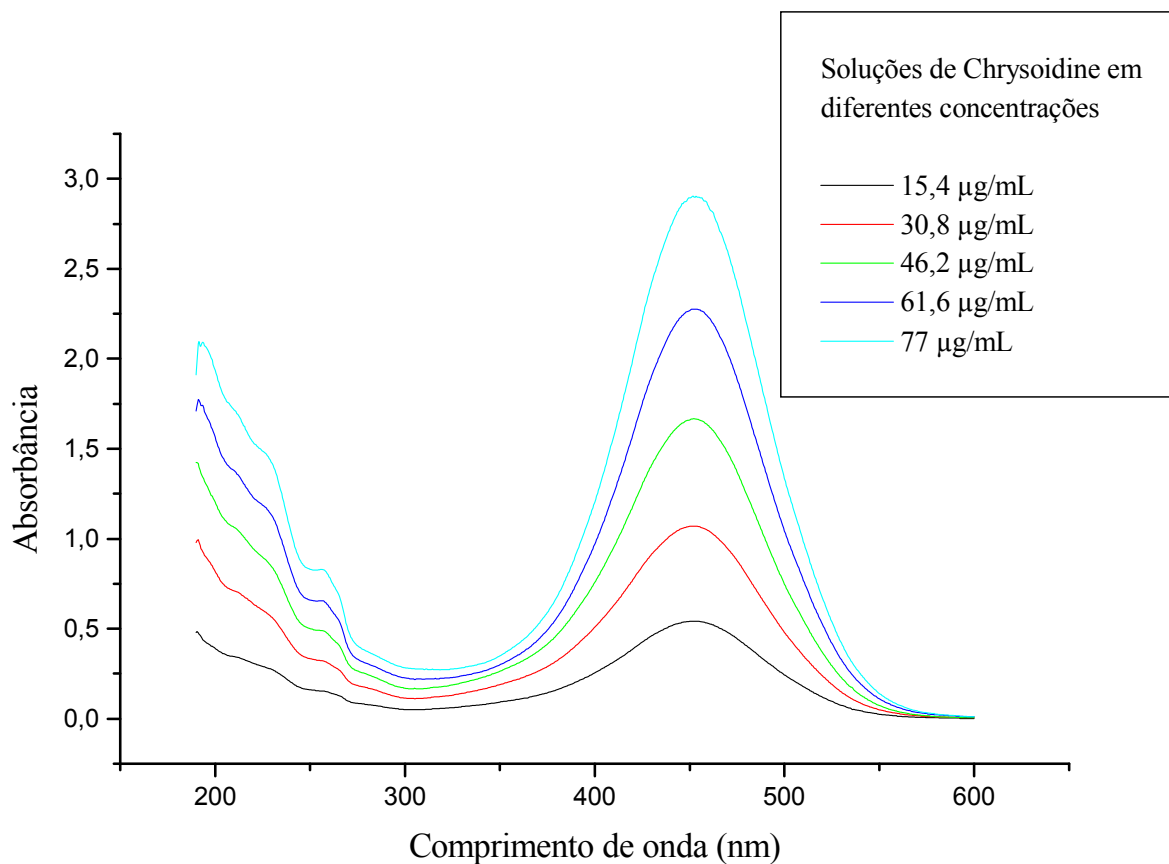


Figura 15. Espectro de absorção do corante Chrysoidine nas seguintes concentrações: 15,4, 30,8, 46,2, 61,6 e 77µg/mL, pH 5,0, sendo a concentração máxima um valor aproximado do CI_{100} obtido nos testes de toxicidade.

Caminho óptico de 5mm

$$\text{Absorbância}^{450\text{nm}} = -0,08494 + (0,03834 \times \text{Concentração do corante})$$

Coefficiente de Correlação (R) = 0,9995

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

5.3.3. Obtenção dos Espectros de Absorção para o Teste de Biodegradação

Para a obtenção dos espectros de absorção utilizado no teste de biodegradação, foram preparadas soluções dos corantes em diferentes concentrações. Foram então estabelecidas as correlações entre as absorbâncias e as variações da concentração de cada solução. Assim foi possível verificar a variação das concentrações no decorrer de todo experimento. Para a realização das análises espectrofotométricas, devido as altas concentrações foi necessário diluir 25 vezes o corante Acid Orange 7 e 10 vezes o corante Direct Violet 51, e para o Chrysoidine não foi necessário realizar diluições. E os dados obtidos foram analisados no programa estatístico Origin 5.0. Os espectros de absorção UV-VIS utilizado para os cálculos das concentrações de corante remanescente durante o processo de biodegradação estão representados nas Figuras 16, 17 e 18.

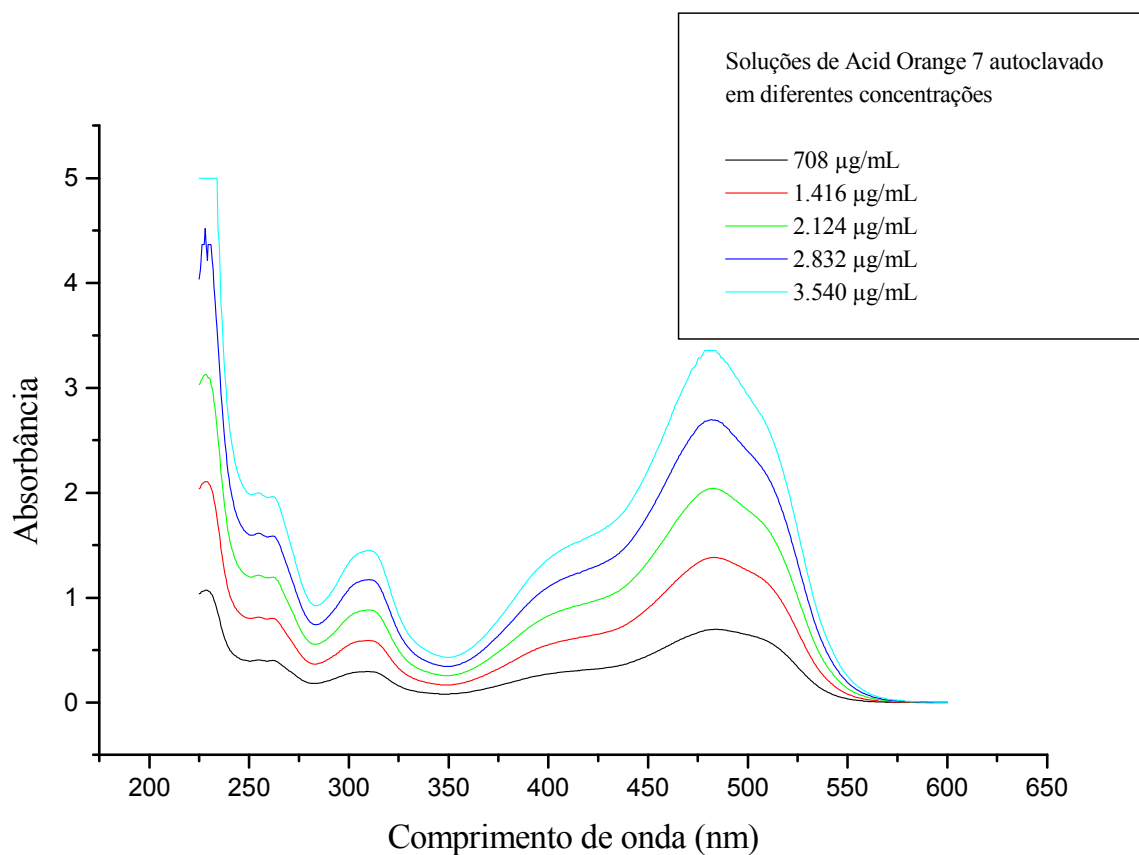


Figura 16. Espectro de absorção do corante Acid Orange 7 autoclavado nas seguintes concentrações: 708, 1.416, 2.124, 2.832 e 3.540 µg/mL, sendo a concentração máxima um valor aproximado do CI_{50} obtido nos testes de toxicidade.

Caminho óptico de 5mm

$$\text{Absorbância}^{483\text{nm}} = 0,04524 + (0,00094 \times \text{Concentração do corante})$$

Coefficiente de Correlação (R) = 0,9999

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

Para efeito de leitura espectrofotométrica o fator de diluição para este corante foi de 1:24.

