
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MICROBIOLOGIA APLICADA

Estudo da biorremediação dos azo corantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B por fungos filamentosos em solução simples e solução binária associado a testes de toxicidade com *Lactuca sativa* e *Artemia salina*

Erica Janaina Rodrigues de Almeida

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Abril - 2013

**ESTUDO DA BIORREMEDIAÇÃO DOS AZO CORANTES TÊXTEIS
ACID BLUE 161 E PROCION RED MX-5B POR FUNGOS
FILAMENTOSOS EM SOLUÇÃO SIMPLES E SOLUÇÃO BINÁRIA
ASSOCIADO A TESTES DE TOXICIDADE COM *Lactuca sativa* E
*Artemia salina***

ERICA JANAINA RODRIGUES DE ALMEIDA

Orientador: Prof. Dr. Carlos Renato Corso

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Rio Claro - SP

Abril - 2013

576
A447e Almeida, Erica Janaina Rodrigues
Estudo da biorremediação dos azo corantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B por fungos filamentosos em solução simples e solução binária associado a testes de toxicidade com *Lactuca sativa* e *Artemia salina* / Erica Janaina Rodrigues Almeida. - Rio Claro : [s.n.], 2013
163 f. : il., figs., gráfs., tabs., quadros

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Carlos Renato Corso

1. Microorganismos. 2. Toxicidade aguda. 3. Resíduos têxteis. 4. Biodegradação. 5. Bio sorção. 6. Toxicologia. I. Título.

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Estudo da biorremediação dos azo corantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B por fungos filamentosos em solução simples e solução binária associado a testes de toxicidade com Lactuca sativa e Artemia salina

AUTORA: ERICA JANAINA RODRIGUES DE ALMEIDA

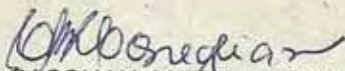
ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS RENATO CORSO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), pela Comissão Examinadora:



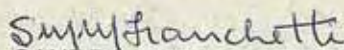
Prof. Dr. CARLOS RENATO CORSO

Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências / UNESP - Rio Claro



Profa. Dra. CASSIANA MARIA REGANHAN CONEGLIAN

Universidade Estadual de Campinas - Limeira/SP



Profa. Dra. SANDRA MARA MARTINS FRANCHETTI

Departamento de Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências / UNESP - Rio Claro

Data da realização: 01 de abril de 2013.

*Dedico aos principais responsáveis por eu ter chegado até aqui,
aqueles que me apoiaram e me deram seu amor incondicional.*

***Meus PAIS,
FRANCISCO E ADINALVA***

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 me dar 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.

Aos meus irmãos Camila e Guilherme, responsáveis por iluminar meus dias, me dar motivos para sorrir e encher meu coração de alegria.

Ao meu noivo Cícero, companheiro e amigo em todos os momentos. Obrigada pela compreensão, pelo apoio e por me incentivar nos momentos mais complicados. Você sabe bem o quanto custou chegar até aqui. Todos os sábados que você passou comigo dentro do laboratório me fazendo companhia enquanto eu realizava meus experimentos. Obrigada por você ser quem você é. Você é meu amor e é a pessoa no qual eu quero passar todos os dias da minha vida. Mais uma vez obrigada.

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, pelos conselhos, por acreditar em mim e me apoiar em todos os momentos. Mestre a amigo que não faltou comigo em nenhum momento. Quem eu tive o prazer de conhecer e tenho orgulho de trabalhar.

Ao Beto que sempre me salvou quando todos os experimentos não funcionavam. Obrigada Beto, você sempre me mostrou que havia uma luz no final do túnel, e que desistir é inadmissível. Obrigada por todos os ensinamentos.

Ao Lab. Multi, que com certeza é o laboratório mais legal da Unesp. Obrigada a todos os meus companheiros Grazy, Jaque, Chal, Ivo, Emi, Bill, Burns e Agregados Thayse e Morales, e todos os demais pela boa convivência e por fazer dos momentos de trabalho, momentos mais agradáveis e gostosos de serem vividos.

Agradeço também aos outros técnicos de laboratório Carmem, Fátima, Adriano e demais colegas de departamento, que em algum momento também contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

A toda a minha turma Ecologia 2007, amigos irmãos que eu vou levar comigo pra sempre, e que de uma forma ou de outra também contribuíram para o bom desenvolvimento desse projeto.

A toda minha família e amigos que sempre compreenderam meus esforços e sempre me apoiaram para chegar até aqui.

Agradeço a Capes pelo apoio financeiro.

*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.*

Drummond

RESUMO

A liberação de resíduos têxteis no meio ambiente, com destaque para os corantes sintéticos, representa um dos principais problemas ambientais da atualidade, devido ao seu grande potencial de poluição dos corpos d'água. Esses compostos quando presentes no ambiente possuem alta persistência, pois apresentam em sua composição química, grandes quantidades de anéis aromáticos, ligações azóicas, aminas e grupos sulfônicos, que lhes conferem lento processo de biodegradação e elevado potencial toxicológico. Diversas pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de reduzir nos efluentes a concentração de corantes e dos metabólitos que são gerados com a degradação dessas moléculas, que por vezes podem ser mais tóxicas que a molécula inicial. Entendendo toda essa problemática, o presente estudo teve como objetivos avaliar a bio sorção e biodegradação dos azo corantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B em solução simples e solução binária pelos fungos filamentosos *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e *Rhizopus oligosporus*. Todos os tratamentos foram associados a testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia salina* e sementes de *Lactuca sativa*. Nos testes biossortivos o fungo que apresentou maior capacidade de descoloração das soluções foi o *A. niger*. Enquanto que no teste de biodegradação o fungo *A. terreus* apresentou maior capacidade de degradação das moléculas dos corantes. No processo biodegradativo análises de FTIR mostraram a presença de aminas e outros metabólitos que foram formados durante o tratamento biológico dos corantes. Nos testes de toxicidade as sementes de *L. sativa* foram mais sensíveis à presença dos corantes e após o teste de bio sorção dos corantes ocorreu redução da toxicidade das soluções para os dois organismos-teste utilizados, indicando que o tratamento foi eficiente na descoloração e redução da toxicidade das soluções. Enquanto que para o tratamento de biodegradação, em todas as soluções ocorreu aumento da toxicidade em relação a toxicidade inicial, evidenciando que a quebra das moléculas dos corantes durante o tratamento levou a formação de metabólitos secundários altamente tóxicos. Portanto, do ponto de vista toxicológico o tratamento biossortivo foi mais eficiente, pois ele foi capaz de descolorir as soluções sem levar a formação de metabólitos secundários com potencialidade toxicológica, como por exemplo, as aminas.

Palavras-chave: Azo corantes. Bio sorção. Biodegradação. Fungos filamentosos. *Artemia salina*. *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

The release of textile waste in the environment, especially the synthetic dyes, represents one of the main environmental problems of the present time due to its great potential for pollution of water bodies. These substances when present in the environment have high persistence, because they present in their chemical composition, large amounts of aromatic rings, azo groups, amines, sulfonic groups, which impart a slow process of biodegradation and high toxic potential. Several investigations have been performed in order to reduce the effluent concentration of dyes and metabolites that are generated by the degradation of these molecules, which can sometimes be more toxic than the original molecule. Understanding all this problem, this study aimed to evaluate the biosorption and biodegradation of textile azo dyes Acid Blue 161 and Procion Red MX-5B in simple and binary solution by the filamentous fungus *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Rhizopus oligosporus*. All treatments were associated with toxicity tests with the brine shrimp *Artemia salina* and seeds of *Lactuca sativa*. In biosorption tests fungus that showed the greatest ability to discolouration of the samples was *A. niger*. While in the biodegradation test fungus *A. terreus* showed greater capacity for degradation of the dye molecules. In the biodegradation process FTIR analysis showed the presence of amines and other metabolites for the biological treatment of the dyes. In toxicity tests the seeds of *L. sativa* were more sensitive to the presence of the dyes. After biosorption test one of the dyes occurred reducing the toxicity of the samples for the two organisms used as biological indicators, showing that the treatment was effective in reducing the discoloration and toxicity of the solutions. For the treatment of biodegradation occurred in all samples increased toxicity, relative to the initial toxicity of the solutions. This indicates that the molecules were degraded by the fungus *A. terreus* occurred and that the formation of highly toxic secondary metabolites. This indicates that the toxicologically biosorption treatment is more efficient as it is capable of discoloring the samples occurs without the formation of secondary metabolites with potential toxicity, such as amines.

Key-words: Azo dyes. Biosorption. Biodegradation. Filamentous fungus. *Artemia salina*. *Lactuca sativa*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Importações e exportações brasileiras no setor de corantes, pigmentos e branqueadores ópticos, de 2005 a 2010.....	23
Figura 2 – Rio Cachoeira, Joinville, Santa Catarina.....	25
Figura 3 – Classificação dos corantes sintéticos de acordo com o grupo cromóforo.....	29
Figura 4 – Estrutura molecular do corante Acid Blue 161.....	41
Figura 5 – Estrutura molecular do corante Procion Red MX-5B.....	42
Figura 6 – Esquema do preparo do teste de fitotoxicidade com sementes de <i>L. sativa</i>	46
Figura 7 – Eclosão dos ovos de <i>A. salina</i>	47
Figura 8 – Esquema do ciclo de vida do microcrustáceo <i>Artemia salina</i>	48
Figura 9 – Teste de toxicidade aguda com <i>A. salina</i>	50
Figura 10 – Imagem microscópica do fungo <i>A. niger</i>	51
Figura 11 – Imagem microscópica do fungo <i>A. terreus</i>	51
Figura 12 – Imagem microscópica do fungo <i>R. oligosporus</i>	51
Figura 13 – Esquema da paramorfogênese física dos fungos filamentosos.....	55
Figura 14 – Esquema do teste de biodegradação dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária.....	63
Figura 15 – Espectro de absorção do corante AB 161 em solução simples na concentração de 100 µg/mL.....	66
Figura 16 – Espectro de absorção do corante PR MX-5B em solução simples na concentração de 100 µg/mL.....	67
Figura 17 – Espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e em solução binária nas concentrações de 100 µg/mL.....	68
Figura 18 – Espectros de absorção do corante AB 161 em solução simples na presença de diferentes valores de pH.....	70
Figura 19 – Espectros de absorção do corante PR MX-5B em solução simples na presença de diferentes valores de pH	71