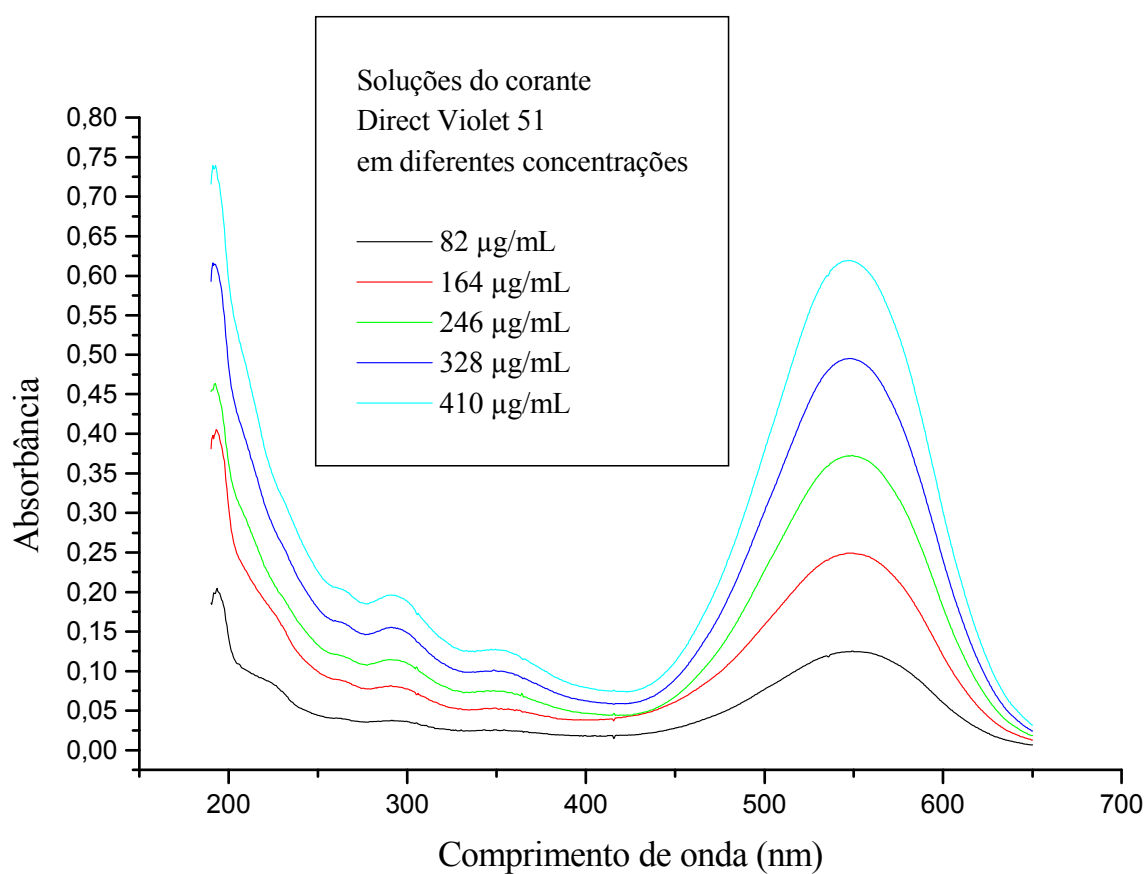


Figura 17. Espectro de absorção do corante Direct Violet 51 nas seguintes concentrações: 82, 164, 246, 328, 410 µg/mL, sendo a concentração máxima um valor aproximado do CI_{100} obtido nos testes de toxicidade.

Caminho óptico de 5mm

$$\text{Absorbância}^{544\text{nm}} = 0,00082 + (0,0015 \times \text{Concentração do corante})$$

Coefficiente de Correlação (R) = 0,9999

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

Para efeito de leitura espectrofotométrica o fator de diluição para este corante foi de 1:9.

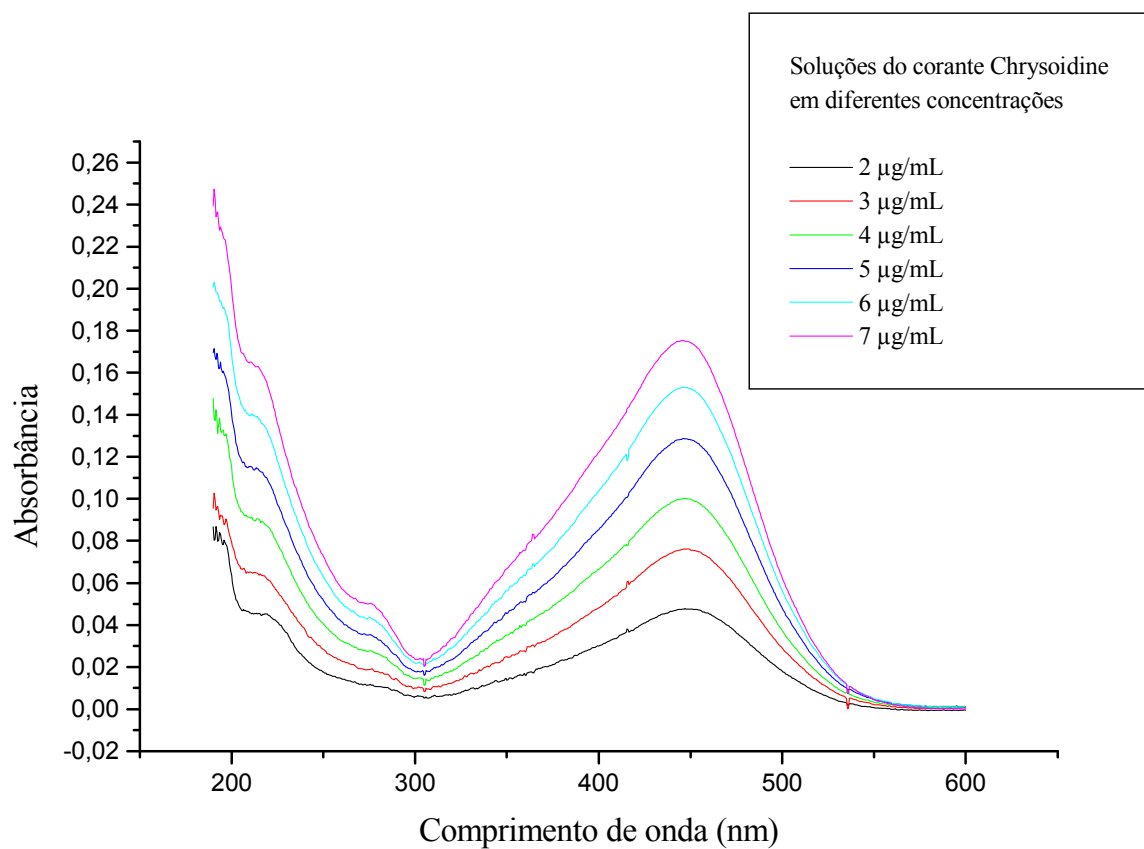


Figura 18. Espectro de absorção do corante Chrysoidine nas seguintes concentrações: 2, 3, 4, 5 e 6 e 7 µg/mL, sendo a concentração máxima um valor aproximado do CI_{50} obtido nos testes de toxicidade.

Caminho óptico de 5mm

$$\text{Absorbância}^{450\text{nm}} = -0,001626 + (0,02548 \times \text{Concentração do corante})$$

Coefficiente de Correlação (R) = 0,9999

Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

5.4. Análises Espectrofotométricas UV-VIS

Os gráficos obtidos através de análises espectrofotométricas UV-VIS, demonstraram a ocorrência de bioadsorção e biodegradação das moléculas dos corantes estudados.

Em ambos os testes (bioadsorção e biodegradação) a porcentagem de descoloração dos corantes foi determinada segundo Vitor e Corso (2008); Clarke et al. (2009) e, Kalme et al. (2006), por meio da seguinte relação:

$$\% \text{ de Descoloração} = \frac{(\text{Absorbância Inicial} - \text{Absorbância Final}) \times 100}{\text{Absorbância Inicial}}$$

5.4.1. Testes de Bioadsorção

Os espectros de absorção UV-VIS dos corantes Acid Orange 7, Direct Violet 51 e Chrysoidine após o processo de bioadsorção estão representados respectivamente nas Figuras 19, 20 e 21. E a Tabela 7 expressa os resultados com a concentração de corante remanescente e % de descoloração dos corantes após o período de contato com a biomassa de levedura.

Lembrando que as concentrações iniciais dos corantes Acid Orange 7, Direct Violet 51 e Chrysoidine, utilizadas neste estudo foram respectivamente iguais a 3.540, 3.900 e 77 µg/mL.