Figura 20 – Espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária na presença de diferentes valores de pH	72
Figura 21 – Inibição de crescimento da raiz de <i>L. sativa</i> após 72 horas de exposição a diferentes concentrações do corante AB 161 em solução simples.....	74
Figura 22 – Inibição de crescimento da raiz de <i>L. sativa</i> após 72 horas de exposição a diferentes concentrações do corante PR MX-5B em solução simples.....	75
Figura 23 – Inibição de crescimento da raiz de <i>L. sativa</i> após 72 horas de exposição a diferentes concentrações dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária.....	76
Figura 24 – Inibição do crescimento radicular das plântulas de <i>L. sativa</i> em diferentes concentrações do corante AB 161 em solução simples.....	77
Figura 25 – Inibição do crescimento radicular das plântulas de <i>L. sativa</i> em diferentes concentrações do corante PR MX-5B em solução simples.....	77
Figura 26 – Desenvolvimento das sementes de <i>L. sativa</i> em (A) água destilada (solução controle) e (B) solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B na concentração de 2750 µg/mL.....	77
Figura 27 – Mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> frente a diferentes concentrações do corante AB 161 em solução simples.....	79
Figura 28 – Mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> frente a diferentes concentrações do corante PR MX-5B em solução simples.....	79
Figura 29 – Mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> frente a diferentes concentrações do corante AB 161 e PR MX-5B em solução binária.....	80
Figura 30 – Espectros de absorção do corante AB 161 em solução simples.....	82
Figura 31 – Espectros de absorção do corante PR MX-5B em solução simples.....	83
Figura 32 – Espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária...	84
Figura 33 – Correlação entre diferentes quantidades de biomassa peletizada (1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL) dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i> e % de descoloração das soluções-teste do corante AB 161 em solução simples.....	86
Figura 34 – Correlação entre diferentes quantidades de biomassa peletizada (1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL) dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i> e % de descoloração das soluções-teste do corante PR MX-5B em solução simples.....	87

Figura 35 – Correlação entre diferentes quantidades de biomassa peletizada (1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL) dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i> e % de descoloração das soluções-teste dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária.....	88
Figura 36 – Esquema hipotético da aderência das moléculas dos corantes AB 161 e PR MX-5B na parede celular dos fungos estudados.....	92
Figura 37 – Efeito da capacidade adsortiva dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i> com o aumento da quantidade (g) de biomassa fúngica para o corante AB 161.....	93
Figura 38 – Efeito da capacidade adsortiva dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i> com o aumento da quantidade (g) de biomassa fúngica para o corante PR MX-5B.....	94
Figura 39 – Efeito da capacidade adsortiva dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i> com o aumento da quantidade (g) de biomassa fúngica para solução binária.....	95
Figura 40 – <i>Pellets</i> dos fungos (A) <i>A. niger</i> ; (B) <i>R. oligosporus</i> ; e (C) <i>A. terreus</i> após estudo de interação biossortiva com a solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B.....	95
Figura 41 – Imagem dos <i>pellets</i> dos fungos (A) <i>A. niger</i> (B) <i>R. oligosporus</i> (C) <i>A. terreus</i> ; após interação biossortiva com a solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B.....	96
Figura 42 – Espectros de absorção e absorbâncias relativas do corante AB 161 em solução simples antes e após 120 horas de interação com 3 mg/mL de biomassa peletizada dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	102
Figura 43 – Espectros de absorção e absorbâncias relativas do corante PR MX-5B em solução simples antes e após 120 horas de interação com 3 mg/mL de biomassa peletizada dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	103
Figura 44 – Espectros de absorção e absorbâncias relativas dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária antes e após 120 horas de interação com 3 mg/mL de biomassa dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	104
Figura 45 – Variação de concentração das soluções composta pelo corante AB 161 antes e após o tratamento microbiológico.....	105
Figura 46 – Variação de concentração das soluções composta pelo corante PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico.....	105

Figura 47 – Variação de concentração das soluções binárias compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico.....	106
Figura 48 – Porcentagem de descoloração dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária após 120 horas de tratamento microbiológico com os fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	107
Figura 49 – Espectros de absorção UV-Vis do corante AB 161 em solução simples, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. terreus</i>	109
Figura 50 – Espectros de absorção UV-Vis do corante PR MX-5B em solução simples, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. terreus</i>	110
Figura 51 – Espectros de absorção UV-Vis dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. terreus</i>	111
Figura 52 – Variação de concentração das soluções simples compostas pelo corante AB 161 antes e após o tratamento microbiológico.....	114
Figura 53 – Variação de concentração das soluções simples compostas pelo corante PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico.....	115
Figura 54 – Variação de concentração das soluções binárias compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico.....	115
Figura 55 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratadas do corante AB 161, em diferentes intervalos de tempo, pelo fungo <i>A. terreus</i> na forma peletizada.....	117
Figura 56 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 24 horas do corante AB 161.....	118
Figura 57 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 240 horas do corante AB 161.....	119
Figura 58 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 336 horas do corante AB 161.....	120
Figura 59 – Possível rota de degradação do corante AB 161 após tratamento com o fungo <i>A. terreus</i>	123

Figura 60 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratadas do corante PR MX-5B, em diferentes intervalos de tempo, pelo fungo <i>A. terreus</i> na forma peletizada.....	124
Figura 61 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 24 horas do corante PR MX-5B.....	125
Figura 62 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 240 horas do corante PR MX-5B.....	126
Figura 63 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 336 horas do corante PR MX-5B.....	127
Figura 64 – Possível rota de degradação do corante PR MX-5B após tratamento com o fungo <i>A. terreus</i>	130
Figura 65 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento microbiológico com o fungo <i>A. terreus</i> na forma peletizada.....	131
Figura 66 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 24 horas de tratamento microbiológico com o fungo <i>A. terreus</i> na forma peletizada.....	132
Figura 67 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 240 horas de tratamento microbiológico com o fungo <i>A. terreus</i> na forma peletizada.....	133
Figura 68 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 336 horas de tratamento microbiológico com o fungo <i>A. terreus</i> na forma peletizada.....	134
Figura 69 – Variação de mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> , após exposição de 48 horas às soluções dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo <i>A. terreus</i>	140
Figura 70 – Variação da porcentagem de inibição radicular das plântulas de <i>L. sativa</i> , após exposição de 72 horas às soluções dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo <i>A. terreus</i>	143

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação dos corantes sintéticos segundo o modo de fixação às fibras têxteis.....	28
Quadro 2 – Vantagens e desvantagens de métodos físicos e químicos utilizados no tratamento de efluentes industriais para remoção corantes.....	30
Quadro 3 – Condições do teste de inibição do crescimento radicular das plântulas de <i>L. sativa</i>	45
Quadro 4 – Condições do teste toxicidade aguda com o microcrustáceo <i>A. salina</i>	49
Quadro 5 – Preparo das soluções-teste dos corantes AB 161 e PR MX-B em solução simples e solução binária utilizadas nos testes de bioassortividade.....	56
Quadro 6 – Preparo das soluções-teste dos corantes AB 161 e PR MX-B em solução simples e solução binária utilizadas nos testes de bioassortividade e biodegradação.....	57
Quadro 7 – Demonstração de como foram realizados os cálculos para determinação das concentrações remanescente dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de CL ₅₀ para os corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária, determinados após a exposição das larvas de <i>A. salina</i> a diferentes concentrações dessas soluções.....	80
Tabela 2 – Peso seco da biomassa presente em 1 mL de suspensão peletizada dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	81
Tabela 3 – Porcentagem de descoloração individual dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária utilizando diferentes quantidades de biomassa peletizada dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	89
Tabela 4 – Análise comparativa de remoção do corante AB 161 em solução simples e solução binária após interação bioassortiva com biomassa peletizada dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	90
Tabela 5 – Análise comparativa de remoção do corante PR MX-5B em solução simples e solução binária após interação bioassortiva com biomassa peletizada dos fungos <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> e <i>R. oligosporus</i>	90
Tabela 6 – Coeficientes de correlação (R) obtidos a partir das equações das isothermas de Freundlich e Langmuir, para cada tratamento bioassortivo dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária.....	97
Tabela 7 – Porcentagem de descoloração e concentração remanescente dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária após interação bioassortiva com 5 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. niger</i>	98
Tabela 8 – Comprimento (cm) das raízes, média das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes de <i>L. sativa</i> expostas as diferentes soluções compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes (soluções controle com concentração de 200 µg/mL) e após interação bioassortiva (soluções tratadas) com 5 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. niger</i>	99
Tabela 9 – Mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> após exposição a diferentes soluções compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes (soluções controle com concentração de 200 µg/mL) e após interação bioassortiva (soluções tratadas) com 5 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. niger</i>	100

Tabela 10 – Concentração remanescente, % de descoloração e absorbância relativa do corante AB 161 em solução simples após tratamento microbiológico com o fungo <i>A. terreus</i>	112
Tabela 11 – Concentração remanescente, % de descoloração e absorbância relativa do corante PR MX-5B em solução simples após tratamento microbiológico com o fungo <i>A. terreus</i>	112
Tabela 12 – Concentração remanescente, % de descoloração total das soluções e absorbância relativa dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária após tratamento microbiológico com o fungo <i>A. terreus</i>	113
Tabela 13 – Bandas presentes na solução controle do corante AB 161.....	120
Tabela 14 – Bandas presentes na solução controle do corante PR MX-5B.....	127
Tabela 15 – Bandas presentes na solução controle composta pelos corantes AB 161 e PR MX 5B associados em solução binária.....	134
Tabela 16 – Mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> após 48 horas de exposição à solução controle do corante AB 161 (solução simples com concentração de 200 µg/mL), e soluções tratadas por 24, 240 e 336 horas com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. terreus</i>	137
Tabela 17 – Mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> após 48 horas de exposição à solução controle do corante PR MX-5B (solução simples com concentração de 200 µg/mL), e soluções tratadas por 24, 240 e 336 horas com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. terreus</i>	138
Tabela 18 – Mortalidade das larvas de <i>A. salina</i> após 48 horas de exposição à solução controle dos corantes AB 161 e PR MX-5B (solução binária com concentração de 200 µg/mL de cada um dos corantes), e soluções tratadas por 24, 240 e 336 horas com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo <i>A. terreus</i>	138
Tabela 19 – Tratamento da solução simples do corante AB 161. Comprimento (cm) das raízes de <i>L. sativa</i> , média de crescimento das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes expostas à solução controle e soluções resultantes de 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo <i>A. terreus</i>	141
Tabela 20 – Tratamento da solução simples do corante PR MX-5B. Comprimento (cm) das raízes de <i>L. sativa</i> , média de crescimento das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes expostas à solução controle e soluções resultantes de 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo <i>A. terreus</i>	141

Tabela 21 – Tratamento dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária. Comprimento (cm) das raízes de *L. sativa*, média de crescimento das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes expostas à solução controle e soluções resultantes de 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo *A. terreus*.....

142

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 OBJETIVOS.....	21
2.1. Objetivo geral.....	21
2.2. Objetivos específicos.....	21
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
3.1. A indústria têxtil e o meio ambiente.....	22
3.2. Corantes têxteis.....	26
3.2.1. Classificação.....	27
3.3. Sistemas de tratamento.....	29
3.4. Biossorção.....	31
3.4.1. Isotermas de adsorção.....	32
3.5. Biodegradação.....	33
3.6. Toxicologia dos corantes.....	35
3.7. Testes de toxicidade.....	36
3.7.1. <i>Artemia salina</i>	37
3.7.2. <i>Lactuca sativa</i>	38
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
4.1. Material e equipamentos utilizados.....	40
4.2. Corantes.....	41
4.2.1. <i>Acid Blue 161 (AB 161)</i>	41
4.2.2. <i>Procion Red MX-5B (PR MX-5B)</i>	42
4.3. Preparo das soluções dos corantes.....	42
4.4. Análise qualitativa dos corantes.....	43
4.4.1. Determinação dos comprimentos de onda de absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$).....	43

4.4.2. Teste de estabilidade das soluções dos corantes em diferentes valores de pH.....	43
4.5. Testes de fitotoxicidade com sementes de <i>Lactuca sativa</i>	44
4.6. Testes de toxicidade com o microcrustáceo <i>Artemia salina</i>	46
4.6.1. Incubação dos ovos e eclosão das larvas.....	46
4.6.2. Teste de toxicidade.....	48
4.7. Micro-organismos.....	50
4.7.1. Meios de cultura.....	52
4.8. Obtenção da forma paramorfogênica física dos fungos filamentosos.....	53
4.8.1. Preparo do pré-inóculo.....	54
4.8.2. Cultivo dos fungos na forma de pellets miceliais.....	54
4.8.3. Obtenção do peso seco dos pellets miceliais.....	55
4.9. Análise quantitativa dos corantes.....	56
4.9.1. Cálculo das concentrações remanescentes dos corantes.....	57
4.10. Teste de biossortividade.....	58
4.10.1. Aplicabilidade das isotermas de adsorção.....	59
4.11. Teste de toxicidade após interação biossortiva e biodegradativa.....	60
4.12. Determinação do fungo utilizado no teste de biodegradação.....	61
4.13. Teste de biodegradação.....	62
4.13.1. Análises de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	63
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	65
5.1. Obtenção dos espectros de absorção.....	65
5.2. Estabilidade de acordo com a variação de pH.....	69
5.3. Testes de toxicidade	72
5.3.1. <i>Lactuca sativa</i>	73
5.3.2. <i>Artemia salina</i>	78

5.4. Obtenção do peso seco da biomassa fúngica.....	81
5.5. Cálculos das concentrações remanescentes dos corantes AB 161 e PR MX-5B.	82
5.6. Teste de biossorção.....	85
5.6.1. <i>Isotermas de adsorção</i>	97
5.7. Testes de toxicidade após interação biossortiva.....	98
5.8. Determinação do fungo com melhor capacidade de biodegradação das soluções.....	101
5.9. Teste de biodegradação.....	108
5.9.1. <i>Análises por espectrofotometria UV-Vis</i>	108
5.9.2. <i>Análises de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	116
5.10. Teste de toxicidade após processo biodegradativo.....	137
6 CONCLUSÕES.....	145
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	148

1 INTRODUÇÃO

A falta de qualidade das águas naturais é considerada um dos maiores problemas ambientais da atualidade. Esse problema é reflexo dos últimos dois séculos, onde a industrialização se fixou como forma de produção e organização de trabalho na sociedade, tendo como consequência a produção e disponibilidade de diversas substâncias potencialmente tóxicas e a geração de subprodutos nocivos ao ambiente. Na presença desse cenário surgiram conflitos quanto ao uso do espaço, dos recursos e da disposição dos resíduos gerados nos diferentes segmentos industriais (ZAGATTO, 2008).

Dentre essas substâncias temos os corantes sintéticos, utilizados como matéria prima na produção de tintas, alimentos, cosméticos, papel, com destaque para a indústria têxtil onde são extensivamente consumidos nos processos de tingimento dos tecidos. Estima-se que cerca de 10.000 corantes são produzidos em escala industrial, sendo que 20% encontram-se disponíveis para o segmento têxtil e que aproximadamente 15% dessa produção é perdida para o meio ambiente durante a sua síntese, processamento ou aplicação (GUARATINI; ZANONI, 2000; MURUGESAN et al., 2007).

Os efluentes têxteis são altamente coloridos e o seu lançamento sem tratamento adequado nos corpos d'água em maior ou menor nível de concentração fatalmente interferirá na absorção de luz e oxigênio pelas plantas e animais aquáticos, além de terem potencial de acumulação no meio e/ou ainda existe o fato de que pode haver transporte dessas substâncias para estações de tratamentos de água, ou seja, o descarte incorreto desses compostos contribui

para a contaminação dos mananciais e da água que é distribuída à população (GUARATINI; ZANONI, 2000).

O desenvolvimento de tecnologias para o tratamento desses efluentes tem aumentado gradualmente devido a maior rigidez das legislações ambientais. Os principais processos utilizados para a descoloração dessas águas residuais são oxidativos, fotoquímicos, e os adsorptivos e a biodegradação que são considerados técnicas de tratamento muito promissoras.

É importante a compreensão de que qualquer método de descoloração de efluentes têxteis é muito mais efetivo, mais fácil e barato se realizado na estação de tratamento da indústria, antes de atingir os rios e lagoas. O grande impasse é que a implementação das estações de tratamento requer investimento a longo prazo, grandes áreas de construção e custo elevado, o que dificulta sua implantação e faz com que as indústrias descartem o efluente bruto ou tratado de forma ineficaz.

Os efeitos tóxicos causados por essas substâncias podem ser observados em plantas, animais e micro-organismos, sendo desta forma, importante o desenvolvimento de estudos detalhados que avaliem o seu modo de ação. De acordo com Ribeiro et al. (2003), estudos sobre o comprometimento ambiental, decorrente de contaminação por agentes tóxicos, merecem uma atenção especial por parte da comunidade científica, pois podem servir de alerta para os perigos que as populações possam estar expostas.

Diante de toda essa problemática o presente estudo teve como objetivo analisar a capacidade de remoção dos corantes Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B em solução aquosa pelos fungos filamentosos *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e *Rhizopus oligosporus*. A descoloração foi realizada por processos de biossorção e biodegradação. Associado a esses testes de descoloração foram realizados testes de toxicidade aguda utilizando como organismos-teste o microcrustáceo *Artemia salina* e sementes de *Lactuca sativa*.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

✓ Avaliar o processo de biossorção e biodegradação dos corantes Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B pelos fungos filamentosos *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* e *Rhizopus oligosporus* e a toxicidade aguda desses corantes antes e após os tratamentos microbiológicos utilizando os organismos-teste *Artemia salina* e *Lactuca sativa*.

2.2. Objetivos específicos

✓ Determinar as concentrações de corante responsáveis por causar a mortalidade de 50 % (CL₅₀) das larvas de *A. salina* e 50 % de inibição no crescimento radicular (CIR₅₀) das plântulas de *L. sativa* após diferentes intervalos de exposição;

✓ Realizar estudos de biossortividade, aplicar isoterma de adsorção de Freundlich e Langmuir, e analisar a toxicidade das soluções após interação biossortiva;

✓ Estudar o processo de biodegradação dos azo corantes têxteis, acompanhar a formação de possíveis subprodutos e analisar a variação do grau de toxicidade das soluções após esse tratamento microbiológico.