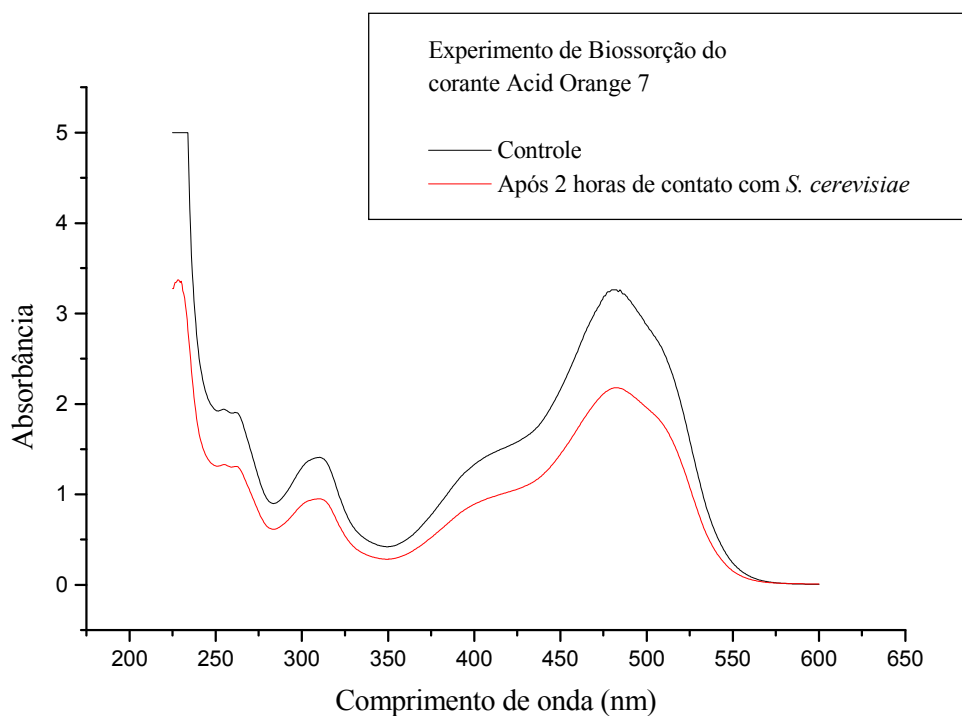


Figura 19. Espectro de absorção UV-VIS do corante Acid Orange 7 após 120 minutos de contato com aproximadamente 0,0348g/mL de *S. cerevisiae*.

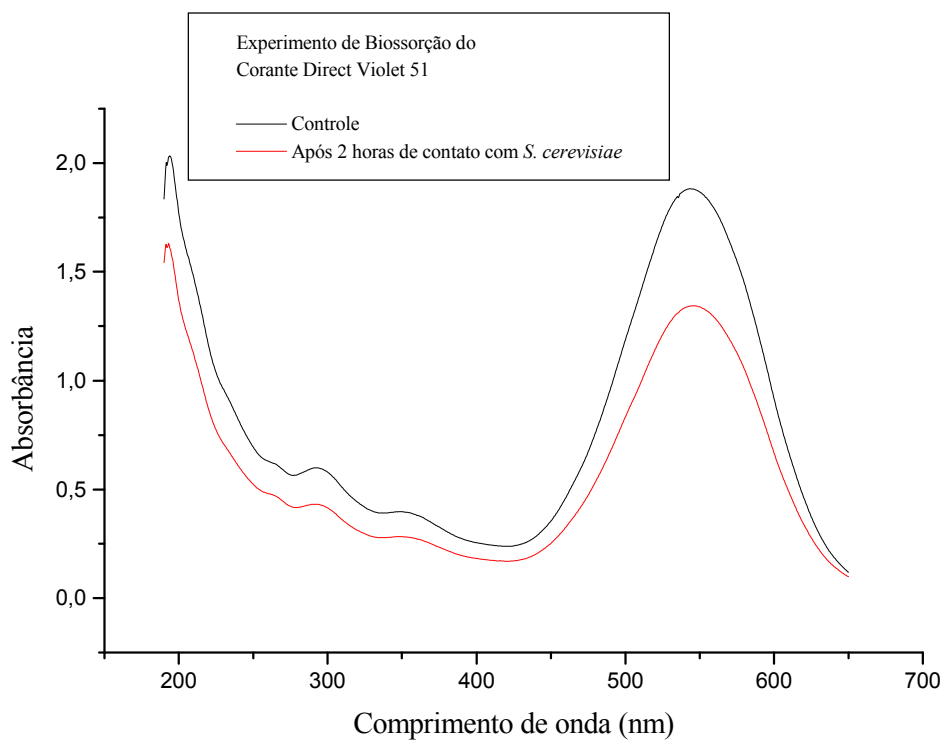


Figura 20. Espectro de absorção UV-VIS do corante Direct Violet 51 após 120 minutos de contato com aproximadamente 0,0348g/mL de *S. cerevisiae*.

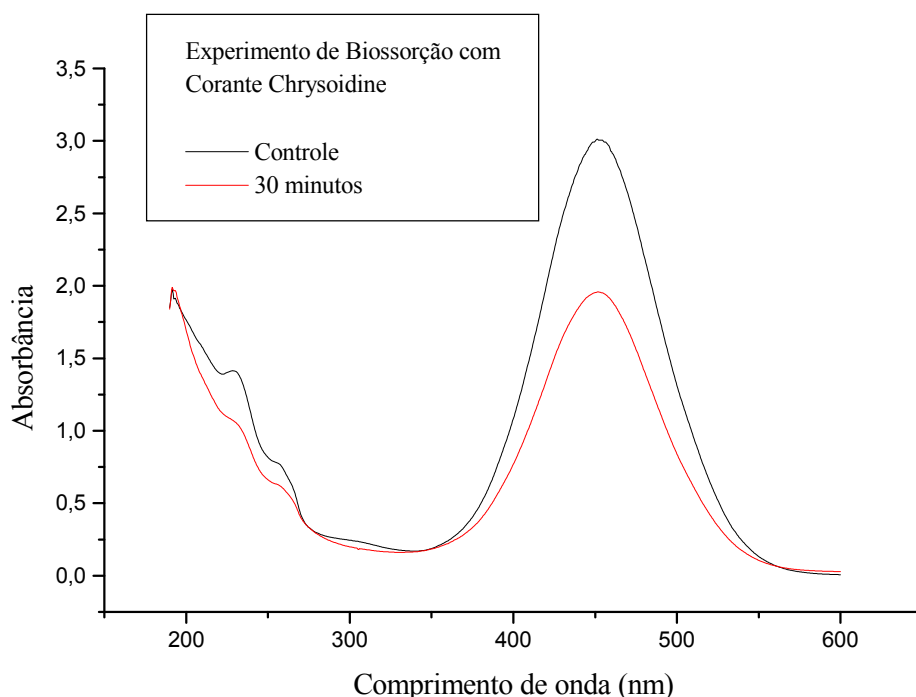


Figura 21. Espectro de absorção UV-VIS do corante Chrysoidine após 30 minutos de contato com aproximadamente 0,0014g/mL de *S. cerevisiae*.

Tabela 7. Tempo de contato, quantidade de levedura utilizada, concentração de corante remanescente e % de descoloração dos corantes Acid Orange 7, Direct Violet 51 e Chrysoidine.

Corante	Concentração inicial de corante (µg/mL)	Tempo de contato (minutos)	Biomassa de levedura (gramas)	Concentração de corante remanescente (µg/mL)	% de Descoloração
Acid Orange 7	3540,00	120	1,8	2.346,81	33,00
Direct Violet 51	3900,00	120	1,8	1.887,20	49,28
Chrysoidine	77,00	30	0,05	53,15	34,85

Analisando os resultados obtidos foi possível verificar que a levedura utilizada no estudo foi mais eficiente na remoção do corante Direct Violet 51, onde ela removeu cerca de 49,28% de corante, e menos eficiente na remoção do corante Acid Orange 7. Ali et al. (2009) estudando o processo de descoloração dos corantes têxteis Acid Red 151 e Acid Orange 7 por *Aspergillus niger* em efluente simulado, por um período de 24 horas, também constataram

uma baixa capacidade do microrganismo em remover o corante Acid Orange 7 quando comparado com o outro corante testado.

Para o corante Chrysoidine vários experimentos foram realizados, em diferentes intervalos de tempo e concentrações da suspensão, pois a molécula se mostrou muito instável e em pequenos intervalos de tempo já sofriam modificações. Essas modificações foram detectadas após análises dos espectros de absorção UV-VIS e cálculos das respectivas absorbâncias relativas. Nenhum dos testes de bioabsorção realizados nesse presente estudo foi capaz de remover por meio do processo de bioabsorção as moléculas deste corante sem que elas sofressem algum tipo de alteração. Os resultados que estão descritos acima para o corante Chrysoidine foram os que menos causaram variação na absorbância relativa.

As Figuras 22, 23 e 24 ilustram soluções dos corantes Acid Orange 7, Direct Violet 51 e Chrysoidine, respectivamente, antes (solução controle) e depois do processo de bioabsorção, onde é possível verificar descoloração das soluções.



Figura 22. Soluções do corante Acid Orange 7, antes (esquerda) e depois do processo de bioabsorção (direita).



Figura 23. Soluções do corante Direct Violet 51, antes (esquerda) e depois do processo de biossorção (direita).



Figura 24. Soluções do corante Chrysoidine, antes (esquerda) e depois do processo de biossorção (direita).

5.4.2. Teste de Biodegradação

Os espectros de absorção UV-VIS das soluções tratadas com *Saccharomyces cerevisiae*, em diferentes intervalos de tempo, mostraram alterações nos picos de comprimento de onda máximo, 483 nm e 320 nm para o Acid Orange 7 (Figura 25), 544 nm e 350 nm para o Direct Violet 51 (Figura 26) e 450 nm e 260 nm para o Chrysoidine (Figura 27), quando comparados com as soluções controle dos corantes, ou seja, as soluções que não foram tratadas com a levedura.

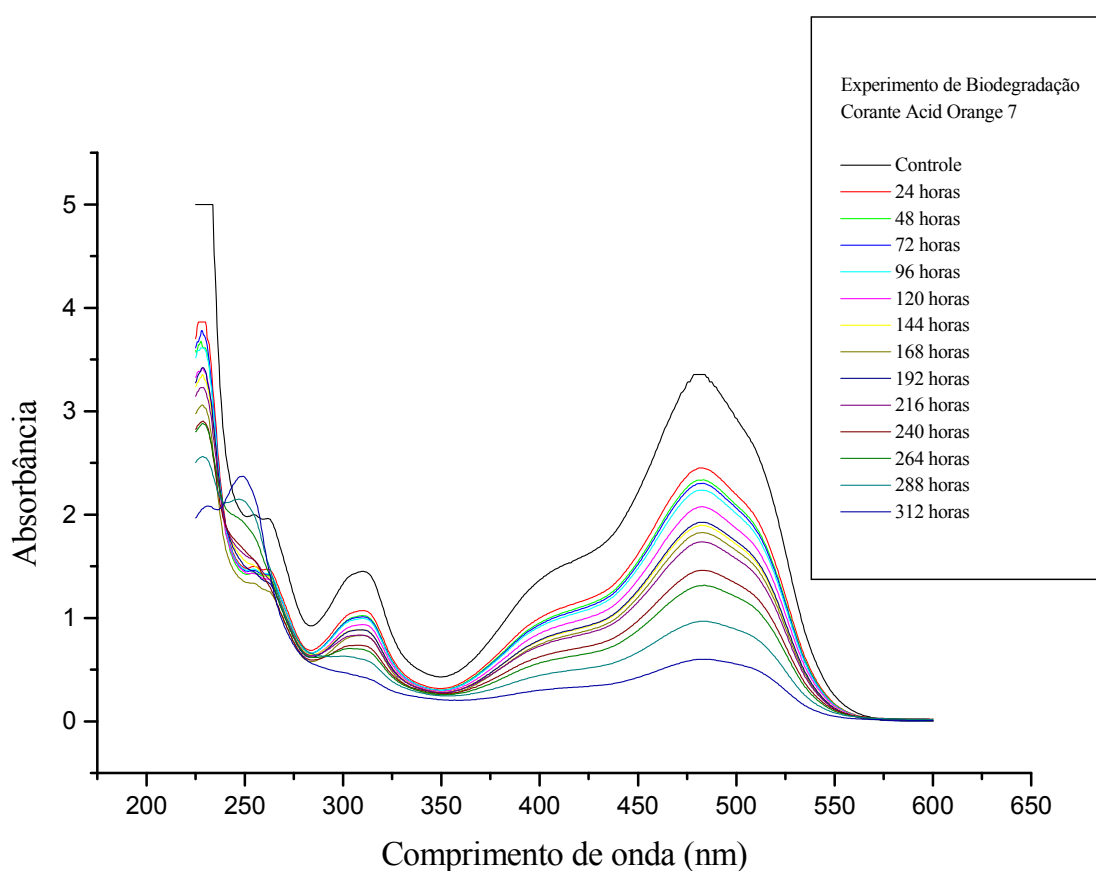


Figura 25. Espectro de absorção do corante Acid Orange 7 após interação com cerca 1,2g/4mL de *S. cerevisiae* em um intervalo de 24 e 312 horas, sendo a concentração inicial de corante igual a 3.540,00 µg/mL. Caminho óptico de 5mm e Cubeta de Quartzo

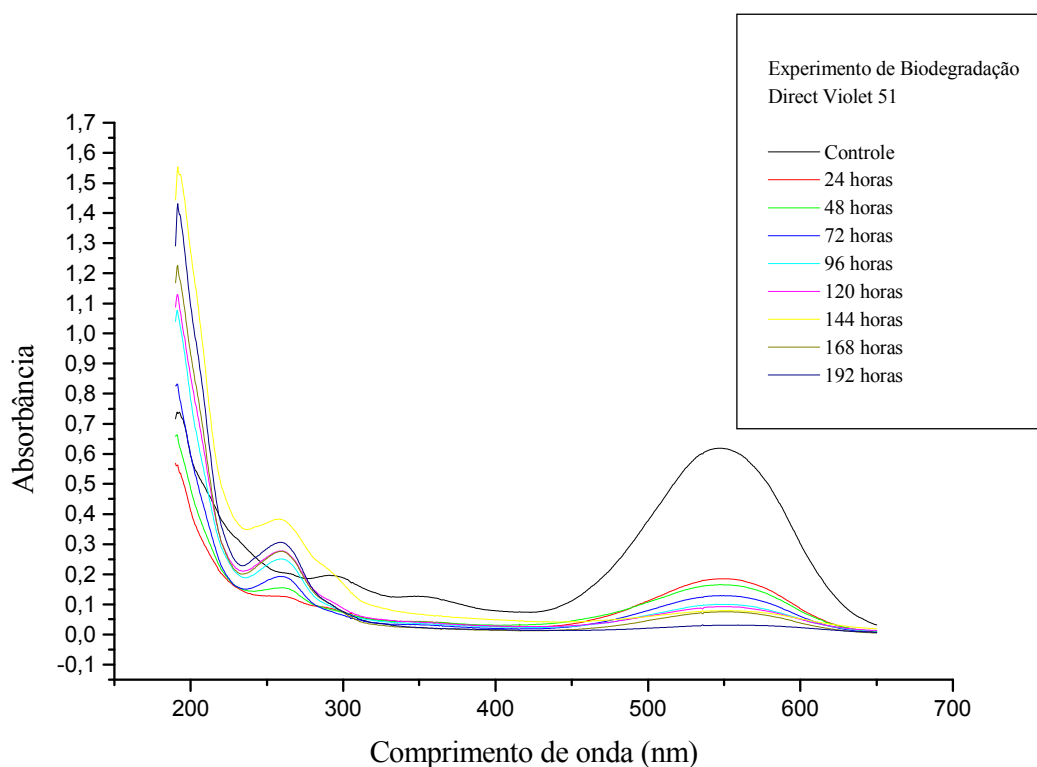


Figura 26. Espectro de absorção do corante Direct Violet 51 após interação com cerca 1,2g/4mL de *S. cerevisiae* em um intervalo de 24 e 192 horas, sendo a concentração inicial de corante igual a 410 $\mu\text{g/mL}$. Caminho óptico de 5mm e Cubeta de Quartzo.