3 REVISÃO DA LITERATURA

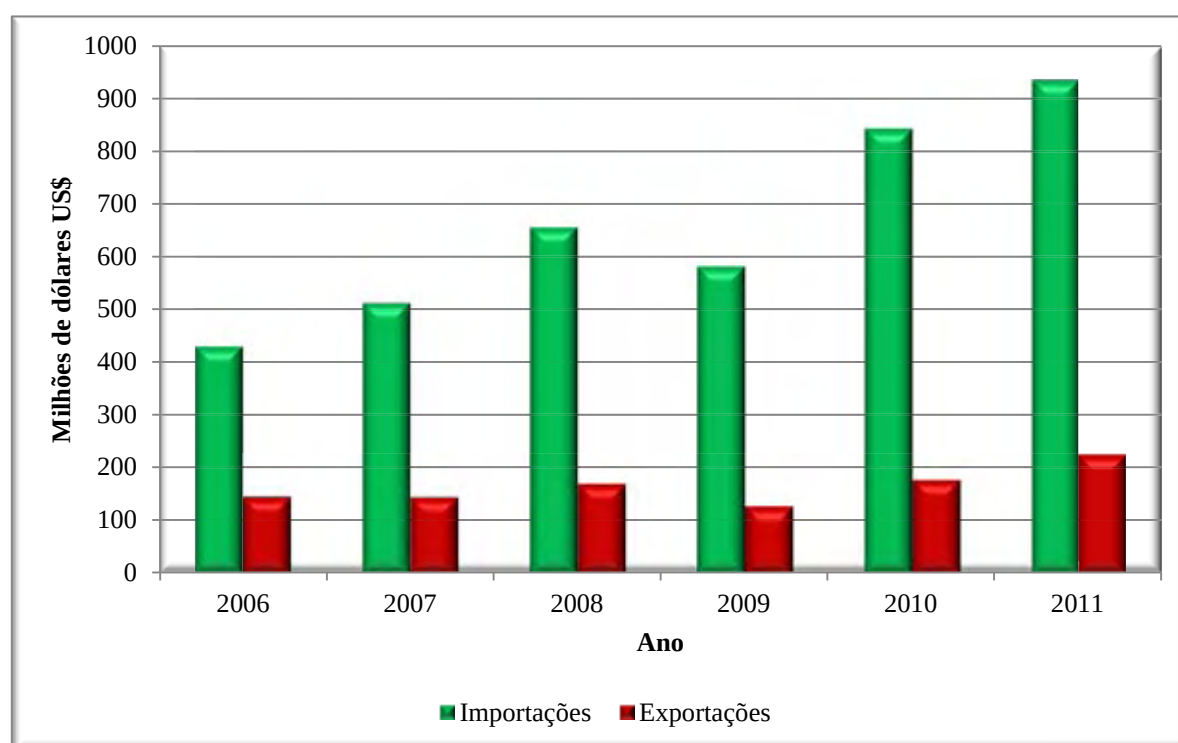
3.1. A indústria têxtil e o meio ambiente

A indústria têxtil, juntamente com a siderurgia e a mineração, formou o tripé da revolução industrial do século XVIII. A mecanização como estratégia de crescimento tornou os custos menores, dando início a fase capitalista de produção. No Brasil, a indústria têxtil teve seu início no fim do século XVIII, com a produção de algodão no estado do Maranhão voltada à exportação para a Inglaterra. As indústrias de fiação começaram a surgir com a chegada dos imigrantes europeus, que trouxeram o conhecimento necessário para implantação desses sistemas de produção. Esses imigrantes fundaram pequenas empresas nas próprias casas e se utilizavam da mão de obra familiar. Essas empresas cresceram com o passar dos anos e atualmente representam grandes empresas desse setor (FURTADO, 2005).

Hoje no Brasil a indústria têxtil representa um extraordinário valor econômico-social, absorvendo expressiva quantidade de mão de obra, ocupando o 5º lugar em geração de empregos diretos e 6º lugar em faturamento. No território nacional há cerca de 5.000 indústrias têxteis, sendo 11% indústrias de grande porte, 21% pequeno porte e 68% micro-empresas (GONDIM et al., 2007), distribuídas pela região sul (Santa Catarina), sudeste (São Paulo e Minas Gerais) e nordeste (Pernambuco, Bahia e Ceará) (GUARATINI; ZANONI, 2000).

Dentre os diversos compostos químicos utilizados no setor têxtil como matéria-prima, os corantes sintéticos ocupam posição de destaque. Atualmente 10.000 corantes são produzidos em escala industrial, sendo que aproximadamente 2.000 encontram-se disponíveis para esse segmento (DALLAGO et al., 2005; RODRIGUES, 2010). As importações de corantes, pigmentos e branqueadores ópticos no Brasil tiveram aumento de 500 milhões de dólares de 2006 a 2011. Neste mesmo período, as exportações brasileiras aumentaram apenas 68 milhões de dólares (ABIQUM, 2012). Na Figura 1 estão expressos dados de exportações e importações brasileiras de corantes, pigmentos e branqueadores ópticos entre os anos de 2006 a 2011.

Figura 1 – Importações e exportações brasileiras no setor de corantes, pigmentos e branqueadores ópticos, de 2005 a 2010



Fonte: ABIQUIM, 2012.

Apesar de todos os benefícios econômicos gerados por essas empresas, o grande problema desse setor está relacionado com a poluição ambiental dos corpos aquáticos, ocasionado pelo descarte de efluentes têxteis sem tratamento ou tratados de forma inadequada.

Estima-se que 15 a 20% 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 (GUARATINI; ZANONI, 2000; SHINTAKU et al., 2004).

É de amplo conhecimento que o ambiente aquático não é um compartimento de diluição infinita da poluição gerada e a superfície da Terra e seus ambientes nada mais são do que compartimentos frágeis de matéria viva dos quais depende a existência humana. Exemplo típico dessa fragilidade é a escassez dos recursos hídricos com qualidade adequada e a diminuição de fontes de água potável nas próximas décadas, caso não seja implantado a tempo, número suficiente de estações de tratamento de despejos líquidos para recuperação e reaproveitamento das águas (ZAGATTO, 2008).

Os maiores setores consumidores de água doce disponível correspondem à agricultura e as indústrias, sendo o setor têxtil responsável por 15% desse consumo. A indústria têxtil apresenta níveis elevados de consumo de água por quilo de tecido processado, que pode variar dependendo do tipo de equipamento, processo ou fibra utilizada. Seu potencial contaminante é considerado médio, sendo a tinturaria e o acabamento as etapas do processo produtivo mais contaminante se comparadas com a fiação e tecelagem (TOLEDO, 2004).

No Brasil o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) Resolução nº 357 de 17 de março de 2005 estabelece nos Artigos 14, 15 e 16 que nos corpos de água doce classe 1, 2 e 3 não é permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processos de coagulação, sedimentação e filtração convencionais (BRASIL, 2005).

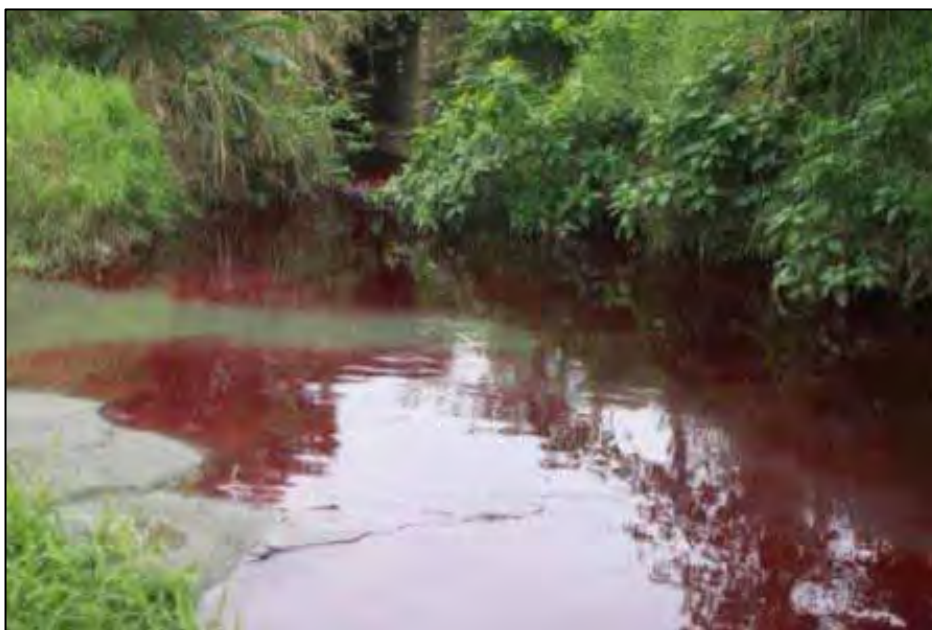
Devido a sua própria natureza os corantes não aderidos as fibras durante os processos de tingimento são altamente detectáveis a olho nu, sendo visíveis em alguns casos mesmo em concentrações tão baixas quanto 1 mg/L. Este comportamento apresenta a desvantagem de que uma pequena quantidade lançada na forma de efluentes causar uma acentuada mudança de coloração dos rios, mas a vantagem de que a presença dessas substâncias, pode ser facilmente detectada pelo público e autoridades que controlam os assuntos ambientais (GUARATINI; ZANONI, 2000).

Exemplo de descarte incorreto de resíduos têxteis ocorreu em julho de 2012, onde a Fundação Municipal do Meio Ambiente (Fundema) de Joinville, com base em vistoria e análises laboratoriais, multou a empresa Döhler responsável pelo vazamento de efluente sem

tratamento no Rio Cachoeira. O valor a ser pago foi equivalente a R\$ 350.000. A infração foi considerada gravíssima com base no Código Municipal do Meio Ambiente (FUNDEMA, 2012).

Foram considerados agravantes a ocorrência de erros no tratamento de efluentes, as consequências danosas à saúde, o conhecimento do ato, o fato da empresa não ter comunicado o vazamento ao órgão ambiental, e o poluente atingir área de preservação. Dos 28 parâmetros analisados, oito estavam fora dos limites permitidos pela legislação, sendo eles a presença de chumbo, cor aparente, pH, sólidos dissolvidos totais, cloretos, fósforo total e temperatura (FUNDEMA, 2012). A Figura 2 ilustra a imagem do rio que recebeu o efluente têxtil descartado de forma inadequada, onde fica visível a alteração de cor das suas águas.

Figura 2 – Rio Cachoeira, Joinville, Santa Catarina



Fonte: Fundema, 2012.

De acordo com Guaratini e Zanoni (2000), o lançamento não controlado de resíduos têxteis, principalmente corantes, em maior ou menor nível de concentração fatalmente interferirá na absorção de luz pelos habitantes vegetais e animais aquáticos, na potencial acumulação e/ou ainda podem ser transportados para estações de tratamento de água municipais (principalmente quando há presença de corantes com alta solubilidade em água), contribuindo assim para a contaminação de mananciais e da água que é distribuída a população.

3.2. Corantes têxteis

As cores desde os primórdios das civilizações sempre exerceram fascínio sobre o homem. A presença de corantes foi detectada em amostras de tecidos encontrados em tumbas egípcias e antigos hieróglifos datados de 2500 a.C. Até a metade do século XIX todos os corantes eram derivados de folhas, ramos, raízes, frutos ou flores de várias plantas e substâncias extraídas de animais (GUARATINI; ZANONI, 2000).

O primeiro corante sintético foi descoberto ao acaso por William H. Perkin em 1856. O cientista trabalhava em seu laboratório caseiro, estudando a oxidação da anilina, com dicromato de potássio e após jogar fora o precipitado resultante da reação, e lavar os resíduos do frasco com álcool, ele admirou-se com o aparecimento de uma solução púrpura intensa, a qual chamou de Mauve. Com essa descoberta, houve uma corrida dos químicos para conseguir sintetizar outros corantes, portanto, a descoberta de Perkin foi o primeiro passo para a produção de corantes sintéticos em grande escala (ABIQUIM, 2012).

No início do século XX, aproximadamente 85% dos corantes sintéticos eram produzidos na Alemanha, e outros 10% em países da Europa como a Suíça, Reino Unido e França. Após um século esse padrão mudou completamente, e a produção de corantes foi transferida para países como China, Japão, Coreia, Taiwan, Índia, Brasil e México. (WESEMBERG et al., 2003). Juntamente com o sistema produtivo os impactos ambientais causados por essas substâncias também foram transferidos para esses países, fato que pode ser comprovado pelo grande número de trabalhos que são publicados nessa área oriundos desses países e de outros em desenvolvimento.

De uma forma geral, corantes têxteis são compostos orgânicos cuja finalidade é conferir cor a uma determinada fibra (substrato), sob condições de processo pré-estabelecidas. Os corantes são substâncias que impregnam as fibras de substrato têxtil, reagindo ou não com o material, durante o processo de tingimento (ABIQUIM, 2012).

Entre todos os corantes sintéticos produzidos mundialmente, 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 (PANDEY et al., 2007), representando cerca de 60% do total consumido no mundo. Eles são extensivamente utilizados no processo de tingimento das fibras têxteis pelo fato de possuírem 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 agrupamentos azo aromático como cromóforo (KUNZ et al., 2002).

Eles geralmente são recalcitrantes a degradação devido a sua natureza xenobiótica (PANDEY et al., 2007), e possuem uma elevada resistência frente a processos aeróbios de biodegradação, portanto, resistem a muitos processos de tratamento de resíduos (SOUZA; PERALTA-ZAMORA, 2006). Contudo, micro-organismos extremamente versáteis desenvolveram sistemas enzimáticos, capazes de realizar a descoloração e mineralização dessas substâncias em determinadas condições ambientais (PANDEY et al., 2007).

3.2.1. Classificação

Os componentes têxteis que controlam a fixação da molécula cromófora ao substrato constituem a base para que ocorra a divisão de corantes têxteis em categorias. Exige-se, para cada tipo de fibra, uma determinada categoria de corante (ABIQUIM, 2012).

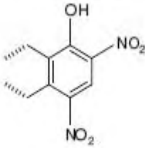
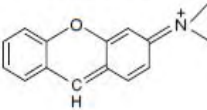
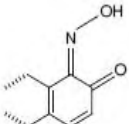
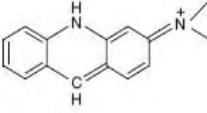
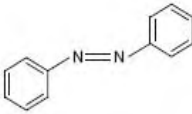
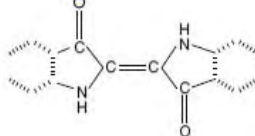
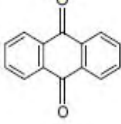
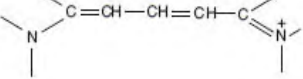
Os corantes podem ser classificados de acordo com o método pelo qual é fixado a fibra têxtil ou de acordo com a sua estrutura química (GUARATINI; ZANONI, 2000; SANDHYA, 2010). No Quadro 1 estão listados os principais tipos de corantes de acordo com o seu modo de fixação às fibras têxteis. E na Figura 3 encontram-se os principais tipos de corantes de acordo com o seu grupo cromóforo.

Quadro 1 – Classificação dos corantes sintéticos segundo o modo de fixação às fibras têxteis

Classe de corantes	Principais características	Tipo de fibra
Reativos	Possuem grupo eletrofílico capaz de formar ligação covalente com grupos hidroxila de fibras celulósicas, com grupos amino, hidroxila e tióis das fibras protéicas, e também com grupos amino de poliamidas	Algodão, linho, seda, viscose
Diretos	São corantes solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose através de interações de Van der Waals. É uma classe constituída principalmente por corantes contendo mais de um grupo azo ou pré-transformados em compostos metálicos	Algodão, viscose, nylon
Ácidos	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 e de poliamida sintética	Lã, seda, nylon
Básicos	Correspondem a um grupo de corantes catiônicos e solúveis em água. Podem ser azóicos, antraquinona, dentre outros	Nylon, poliésteres, lã e acrílicos
À cuba	Importante classe de corantes baseada nos índigos. São aplicados praticamente insolúveis em água, porém durante o processo de tinturaria eles são reduzidos em solução alcalina, transformando-se em um composto solúvel	Algodão, jeans
Enxofre	Classe de corantes que após aplicação caracterizam-se por compostos macromoleculares com pontes de polissulfeto ($-S_n-$), os quais são altamente insolúveis em água. Apresentam boa fixação, mas usualmente apresentam resíduos altamente tóxicos	Fibras celulósicas
Dispersivos	Classe de corantes insolúveis em água aplicados em fibras de celulose e outras fibras hidrofóbicas através de suspensão	Acetato, celulose, nylon e poliésteres

Fonte: Guaratini; Zanoni, 2000; Sandhya, 2010.

Figura 3 – Classificação dos corantes sintéticos de acordo com o grupo cromóforo

Cromóforo	Classe de corante	Cromóforo	Classe de corante
	Nitro		Xanteno
	Nitroso		Acridina
	Azo		Indigoides
	Antraquinona		Cianinas

Fonte: Sandhya, 2010.

3.3. Sistemas de tratamentos de efluentes têxteis

Atualmente não há um sistema de tratamento geral para descoloração de efluentes têxteis. Existem muitas formas de tratamento, mas nenhuma é totalmente eficaz, algumas necessitam de associações de técnicas para ser eficiente, o que se torna na maioria das vezes inviável por gerar alto custo.

O desenvolvimento de tecnologias adequadas é de grande interesse no mundo científico devido ao aumento da conscientização da população e o rigor das fiscalizações ambientais. No Quadro 2 estão descritos as vantagens e desvantagens das principais técnicas físico/químicas utilizadas no tratamento dos efluentes gerados nas indústrias têxteis.

Quadro 2 – Vantagens e desvantagens de métodos físicos e químicos utilizados no tratamento de efluentes industriais para remoção corantes

Métodos Físicos/Químicos	Vantagens	Desvantagens
Reagentes fentons (processo oxidativo avançado)	Efetivo na descoloração de corantes solúveis e insolúveis	Geração de lodo
Ozonização	Aplicado no estado gasoso, não há alteração do volume do efluente	Meia vida curta, aproximadamente 20 minutos
Fotoquímico	Não há produção de lodo	Formação de subprodutos
NaOCl	Início e aceleração da clivagem da ligação azo	Liberação de aminas aromáticas
Degradação química	Não gera subprodutos tóxicos	Alto custo com energia elétrica
Carvão ativado	Boa capacidade de remoção de uma grande quantidade de corantes	Alto custo de tratamento
Turfa	Bom adsorvente devido a sua estrutura celular	Superfície de adsorção menor que a do carvão ativado
Material celulósico (Ex. Serragem)	Boa capacidade de adsorção para corantes ácidos	Tempo de retenção muito longo
Sílica gel	Efetiva na remoção de corantes básicos	Reações secundárias indesejáveis impedem a aplicação comercial
Filtração por membrana	Remove todos os tipos de corantes	Concentração do lodo produzido
Troca iônica	Regeneração sem perda do material adsorvente	Não é eficiente para a remoção de todos os corantes
Irradiação UV	Oxidação efetiva para escala laboratorial	Requer muito oxigênio dissolvido
Coagulação eletrocinética	Economicamente viável	Produção de uma grande quantidade de lodo

Fonte: Robinson et al., 2001.

3.4. Biossorção

As alternativas para o combate dos efeitos nocivos dos corantes descartados como efluentes têxteis implicam muitas vezes na tentativa de remoção dessas moléculas sem que ocorra a sua quebra em metabólitos secundários, a fim de se atingir o objetivo principal, que é a gradual redução dos problemas ambientais causados por essas substâncias.

O processo de adsorção consiste na adesão de uma espécie química (adsorvato) na superfície ou poros de algum tipo de substrato (CHIOU, 2002). As técnicas adsorptivas têm sido bastante utilizadas para o tratamento de efluentes coloridos. Este processo encontra grande aplicação industrial, pois associa adsorventes de baixo custo a elevadas taxas de descoloração.

O carvão ativado é o substrato adsorvente mais utilizado devido a sua alta eficiência de remoção. Entretanto, às perdas que ocorrem durante o processo de recuperação do adsorvente torna sua utilização onerosa. Sendo assim o alto custo de tratamento que envolve esse substrato restringe o seu uso, além do fato de que apesar do processo de adsorção em carvão ativado apresentar uma eficiência significativamente maior do que a de outros substratos, a adsorção de corantes de caráter catiônico é uma limitação bastante importante em função de sua superfície ser positiva (KUNZ et al., 2002).

Assim é necessária a busca de materiais de baixo custo e com boa capacidade de remoção para serem utilizados industrialmente como adsorventes.

Podem ser utilizados substratos adsorventes de origem biológica como quitina, levedura, fungos filamentosos, algas e bactérias que são capazes de complexar e remover as moléculas de corante do meio. Esses biossorventes contêm grande variedade de grupos funcionais que podem se unir as moléculas de corante e remove-las do sistema em que se encontram (CRINI, 2006).