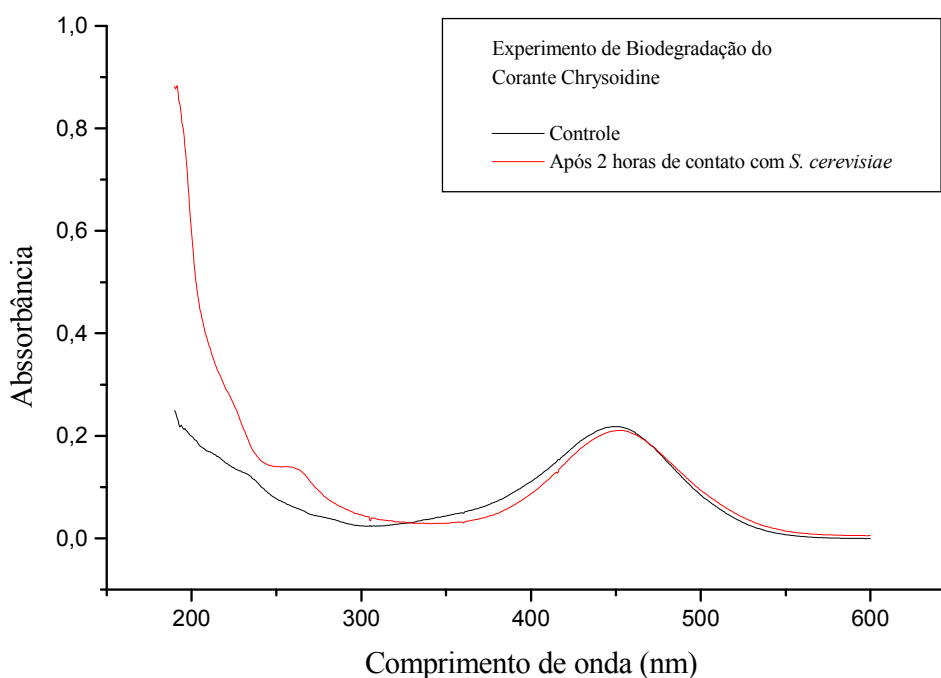


Figura 27. Espectro de absorção do corante Chrysoidine após interação com cerca de 0,05g/mL de *S. cerevisiae* em um intervalo de 2 horas, sendo a concentração inicial igual a 7 $\mu\text{g/mL}$. Caminho óptico de 5mm e Cubeta de Quartzo.

Os valores da absorbância relativa, porcentagem de descoloração e concentração de corante remanescente dos corantes Acid Orange 7, Direct Violet 51 e Chrysoidine foram determinadas em diferentes intervalos de tempo, e estão descritas respectivamente nas Tabelas 8, 9 e 10.

Tabela 8. Porcentagem de descoloração, concentração de corante remanescente e absorbância relativa do corante Acid Orange 7, em um intervalo de 24 a 312 horas de tratamento com cerca de 0,0098g/mL de *S. cerevisiae*. Sendo que segundo a metodologia Glen e Gold (1983) o processo de biodegradação de fato se iniciou a partir de 216 horas.

Tempo (horas)	% de Descoloração	Concentração de corante remanescente (µg/mL)	Absorbância Relativa (Abs ⁴⁸³ /Abs ³²⁰)
0	0	3540,00	2,99
24	26,98	2557,30	2,98
48	30,31	2438,60	2,98
72	31,41	2399,50	2,97
96	33,34	2330,38	2,92
120	38,15	2158,90	2,86
144	42,61	1999,74	2,85
168	43,51	1967, 72	2,79
192	45,62	1892,30	2,76
216	48,24	1798,90	2,70
240	56,45	1506,00	2,56
264	60,81	1350,17	2,43
288	71,14	981,66	2,05
312	82,10	590,70	1,74

Tabela 9. Porcentagem de remoção do corante Direct Violet 51, em um intervalo de 24 a 192 horas de tratamento com 0,0098g/mL de suspensão de *S. cerevisiae* a 30. Sendo que segundo a metodologia Glen e Gold (1983) o processo de biodegradação se inicia com 24 horas de contato.

Tempo (horas)	% de Descoloração	Concentração de corante remanescente (µg/mL)	Absorbância Relativa (Abs ⁵⁴⁴ /Abs ³⁵⁰)
0	0	410,00	4,86
24	70,26	122,00	4,23
48	73,37	109,18	3,85
72	79,16	85,32	3,96
96	83,93	65,65	2,70
120	85,21	60,40	2,25
144	87,22	52,12	1,16
168	87,95	49,12	3,40
192	95,03	19,92	1,32

Tabela 10. Porcentagem de remoção do corante Chrysoidine, em um intervalo de 2 horas de tratamento com cerca de 0,0014g/mL de *S. cerevisiae*. Sendo que segundo Glen e Gold (1983) em 2 horas já se tem um significativo processo de biodegradação

Tempo (horas)	% de Descoloração	Concentração de corante remanescente (µg/mL)	Absorbância Relativa (Abs ⁴⁵⁰ /Abs ²⁶⁰)
0	0	7,00	3,55
2 horas	4,90	6,66	1,52

Analisando os resultados obtidos foi possível verificar que a porcentagem de descoloração dos corantes foi aumentando proporcionalmente ao tempo de contato com a levedura *S. cerevisiae*, ou seja, quanto maior tempo de contato com a levedura, maior foi a porcentagem de remoção. O processo predominante da remoção da cor foi determinado a partir do cálculo dos valores das absorbâncias relativas, que segundo Glenn e Gold (1983) é predominante a etapa de bioissorção se os valores permanecem constantes e a biodegradação, se os valores se alterarem de forma significativa.

Os processos de biodegradação foram mantidos para os três corantes estudados até que ocorresse uma significativa variação na absorbância relativa de cada um.

Chen et al. (2009) investigaram o potencial biodegradativo das bactérias *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus fermentum* para degradar 10 diferentes corantes, dentre eles o corante Acid Orange 7. O estudo mostrou que em 36 horas de contato, as bactérias *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus fermentum* conseguiram remover respectivamente, 65 e 71% do corante contido na solução inicial. O estudo mostrou também que a degradação desse corante gerou subprodutos potencialmente tóxicos, como aminas aromáticas.

Jesus (2005) estudou a biodegradação de 12 corantes têxteis, por *Neurospora crassa*, dentre eles o corante Direct Violet 51. Neste trabalho é descrito que a partir de 120 horas de contato do corante com o fungo, quase todo o corante foi removido. Foi constatada um pico em 265 nm, que para este corante, é um pico típico de amino/naftol livre. Este mesmo pico foi constatado no presente estudo, ficando bem evidente a partir de 96 horas de contato com a levedura *S. cerevisiae*, podendo ser este um indicativo de formação subprodutos tóxicos.

Nas Figuras 28 e 29 estão ilustradas as variações da tonalidade das soluções dos corantes Acid Orange 7 e Direct Violet 51, antes e depois do teste de biodegradação. Para o corante Acid Orange 7 é possível notar que após a biodegradação a solução adquiriu uma tonalidade de cor castanho

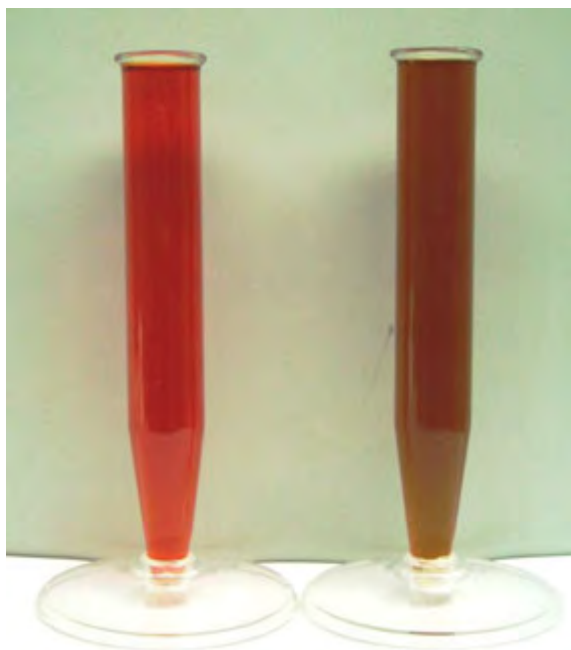


Figura 28. Observando essa figura é possível verificar a variação da tonalidade da solução do corante antes (esquerda) e depois (direita) do processo de biodegradação.

5.5. Testes de Toxicidade Após Experimentos de Remoção

5.5.1. Testes de Toxicidade Após Biossorção

Os resultados obtidos com os testes de toxicidade, após o processo de biossorção, estão expressos nas Tabelas 11, 12 e 13, e mostram que houve uma diminuição da % de inibição do crescimento das raízes de *Allium cepa*. Para o corante Acid Orange 7 a % de inibição do crescimento das raízes de 50% foi reduzida a 21,84 %, enquanto que para os corantes Direct Violet 51 e Chrysoidine a inibição inicial de 100% foi reduzida para 67,52 e 82,18%, respectivamente.