Diversos fatores influenciam o processo de adsorção, tais como a estrutura molecular ou natureza do adsorvente, a solubilidade do soluto, o pH e a temperatura do meio. Além desses fatores, o diâmetro do adsorvato também afeta a adsorção, sendo que compostos com diâmetros moleculares menores têm mais facilidade em fundir-se para o interior do sólido, ocorrendo assim maior adsorção dessas moléculas (VASQUES, 2008).

Diferentes trabalhos foram realizados a fim de se testar a capacidade adsorptiva de superfícies biológicas na remoção de moléculas de corantes de meios aquosos. Sivasamy e Sundarabal (2010) testaram a bioadsorção 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 bioadsorção máxima para este corante ocorreu em pH 2, e que o fungo *A. niger* apresentou maior capacidade de remoção do corante.

Enayatzamir et al. (2010) testaram a capacidade de bioadsorção 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 utilizou as células livres, especialmente para os corantes Reactive Black 5 e Bismark Brown R, mas ambos foram eficientes na descoloração das soluções.

3.4.1. Isotermas de adsorção

A adsorção pode ser analisada quantitativamente através da aplicação das isotermas. Os dados de equilíbrio são obtidos a partir das isotermas de adsorção, as quais são utilizadas para avaliar a capacidade de remoção de diferentes substratos adsorventes.

As isotermas de adsorção fornecem informações sobre como o adsorvente efetivamente adsorverá as impurezas presentes e se a purificação desejada será obtida. Além disso, é possível estimar a quantidade máxima de impurezas que será adsorvida e, ainda, é útil na avaliação econômica do uso de um determinado substrato adsorvente e na remoção de um contaminante específico durante o tratamento de efluentes (ROOSTAEI; TEZEL, 2004).

Em ajuste de isoterma de um simples componente, a otimização do procedimento requer que a análise de erro seja definida de tal forma que esta seja capaz de avaliar o ajuste de isoterma aos dados experimentais de equilíbrio. Pode-se empregar para tal fim, os coeficientes de correlação (R) e na avaliação do ajuste usando a análise linear, os coeficientes de correlação são comparados. O modelo que melhor se ajusta aos dados experimentais apresentará valor de R mais alto e mais próximo de um (MAGDALENA, 2010).

Os modelos de Freundlich e Langmuir são os mais frequentemente utilizados para descrever isotermas para aplicações em tratamentos de água e efluentes (CORSO et al., 1987; ALLEN et al, 2004; KURNIAWAN et al., 2012).

A isoterma de Langmuir foi inicialmente utilizada para descrever a adsorção de gases por superfícies sólidas e segundo Moore (1968) ela baseia-se em três hipóteses: (i) a superfície do adsorvente é homogênea, portanto a adsorção ocorre de maneira constante e independente do tamanho da superfície; (ii) a adsorção ocorre em sítios específicos, sem interação entre as moléculas do adsorvato; (iii) a adsorção é máxima quando ocorre preenchimento de uma monocamada da superfície adsorvente.

E a isoterma de Freundlich de acordo com Goldberg (1995) segue as hipóteses: (i) a superfície do adsorvente é heterogênea; (ii) e a energia de adsorção diminui logarithmicamente à medida que a superfície adsorvente vai sendo recoberta pelo adsorvato; (iii) a adsorção ocorre em múltiplas camadas e não é igualitária em todos os sítios ativos disponíveis na biomassa utilizada como adsorvente (PATEL; VASHI, 2010; KURNIAWAN et al., 2012).

3.5. Biodegradação

O termo biodegradação faz referência ao processo onde determinado micro-organismo presente no ambiente, é capaz de converter uma molécula química complexa em uma molécula mais simples. Esses micro-organismos utilizam essas moléculas como fonte de carbono, a fim de se obter energia necessária ao seu crescimento e manutenção do metabolismo (BURATINI, 2008).

A biodegradação pode levar a mudanças relativamente pequenas na molécula original, como a substituição ou a modificação de um grupo funcional, ou a completa destruição da molécula, tendo como resultado a sua conversão final em CO₂, H₂O e sais inorgânicos, processo conhecido como mineralização (BURATINI, 2008).

Entre todos os micro-organismos utilizados na biodegradação de corantes, os fungos filamentosos são amplamente estudados. Eles estão presentes de forma abundante no meio ambiente, e são capazes de adaptar rapidamente seu metabolismo a diferentes fontes de carbono e nitrogênio na busca pela sua sobrevivência (SOLÍS et al., 2012).

A aplicação de fungos filamentosos em processos de descoloração é uma alternativa atrativa devido ao baixo custo e possibilidade de total mineralização dos corantes. O fungo *Phanerochaete chrysosporium* é bastante estudado, mas outras espécies como *Trametes* sp, *Aspergillus* sp, *Pleurotus* sp e *Phlebia* sp, estão frequentemente sendo aplicadas nesse tipo de estudo (SOLÍS et al., 2012).

Nos processos biodegradativos por fungos filamentosos a descoloração das soluções pode ser realizada por adsorção ou degradação enzimática. A degradação enzimática pode resultar na quebra total da molécula original, ou gerar metabólitos intermediários com alto poder de toxicidade como é o caso das aminas aromáticas livres (PASZCZYNSKI et al., 1995). As principais enzimas envolvidas na degradação das moléculas dos corantes são as lignolíticas manganês e lignina peroxidase, e a lacase. Estas enzimas são extracelulares e apresentam baixa especificidade pelos seus substratos, o que torna os organismos produtores destas enzimas ainda mais atraentes para o tratamento de resíduos têxteis.

Glenn e Gold (1983) estudaram a degradação dos corantes poliméricos Poly B-411, Poly R-481 e Poly Y-606 pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium*. Os autores determinaram que o sistema lignolítico do fungo foi o responsável pela quebra das moléculas dos corantes e que a presença de oxigênio pode acelerar a descoloração das soluções.

Martins et al. (2003) analisaram a degradação de vários corantes reativos pelos fungos *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* e *Aureobasidium pullulans*. O fungo que apresentou maior capacidade biodegradativa foi o *T. versicolor*, e a degradação foi associada às enzimas do sistema lignolítico. Através de análises de cromatografia gasosa e espectrometria de massas os autores conseguiram identificar metabólitos hidroxilados e a partir dessas informações propuseram rotas de degradação para os corantes estudados. Eles também afirmaram que esses fungos podem ser potencialmente utilizados em sistemas de tratamentos de resíduos têxteis.

Gomi et al. (2011) avaliaram a degradação do azo corante amaranto pelo fungo *Bjerkandera adusta*. Após 10 dias de tratamento os autores detectaram a formação de diferentes metabólitos que foram formados com a quebra das moléculas do corante. Entretanto, não foi detectada a presença de aminas, o que é muito importante do ponto de vista toxicológico.

3.6. Toxicologia dos corantes

A avaliação da toxicidade de corantes têxteis é de extrema importância, devido aos efeitos nocivos que estes compostos podem vir a causar ao ambiente e aos organismos a eles expostos. Os efeitos deletérios da presença de azo corantes nos corpos d'água vão muito além da poluição visual (KUNZ et al., 2002; PEREIRA; FREIRE, 2005), pois os corantes à base de benzidina e aminas podem liberar estas substâncias como metabólitos, as quais são potencialmente cancerígenas. Estudos realizados com micro-organismos e células de mamíferos apontaram que várias dessas substâncias apresentavam atividade mutagênica e genotóxica (AL-SABTI, 2000; GOTTLIEB et al., 2003; WANG et al., 2005).

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

Estudos mostram que um pequeno número de corantes pode apresentar toxicidade aguda, levando à morte imediata. Os riscos para a saúde humana estão associados a forma e ao tempo de exposição ao corante, se ele foi ingerido ou se houve sensibilização da pele e das vias respiratórias. Alguns compostos não incorporados totalmente às fibras têxteis podem causar dermatites, principalmente em áreas do corpo sujeitas à transpiração. Os problemas respiratórios mais relatados são asma e rinite alérgica (SALEM, 1995).

A toxicidade dos azo compostos para o ser humano também pode estar associada com a redução dessas substâncias e a clivagem da ligação azo, responsável pela formação de aminas aromáticas. Vários azo corantes utilizados em alimentos, medicamentos e cosméticos podem ser reduzidos em meio anaeróbico no trato intestinal (CHUNG et al., 1978) assim pode-se supor que a ingestão de determinados corantes é um risco para a saúde humana.

Sharma et al. (2009) detectaram a possibilidade de bioacumulação de corantes em peixes, o que poderia acarretar na entrada dessas substâncias na cadeia alimentar. O estudo mostrou ainda que efluentes têxteis contendo corantes foram citotóxicos e mutagênicos para eritrócitos de peixes, reduzindo sua quantidade e causando distúrbios em sua morfologia.

Gottlieb et al. (2003) mostraram que a quebra da ligação azo em meio anaeróbio do corante Acid Orange 7 gerou compostos causadores de genotoxicidade em bactérias bioluminescentes *Vibrio fischeri*, a qual foi relacionada com a produção do metabólito 1-amino-2-naftol. Méndez-Paz et al. (2005) detectaram que este mesmo metabólito induziu a formação de tumores no sangue de ratos. Sandhu e Chipman (1991) 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*.

Estudos realizados por Umbuzeiro et al. (2004), por meio do teste Salmonella/Microsoma, mostraram uma atividade mutagênica baixa a moderada no Ribeirão dos Cristais (Cajamar/SP), devido a presença de azo corantes, compostos nitro aromáticos e aminas aromáticas.

3.7. Testes de toxicidade

Até recentemente no Brasil, assim como na maioria dos países da América Latina, a avaliação da qualidade de um efluente baseava-se apenas em suas características físico-químicas. Entretanto, em 2005 foi publicada a Resolução CONAMA nº 357, que estabelece as condições e padrões para lançamento de efluentes industriais, inclusive quanto ao potencial para provocar efeitos tóxicos no corpo receptor. Ainda, a Resolução nº 430 do CONAMA, publicada em maio de 2011, altera e complementa a Resolução nº 357, estabelecendo critérios para a cobrança do atendimento aos parâmetros de toxicidade pelos órgãos ambientais estaduais. Com isto, estes órgãos já estão exigindo, por meio de Portarias e Resoluções, que as empresas atendam aos limites de toxicidade estabelecidos para efluentes (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011).