Esses resultados indicam que o processo de biossorção se mostrou eficiente para a remoção e redução do grau de toxicidade dos corantes testados. De acordo com o primeiro teste de toxicidade realizado, descrito no item 5.1., os valores das porcentagens de inibição foram coerentes e ficaram dentro do intervalo esperado.

Tabela 11. Comprimento (cm), média das 3 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas a concentração remanescente do corante Acid Orange 7. Sendo que a concentração inicial de corante no teste de biossorção foi de 3540,00 $\mu\text{g/mL}$ e o tempo de contato de 2 horas.

Repetições	1	2	3	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	3,35	3,62	3,47	3,48 $\pm$ 0,14	-----
2.346,81 $\mu\text{g/mL}$	2,70	2,65	2,80	2,72 $\pm$ 0,08	21,84

Tabela 12. Comprimento (cm), média das 3 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas a concentração remanescente do corante Direct Violet 51. Sendo que a concentração inicial de corante no teste de biossorção foi de 3900,00 $\mu\text{g/mL}$ e o tempo de contato de 2 horas.

Repetições	1	2	3	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	3,35	3,62	3,47	3,48 $\pm$ 0,14	-----
1887,20 $\mu\text{g/mL}$	1,2	1,1	1,1	1,13 $\pm$ 0,06	67,52

Tabela 13. Comprimento (cm), média das 3 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas a concentração remanescente do corante Chrysoidine. Sendo que a concentração inicial de corante no teste de bioassorção foi de 77 $\mu\text{g/mL}$ e o tempo de contato de 30 minutos.

Repetições	1	2	3	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	3,35	3,62	3,47	3,48 $\pm$ 0,14	-----
53,08 $\mu\text{g/mL}$	0,70	0,60	0,55	0,62 $\pm$ 0,08	82,18

As Figuras 30, 31 e 32, ilustram o crescimento médio das raízes dos bulbos de *Allium cepa* utilizados neste ensaio e mostram a diferença do controle para os bulbos que ficaram em contato com as soluções de corante.



Figura 30. Esta figura ilustra o tamanho das raízes de um dos bulbos de *Allium cepa* utilizados no teste de toxicidade após o processo de bioassorção, a direita temos um dos bulbos utilizados no controle negativo (água mineral) e a esquerda um dos bulbos que permaneceu em contato com a solução do corante Acid Orange 7.



Figura 31. Esta figura ilustra o tamanho das raízes de um dos bulbos de *Allium cepa* utilizados no teste de toxicidade após o processo de bioissorção, a direita temos um dos bulbos utilizados no controle negativo (água mineral) e a esquerda um dos bulbos que permaneceu em contato com a solução do corante Direct Violet 51.



Figura 32. Esta figura ilustra o tamanho das raízes de um dos bulbos de *Allium cepa* utilizados no teste de toxicidade após o processo de bioissorção, a direita temos um dos bulbos utilizados no controle negativo (água mineral) e a esquerda um dos bulbos que permaneceu em contato com a solução do corante Chrysoidine.

Corso et al. (2003) estudaram a capacidade de bio sorção do corante Direct Violet 51 por *Aspergillus oryzae* paramórfico, e a toxicidade deste corante para *Daphnia similis*. Os resultados obtidos mostraram que o fungo foi eficiente no processo de remoção e que ocorreu uma redução significativa do grau de toxicidade deste corante, antes e depois do processo de bio sorção.

5.5.2. Testes de Toxicidade Após Biodegradação

Os resultados obtidos com o teste de toxicidade após o processo de biodegradação estão expressos nas Tabelas 14, 15 e 16. A partir das análises dos dados foi possível verificar que ocorreu um aumento significativo do grau de toxicidade após o teste de degradação de todos os corantes estudados. O aumento mais expressivo do grau de toxicidade ocorreu com os corantes Acid Orange 7 e Direct Violet 51. O estudo de degradação desses corantes foi conduzido até que as concentrações de corante remanescente atingissem valores onde a toxicidade teoricamente, segundo o teste de toxicidade descrito no item 5.1. seria nula. Mas os resultados de toxicidade obtidos após o processo de biodegradação mostraram que, a porcentagem de inibição das raízes chegou perto de 90% para ambos os corantes, ou seja ocorreu um aumento em torno de 90 vezes do grau de toxicidade. Para o corante Chrysoidine ocorreu um aumento de toxicidade de aproximadamente 1,5 vezes.

Tabela 14. Comprimento (cm), média das 3 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas a concentração remanescente do corante Acid Orange 7. Sendo que a concentração inicial de corante no teste de biodegradação foi de 3540,00 $\mu\text{g/mL}$ e o tempo de contato de 312 horas.

Repetições	1	2	3	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	3,35	3,62	3,47	3,48 $\pm$ 0,14	-----
590,70 $\mu\text{g/mL}$	0,40	0,45	0,48	0,44 $\pm$ 0,04	86,21

Tabela 15. Comprimento (cm), média das 3 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas a concentração remanescente do corante Direct Violet 51. Sendo que a concentração inicial de corante no teste de biodegradação foi de 410,00 $\mu\text{g/mL}$ e o tempo de contato de 192 horas.

Repetições	1	2	3	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	3,20	3,15	3,07	3,14 $\pm$ 0,07	-----
19,92 $\mu\text{g/mL}$	0,36	0,53	0,46	0,45 $\pm$ 0,08	85,85

Tabela 16. Comprimento (cm), média das 3 réplicas $\pm$ desvio padrão e % de inibição das raízes de *Allium cepa* expostas a concentração remanescente do corante Chrysoidine. Sendo que a concentração inicial de corante no teste de biodegradação foi de 7,00 $\mu\text{g/mL}$ e o tempo de contato de 2 horas.

Repetições	1	2	3	Média (cm) e Desvio Padrão	Inibição (%)
Controle Negativo	3,35	3,62	3,47	3,48 $\pm$ 0,14	-----
8,3 $\mu\text{g/mL}$	0,70	0,60	0,55	0,62 $\pm$ 0,08	82,18

Na Figura 33 está ilustrado o um bulbo utilizado no controle e outro que ficou em contato com a solução do corante Direct Violet 51 após o processo de biodegradação.

Um estudo realizado por Gottlieb et al. (2003) onde foi utilizado como organismo bioindicador a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri*, o corante Acid Orange 7 também se mostrou pouco tóxico antes do processo de degradação, mas segundo esse autores a degradação da molécula em meio anaeróbico acarretou na quebra da ligação azo e conseqüente formação compostos tóxicos e potencial causadores de genotoxicidade. Esse aumento do grau de toxicidade foi relacionado com a produção do metabólito 1-amino-2-naftol, e a toxicidade do corante teve um aumento de cerca de 100 vezes.

Sandhu e Chipman (2002) estudaram a degradação do corante Chrysoidine e constataram que os subprodutos formados após a quebra da molécula de corante foram altamente tóxicos e mutagênicos para a bactéria *Salmonella typhimurium*.

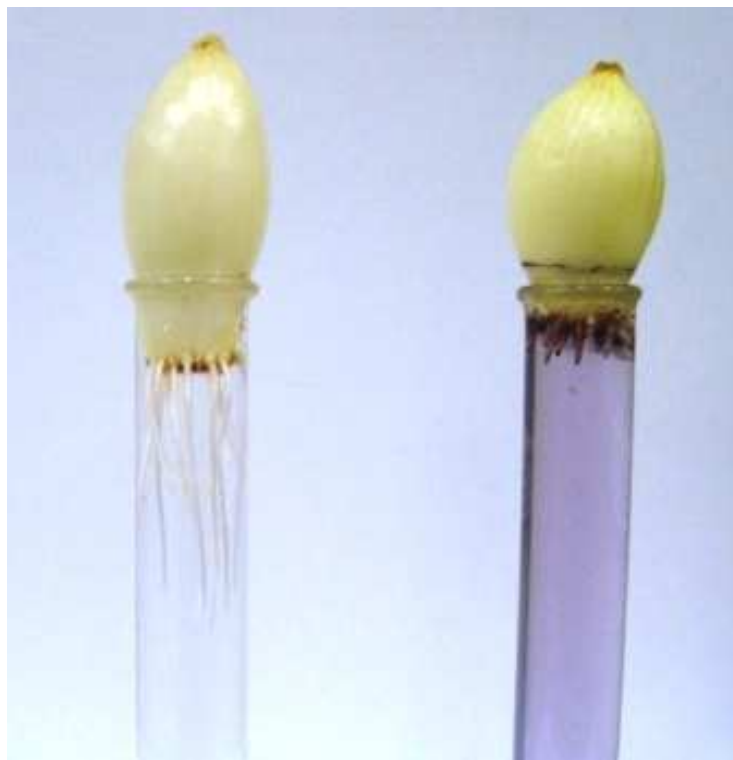


Figura 33. Nesta figura está ilustrado um dos bulbos utilizado no controle (esquerda) e outro que permaneceu em contato com a solução do corante Direct Violet 51 após o processo de biodegradação.

Almeida (2008) estudou a biodegradação (com análises de FTIR e HPLC-UV) do corante azóico Direct Violet 51, a partir da interação com uma cultura mista microbiana, proveniente de um biodigestor de restos alimentares. Os resultados demonstraram claramente que após o processo de biodegradação houve quebra das moléculas do corante em diversos metabólitos, principalmente aminas aromáticas e sulfonadas.

6. CONCLUSÕES

A ação dos corantes sobre os bulbos de *Allium cepa* nos permite separá-los em três categorias:

- Mais tóxico: corante Chrysoidine, que apresenta um CI_{50} igual a 6,17 $\mu\text{g/mL}$ e CI_{100} de 76,15 $\mu\text{g/mL}$;
- Toxicidade intermediária: corante Direct Violet 51, apresentando uma CI_{50} igual a 400,56 $\mu\text{g/mL}$ e CI_{100} de 3891,00 $\mu\text{g/mL}$.
- Baixa toxicidade: corante Acid Orange 7 com CI_{50} de 3517,00 $\mu\text{g/mL}$ e CI_{100} de 8400,00 $\mu\text{g/mL}$.

Neste contexto podemos afirmar que o *Allium cepa* se apresentou como bom indicador de toxicidade para corantes analisados

Em relação ao processo de bioissorção, podemos afirmar que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* se mostrou eficiente no processo de remoção dos corantes, o que resultou em uma diminuição do grau de toxicidade dos três corantes estudados. Sendo que para o corante Acid Orange 7 houve uma redução do CI_{50} para CI_{28} , o Direct Violet 51 sofreu redução de CI_{100} para CI_{84} e o Chrysoidine de CI_{100} para CI_{92} . Os resultados mostraram que o valor de redução da toxicidade foi menos expressiva para o corante Chrysoidine, e um dos fatores que poderia explicar essa característica é o fato de que a molécula desse corante se

mostrou muito instável e sofreu modificações, que foram identificadas através das análises espectrofotométricas UV-VIS, em todos os testes de remoção realizados.

Quanto à biodegradação, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* também mostrou eficiência, e foi capaz de degradar os três corantes testados. O corante Acid Orange 7 mostrou possuir uma molécula bastante complexa e de difícil degradação, visto que esse processo somente teve início efetivo após 216 horas de contato, com a levedura. E a quebra da molécula elevou em aproximadamente 90 vezes o grau de toxicidade deste corante, que em um primeiro momento nesse estudo se apresentou muito pouco tóxico.

O Corante Direct Violet 51, também teve um aumento do grau de toxicidade após o processo de biodegradação, e suas moléculas sofreram um processo de degradação mais acelerado que as moléculas do corante Acid Orange 7, sendo que em 24 horas já foi possível notar variação considerável da absorbância relativa.

E o corante Chrysoidine mostrou possuir uma molécula muito fácil de ser degradada, pouco instável, e bastante tóxica. Em nenhum dos testes de bioissorção realizados foi possível chegar a um resultado final em que a molécula se mantivesse intacta, todos os testes mostraram que após o contato com a levedura a molécula já sofria modificações, mesmo utilizando intervalos de tempo bastante pequenos e suspensões de levedura com concentrações muito baixas. Essa característica torna o poder de contaminação desse corante ainda maior, pois ele mostrou que pode facilmente ser degradado e levar a formação de subprodutos com alto potencial de toxicidade.

Sendo assim, analisando os resultados do presente estudo foi possível concluir que do ponto de vista toxicológico é muito mais interessante realizar a remoção moléculas dos corantes sintéticos por meio da bioissorção, ou seja, sem que ocorram quebras das ligações, uma vez que a degradação dessas moléculas fez com que ocorresse um aumento do grau de toxicidade dos três corantes estudados.

REFERÊNCIAS

ABIQUIM, Associação Brasileira da Indústria Química. Disponível em: <<http://www.abiquim.org.br/>>. Acesso em: 22 de junho de 2010.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13373: Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica – Método de Ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro. 12p. 2003.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12713: Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com *Daphnia* spp (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro: 17p. 2004.

AKSU, Z.; TATLI, A. I.; TUNÇ, O. A comparative adsorption/biosorption study of Acid Blue 161: Effect os temperature on equilibrium and kinetic parameters. **Chemical Engineering Journal**. v. 142, p. 23-29, 2008.

ALMEIDA, A. C. M. **Estudo da biodegradação de corantes azóicos por inóculo proveniente de biodigestor anaeróbio de alimentos**. 2008. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

ALI, N.; HAMEED, A.; SIDDIQUI, M. F.; GHUMRO, P. B.; AHMED, S. Application of *Aspergillus niger* SA1 for the enhanced bioremoval of azo dyes in simulated textile effluent. **African Journal of Biotechnology**, Nairob, v. 08, n. 16, p. 3839-3845, 2009.

AZMI, W.; SANI, R. J.; BENERJEE, U. C. Biodegradation of triphenylmethane dyes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 22, p.185-191, 1998.

BONSER, G.M.; BRADSHAW, L.; CLAYSON, D. B.; JULL J.W. A further study on the carcinogenic properties of ortho-hydroxyamines and related compounds by bladder implantation in the mouse. **Br J Cancer**, v.10, p. 539–46, 1956.

BRENTANO, D. M. **Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*: avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário**. 2006. 145f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Departamento de Engenharia Sanitária Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

BURATINI, S. V. Biodegradação. **Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, p. 89-116, 2006.

CARNEIRO, P. A.; OSUGI, M. E.; FUGIVARA, C. S.; BORALLE, N.; FURLAN, M.; ZANONI, M. V. B. Evaluation of different electrochemical methods on the oxidation and degradation of Reactive Blue 4 in aqueous solution. **Chemosphere**, v.59, p. 431-439, 2004.

CESAR, A; SILVA, S. L. R.; SANTOS, A. R. Testes de Toxicidade Aquática no Controle da Poluição. Universidade Santa Cecília. Santos, São Paulo, Brasil, 1997.

CHANG, R. **Physycal Chemistry for the Chemical and Biological Sciences**. 3 ed. Sausalito: University Science Books, 2000. 1007 p.

CHAUBE, P.; INDURKAR, H.; MOGHE, S. Biodegradation and decolorisation of dye by mix consortia of bacteria and study of toxicity on *Phaseolus mungo* and *Triticum aestivum*. **Asiatic Journal of Biotechnology Resources**, v. 01, p. 45-56, 2010.

CHEN, H.; XU, H.; HEINZE, T. M.; CERNIGLIA, C. E. Decolorization of water and oil-soluble azo dyes by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus fermentum*. **Journal of Industrial Microbiology e Biotechnology**, v. 36, p. 1459-1466, 2009.

CHI, Z.; LIUA, R.; PANA, X.; TENGA, Y.; QINA, H. ZHUB, B.; HAOC, X. Investigation on the toxic interaction of chrysoidine hydrochloride–CTMAB combined contamination with calf thymus DNA. **Spectrochimica Acta Part**, v. 75, p. 177–182, 2009.

CHUNG, K. T.; FULK, G. E.; EGAN, M. Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. **Applied and Environmental Microbiology** v. 35, p. 35:558–62, 1978.

CLARKE, C. E.; KIELAR, F.; TALBOT, H. M.; JOHNSON, K. L. Oxidative Decolorization of acid azo dyes a Mn oxidative containing waste. **Environ. Sci. Technol**, v.44, p. 1116–1122, 2010.