Resultados de análises químicas por si só não retratam o impacto ambiental causado pelos poluentes porque não demonstram os efeitos sobre o ecossistema. Somente os sistemas biológicos (organismos ou parte deles) podem detectar os efeitos tóxicos das substâncias. A aplicação dos testes de toxicidade na análise ambiental é bastante abrangente e sua importância aumenta na proporção que cresce a complexidade das transformações químicas no meio ambiente (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

A aplicação dos testes de toxicidade fornecem informações sobre a potencialidade de uma substância química apresentar ou não efeitos tóxicos, a natureza desses efeitos e o seu grau de toxicidade. Com esse conhecimento prévio é possível definir em quais condições um produto potencialmente perigoso, mas de grande utilização pode ser empregado com o mínimo de risco para o meio ambiente (MAGDALENA, 2010).

Assim podem-se estabelecer padrões de emissão que permitam identificar problemas de lançamentos de mistura de substâncias tóxicas, estabelecer prioridades de controle em regiões críticas, viabilizar ações corretivas apropriadas, bem como monitorar os ecossistemas aquáticos (CESAR et al., 1997).

Considerando os efeitos tóxicos que um agente estressor pode causar à biota aquática atingindo uma comunidade em diferentes níveis, recomenda-se a realização de testes toxicológicos com organismos que compreendam diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar, onde se enquadram organismos produtores, consumidores primários e consumidores secundários (VALENTIM; DEZOTTI, 2008).

Os testes toxicológicos devem ser rápidos, de baixo custo e de fácil execução. O procedimento para a realização desses testes geralmente é muito simples, onde o efluente é diluído sucessivamente, para uma simulação da sua diluição no corpo receptor, uma vez que ele passará pelo processo de diluição após o descarte. Os organismos-teste são expostos a essas várias diluições por períodos de tempo específicos. Os efeitos analisados após o período de exposição podem ser mortalidade, menor fecundidade, imobilidade, inibição do crescimento, dentre outros.

3.7.1 *Artemia salina*

A *Artemia* sp é um microcrustáceo da Ordem Anostraca que vive em águas salgadas e salinas de todo o mundo. O gênero é subdividido em seis espécies, dentre elas a espécie *Artemia salina*. Esses organismos são caracterizados por se adaptar a uma ampla variação de salinidade e temperatura do meio no qual está inserida. Possui curto ciclo de vida, alta adaptação a condições ambientais adversas, alta fecundidade, reprodução por partenogênese, pequeno tamanho corporal e são consumidores de uma ampla variedade de nutrientes (filtradores não seletivos). Aliados a uma distribuição cosmopolita, esses fatores de adaptação

resultam em altas densidades populacionais, tornando esses organismos bons indicadores de contaminação ambiental (BARAHONA; SÁNCHEZ-FORTÚN, 1999; NUNES et al., 2006).

Esses microcrustáceos são de fácil acesso, seus cistos podem ser encontrados em lojas de aquarismo. Os cistos podem ser armazenados em ambiente seco e escuro por no mínimo seis meses sem perder a viabilidade e sem a necessidade de manter culturas contínuas (CALOW, 1993). Com a hidratação, o embrião que está dentro do cisto se ativa e após algumas horas as membranas rompem-se e nasce uma larva do tipo náuplio livre natante. É nesse estágio do seu ciclo de vida que a artemia é utilizada em testes de toxicidade aguda.

O teste de toxicidade de uma substância a partir da *Artemia* sp é rápido, de baixo custo e requer pequena quantidade de amostra. O teste visa verificar a relação entre a taxa de sobrevivência das larvas em relação à concentração da substância (amostra) a ser misturada na água de controle (solução de água do mar sintética). Para que os resultados do teste sejam confiáveis, é necessário que as larvas sejam mantidas sob as condições ótimas de crescimento, como temperatura entre 25 e 35°C, salinidade aproximada de 3,2% e pH ligeiramente alcalino, em torno de 8,0 (MEYER et al., 1982).

Segundo Nunes et al. (2006) a tolerância natural que esses microcrustáceos possuem, pode ser encarada como uma vantagem em comparação a outros organismos-teste menos adaptados as diferentes variações abióticas do meio.

Na literatura existem vários trabalhos que utilizaram *A. salina* para testar a toxicidade de inseticidas (SÁNCHEZ-FORTÚN; BARAHONA, 2009), extratos de plantas (PARRA et al., 2001), metabólitos fúngicos (GONZÁLEZ et al., 2007; NIETO et al., 2008), toxinas produzidas por cianobactérias (BEATTIE et al., 2003) e também corantes (MANAL et al., 2005; SOUZA et al., 2007; PALÁCIO et al., 2009; AYED et al., 2011; DOJCINOVIC et al., 2011; STAMBOLOVA et al., 2012). Estes trabalhos expressam a grande versatilidade desses organismos e a possibilidade de seu uso em testes toxicológicos de diferentes compostos.

3.7.2. *Lactuca sativa*

Os vegetais superiores formam um importante grupo de organismos utilizados em testes de toxicidade e de alterações genéticas provocadas por poluentes ambientais, sendo reconhecidos como excelentes indicadores de efeitos mutagênicos de ambientes com presença

de substâncias tóxicas (FISKESJÖ, 1985; YI; MENG, 2003). O uso de vegetais como organismo-teste tem sido indicado e validado por diversas agências ambientais, como o programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP – United Nations Environmental Program), a Organização Mundial da Saúde (WHO – World Health Organization) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA – United States Environmental Protection Agency) (MA et al., 1995; WANG; FREEMARK, 1995). E por serem altamente sensíveis e representativos os testes de toxicidade com plantas podem servir como um primeiro alerta para detectar a presença de perigo ambiental ocasionado pelos diferentes tipos de poluentes descartados no ambiente diariamente.

Estudos de toxicidade com sementes de *Lactuca sativa*, *Eruca sativa*, *Cucumis sativus* dentre outras espécies vegetais, são realizados a partir de testes estáticos de toxicidade aguda, onde é possível avaliar os efeitos fitotóxicos de compostos puros ou na forma de misturas. São avaliados geralmente efeitos subletais como inibição da germinação, crescimento das raízes e hipocótilo. Sabe-se que essas espécies não são representativas de ecossistemas aquáticos, mas os resultados obtidos a partir destes testes de toxicidade proporcionam dados sobre o possível efeito dos contaminantes nas comunidades vegetais próximas às margens dos corpos d'água contaminados (SOBRERO; RONCO, 2008).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material e equipamentos utilizados

✓ Equipamentos: Espectrofotômetro Shimadzu Ultravioleta – Visível (UV-Vis) modelo 2401 PC, Espectrofotômetro IR com transformada de Fourier Shimadzu modelo FTIR – 8300, estufa de Secagem Fanem modelo CB2, agitador magnético modelo Fisatom 752, balança analítica Mettler modelo H6T, refrigerador Cònsul 280 litros, agitador de tubo modelo Phoenix AP56, pHmetro Digimed modelo DMPH2, autoclave Fabe modelo 104C, centrífuga Fanem modelo Excelsa 2, BOD Marconi modelo MA403.

✓ Material: tubos de ensaio, béqueres, Erlenmeyers, placas de Petri, espátulas, cadinhos, dessecador, pipetas, balões volumétricos, provetas, buretas, bastão de vidro, e outros materiais usuais em laboratório de microbiologia.

✓ Organismos-teste: sementes de *Lactuca sativa* da marca TopSeed Garden lote 020020, ovos de *Artemia salina* de alta eclosão da marca Maramar lote 789836857 011-1.

✓ Corantes: Acid Blue 161 fabricado pela *Aldrich Chemical Company Inc.*, Procion Red MX-5B fabricado pela I.C.I. Brail.

4.2. Corantes

4.2.1. Acid Blue 161 (AB 161)

Corante fabricado pela *Aldrich Chemical Company, Inc.*

Número CAS: 12392-64-2

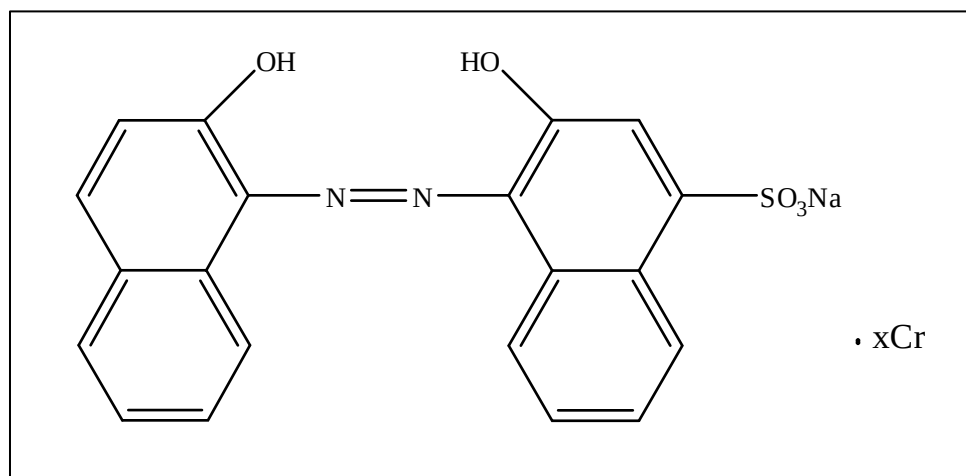
Solubilidade: solúvel em água

Grau de pureza: ~ 40%

Peso molecular: 416,39

Estrutura química: Figura 4

Figura 4 – Estrutura molecular do corante Acid Blue 161



Fonte: *Aldrich Chemical Company, Inc.*

4.2.2. Procion Red MX-5B (PR MX-5B)

Corante fabricado pela I.C.I. Brasil S.A .