CONTATO, I. M. **Emprego de *Aspergillus niger* paramorfogênico para avaliação do grau de interferência dos aditivos químicos na biosorção de corantes têxteis de efluentes industriais**. 1995. 173 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

CORSO, C. R. **Aplicabilidade das equações de Freundlich e Langmuir e o estudo as toxicidade, na interação bioassortiva entre *Aspergillus oryzae* paramorfogênico e corantes azóicos de solução aquosa**. 1998. 115f. Tese (Livre-Docência) – Instituto de Biociências, Biofísica, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

CORSO, C. R.; JESUS, G. J.; VITOR, V.; FAHL, P. Descoloração e diminuição da toxicidade de corante têxtil Direct Violet 51 por *Aspergillus oryzae* paramorfogênico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 03, p. 1-4, 2003.

DALLAGO, R. M.; SMANIOTTO, A.; OLIVEIRA, L. C. A. Resíduos sólidos de curtumes como absorventes para remoção de corantes em meio aquoso. **Revista Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 433-437, 2005.

DAMBROS, V. S. **Processo de tingimento de ágatas: medidas de produção mais limpa e estudos de detoxificação do efluente**. 2008. 66f. Dissertação (Mestrado na Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R.; BALAN, D. S. L. Biodegradação de corantes têxteis. **Microbiologia Ambiental**, Jaguariúna: Embrapa e Meio Ambiente, 2 ed., p. 321-338, 2008.

ENAYATZAMIR, K.; ALIKHANI, H. A.; YAKHCHALI, B.; TABANDEH, F.; RODRÍGUEZ-COUTO, S. Decolouration of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* immobilised into alginate beads. **Environmental Science and Pollution Research**, v.17, p. 145-153, 2010.

FAHL, P. **Estudo da interação biosortiva entre *Aspergillus oryzae* CCT 5321 paramorfogênico e os corantes Acid Yellow 25, Direct Blue 86 e solução binária verde em meio aquoso**. 2002. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p. 99-112, 1985.

FORGIARINI, E. **Degradação de corantes e efluentes têxteis pela enzima horseradish peroxidase (HRP)**. 2006. 121f. Dissertação (Mestrado Engenharia Química) - Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

GHOREISHI, S. M., HAGHIGHI, R. Chemical catalytic reaction and biological oxidation for treatment of non-biodegradable textile effluent. **Chemical Engineering Journal**, v. 95, p. 163-169, 2003.

GLENN, J. K.; GOLD, M. H. Decolorization of several polymeric dyes by the Lignin Degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 45, n. 6, p. 1741-1747, 1983.

GOTTLIEB, A.; SHAW, C.; SMITH, A., WHEATLEY, A.; FORSYTHE, S.; The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 101, p. 49-56, 2003.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Revista Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-79, 2000.

GUERRA, R. C. **Estudo do lodo gerado em reator biológico, pelo tratamento da água de produção do petróleo, no terminal marítimo Almirante Barroso, Município de São Sebastião, SP, visando sua disposição final**. 2009. 126f. Tese (Doutorado em Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

KALME, S. D.; PARSHETTI, G. K.; JADHAV, S. U.; GOVINDWAR, S. P. Biodegradation of benzidine based dye Direct Blue-6 by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, p. 1405-1410, 2006.

KAMIDA, H. M. **Biodegradação e toxicidade de efluente contendo corantes, tratado com *Pleurotus sajor-caju***. 2004. 169f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

KAMIDA, H. M.; DURRANT, L. R. Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Revista Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 629-632, 2005.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal Biosorption – an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. **Bioresource Technology**, v. 53, p. 195-206, 1995.

KUNZ, A., PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Revista Química Nova**, v.25, n. 1, p. 78-82, 2002

JESUS, G. J. **Utilização de *Neurospora crassa* 74A para a avaliação da biossorção e biodegradação dos corantes ácidos, xanteno, direto e reativo**. 2005. 149 f. Tese

(Doutorado em Ciências Biológicas na Área de Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.

MACHADO, K. M. G. et al. Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from brazilian ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 481 – 487, 2006.

MANAHAN, S. E. Biodegradation and Bioaccumulation. **Toxicological Chemistry**, Michigan: Lewis Publishers, 2 ed., p. 135-160, 1992.

OLIVEIRA, D. P. **Corantes como importante classe de contaminantes ambientais – um estudo de caso**. 2005. 159f. Dissertação (Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

OURA, E. Biomass from carbohydrates. **Biotechnology**, Wheimeim: Verlang Chemie, 3 ed., p. 3-41, 1995.

PANDEY, A.; SINGH, P.; IYENGAR, L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. **Internacional Biodeterioration & Biodegradation**, v. 59, p. 73-84, 2007.

PEREIRA, W. S.; FREIRE, R. S. Ferro zero: Uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes. **Revista Química Nova**, v.28, p. 130-136, 2005.

PASZCZYNSKI, A.; CRAWFORD, R. L. Potential for bioremediation of xenobiotic compounds by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Biotechnology Progress**, v. 11, p. 368-379, 1995.

RAJAGURU, P.; KALAISELVI, K.; PALANIVEL, M.; SUBBURAM, V. Biodegradation of azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 54, p. 268-273, 2000.

RODRIGUES, H. D. P. **Potencial biossortivo e biodegradativo da “*Saccharomyces cerevisiae*” imobilizada em alginato de cálcio e em células livres na remoção de corantes**

têxteis de efluentes. 2010. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. S. Reduções enantiosseletivas de cetonas utilizando-se fermento de pão. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 6, 2001.

RODRIGUES, T. A. **Estudo da interação biosortiva entre o corante reativo procion blue mxg e as linhagens CCB 004, CCB 010 e CCB 650 de *Pleurotus ostreatus* paramorfogênico**. 2003. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

SHANDU, P.; CHIPMAN, J. K. Bacterial mutagenesis and hepatocyte unscheduled DNA synthesis induced by chrysoidine azo-dye components. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 240, n. 3, p. 227-236, 1990.

SHARMA, S.; SHARMA, S.; SINGH, P. K.; SWAMI, R. C.; SHARMA, K. P. Exploring fish bioassay of textile dye wastewaters and their selected constituents in terms of mortality and erythrocyte disorders. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 83, n. 1, p. 29-34, 2009.

SHINTAKU, S. F.; IMBROISI, D.; SANTOS, A. J. M. G. **Processos oxidativos avançados e tratamento de corantes sintéticos**. Anais da Associação Brasileira de Química (ABQ). Brasília, 2004. Disponível em: <<http://www.unb.br/resqui/abq2004-1.pdf>>. Acesso em: 19 maio, 2010.

SILVA FILHO, H. A.; SANTOS, E. V. M.; SAMPAIO, G. M. M. S.; RODRIGUES, K. A.; ARTHAUD, I. Ensaio de toxicidade e remoção de corantes têxteis por processo biológico. CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 2., 2007, João Pessoa, Paraíba, Brasil. Disponível em: <http://www.redenet.edu.br/publicacoes/arquivos/20080213_090927_MEIO-070.pdf>. Acesso em: 12 de abril de 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, C. G.; MORRILL, T. C. **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 387 p.

SIVASAMY, A.; SUNDARABAL, N. Biosorption of an azo dye by *Aspergillus niger* and *Trichoderma* sp. fungal biomasses. **Current Microbiology**, v. 61, n.1, 2010.

SOLE, G. M.; CHIPMAN, J. K. The mutagenicity potency of chrysoidines and bismark brown dyes. **Carcinogenesis**, v. 7, n. 11, p. 1921-1923, 1986.

SOUZA, C.L.; PERALTA-ZAMORA, P. Degradação redutiva de azo-corantes utilizando-se ferro metálico. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, n. 01, p. 16-20, 2006.

TRINDADE, R. C. **Adsorção dos azo corantes Crisoidina CI 11270 e Amaranto CI 16185 por células de leveduras de gênero *Rhodotorula*: Influência de alguns componentes celulares e temperatura**. 1986. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas na área de Biologia Vegetal) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

VELENTIM, A. C. S.; DEZOTTI, M. Ensaio de Toxicidade. **Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos**, Rio de Janeiro: E-Papers, p. 309-356, 2008.

VITOR, V. **Emprego da linha selvagem de *Candida albicans* isolada de efluente industrial para a avaliação da biossorção/biodegradação do corante azóico “Direct Violet 51”**. 2005. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

VITOR, V.; CORSO, C.R. Decolorization of textile dye by *Candida albicans* isolated from industrial effluents. **Journal Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 35, p. 1353-1357, 2008.

ZAGGATO, 2006. Ecotoxicologia. **Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, p. 1-13, 2006.

Erica Janaina Rodrigues de Almeida

Aluna Erica Janaina Rodrigues de Almeida

Prof. Dr. Carlos Renato Corso

Prof. Dr. Carlos Renato Corso