Número CAS: 17804-49-8

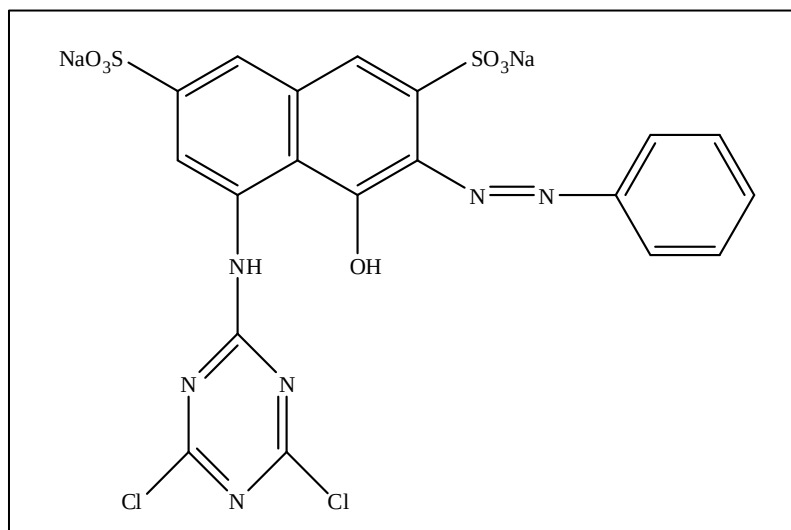
Solubilidade: solúvel em água

Grau de pureza: ~ 40%

Peso molecular: 615,34

Estrutura química: Figura 5

Figura 5 – Estrutura molecular do corante Procion Red MX-5B



Fonte: Aldrich Chemical Company, Inc.

4.3. Preparo das soluções dos corantes

Os corantes estudados foram dissolvidos em 100 mL de água destilada à temperatura ambiente para o preparo das soluções estoque. Essas soluções foram utilizadas nos testes de toxicidade com *Artemia salina* (concentração de 3000 µg/mL), fitotoxicidade com *Lactuca sativa* (concentração de 3000 µg/mL), bioassortividade (concentração de 1000 µg/mL) e biodegradação (concentração de 1000 µg/mL).

- ✓ Preparo da solução simples do corante AB 161: 0,1 g e 0,3 g de corante em pó dissolvido em 100 mL de água destilada, para preparo das soluções com concentrações de 1000 e 3000 µg/mL respectivamente;

- ✓ Preparo da solução simples do corante PR MX-5B: 0,1 g e 0,3 g de corante em pó dissolvido em 100 mL de água destilada, para preparo das soluções com concentrações de 1000 e 3000 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente;
- ✓ Preparo da solução binária: 0,1 g de AB 161 + 0,1 de PR MX-5B e 0,3 g de AB 161 + 0,3 g de PR MX-5B dos corantes em pó dissolvidos em 100 mL de água destilada, para preparo das soluções com concentrações de 1000 e 3000 $\mu\text{g/mL}$ de cada um dos corantes respectivamente.

4.4. Análise qualitativa dos corantes

4.4.1. Determinação dos comprimentos de onda de absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$)

As soluções estoque com concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ dos corantes em solução simples e solução binária foram diluídas para a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ em água destilada. As varreduras espectrais das soluções diluídas foram realizadas na região de 720 a 240 nm, em cubeta de quartzo com caminho óptico de 5 mm. A análise dos espectros de absorção permitiu determinar o comprimento de onda de absorção máxima de cada corante testado. Na calibração do espectrofotômetro utilizou-se água destilada como referência.

4.4.2. Teste de estabilidade das soluções dos corantes em diferentes valores de pH

O teste de estabilidade espectral das soluções simples e solução binária, compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B foi realizado para verificar possíveis alterações espectrais na presença de diferentes concentrações hidrogênionicas nas soluções. As soluções testadas foram preparadas em triplicata, a partir de diluições de suas respectivas soluções estoque (1000 $\mu\text{g/mL}$) em água destilada com valores de pH ajustados para 2.5, 4.5 e 6.5. O ajuste de pH foi realizado a partir de soluções de HCl e NaOH com concentrações variando de 0,01 a 1,00 M. Após o preparo as soluções foram analisadas em espectrofotômetro UV-Vis, na região de 720 a 240 nm, em cubeta de quartzo e caminho ótico de 5 mm. Na calibração do espectrofotômetro utilizou-se água destilada como referência.

4.5. Testes de fitotoxicidade com sementes de *Lactuca sativa*

O teste de fitotoxicidade com sementes de *L. sativa*, popularmente chamada de alface, é um teste estático de toxicidade aguda, em que é possível avaliar os efeitos fitotóxicos que a presença de corantes pode ocasionar durante a etapa de desenvolvimento das plântulas. É importante destacar que nos primeiros dias de desenvolvimento da plântula ocorrem numerosos processos fisiológicos e a presença de substâncias tóxicas pode inibir seu desenvolvimento natural (SOBRERO; RONCO, 2008).

Considerando a alta sensibilidade das plantas a presença de substâncias tóxicas durante o processo de desenvolvimento plantular, no presente estudo foi analisada a inibição do crescimento radicular (ICR) de plântulas de alface após exposição a diferentes concentrações de soluções simples e solução binária, compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B. O teste foi conduzido em placas de Petri e em triplicata para cada concentração testada. Para a realização do teste foram preparadas placas de Petri com papel de filtro, onde foi adicionado 20 sementes e 3 mL de solução de corante. As soluções foram preparadas a partir de diluições das soluções estoque com concentração de 3000 µg/mL. Após o preparo as placas foram envoltas individualmente por filme plástico para evitar a evaporação de água e acondicionadas em câmara climática BOD a $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ao abrigo de luz, por 72 horas. O controle positivo foi composto por solução de ZnSO_4 0,05 N e o controle negativo por água destilada. Ao final do período de exposição foram tomadas as medidas radiculares das plântulas, onde foram consideradas para efeito de medida as sementes que apresentaram crescimento radicular maior ou igual a 3 mm. O cálculo de inibição de crescimento radicular foi realizado utilizando-se a Equação 1.

$$\% \text{ ICR} = \frac{(\text{crescimento radicular controle negativo} - \text{crescimento radicular amostra})}{(\text{crescimento radicular controle negativo})} \times 100 \quad (1)$$

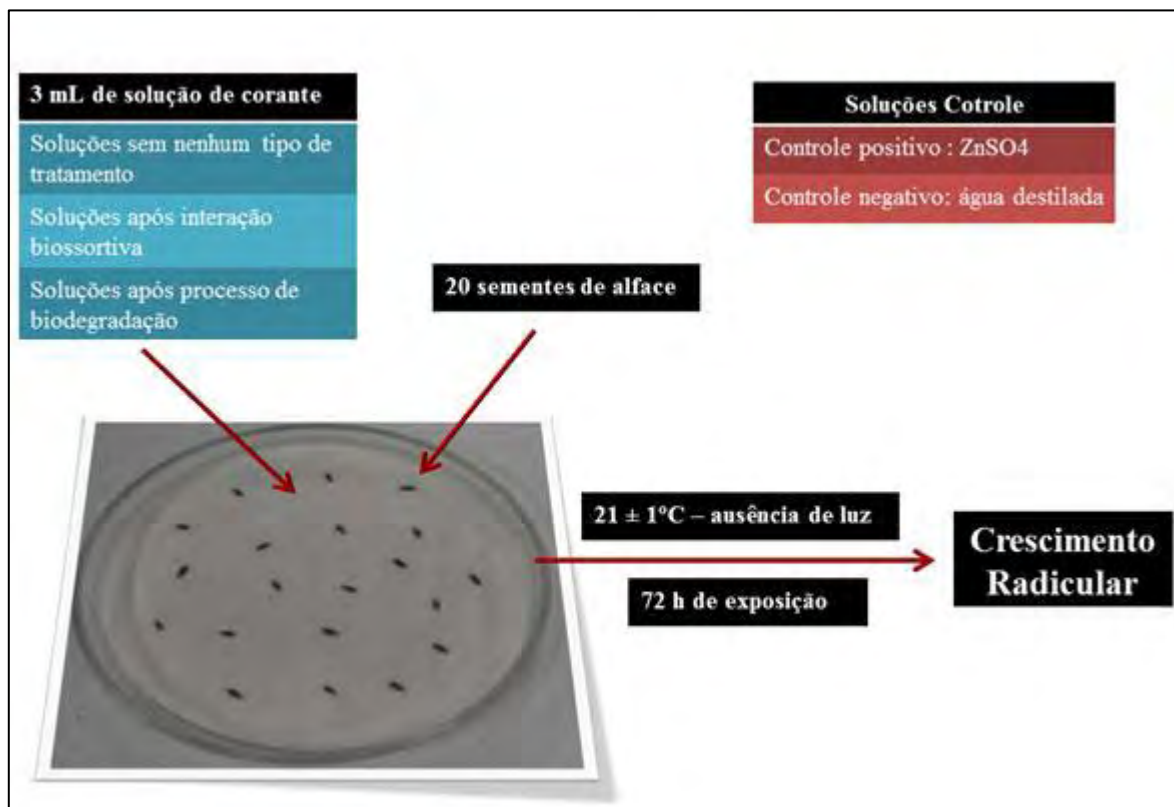
O teste de inibição de crescimento radicular citado anteriormente seguiu a metodologia proposta por Sobrero e Ronco (2008) e está descrito resumidamente no Quadro 3 e Figura 6.

Quadro 3 – Condições do teste de inibição do crescimento radicular das plântulas de *L. sativa*

Tipo de teste	Agudo estático sem renovação das soluções
Temperatura	21 ± 1°C
Volume de solução	3,0 mL
Número de réplicas	3
Número de sementes por réplica	20
Duração	72 horas
Efeito observado	Inibição do crescimento radicular
Resultado final	% de inibição
Validade dos resultados	Germinação maior ou igual a 90% no controle negativo
Controle negativo	Água destilada
Controle positivo	Sulfato de zinco (ZnSO ₄) 0,05 N

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 6 – Esquema do preparo do teste de fitotoxicidade com sementes de *L. sativa*



Fonte: Elaborado pela autora.

4.6. Testes de toxicidade com o microcrustáceo *Artemia salina*

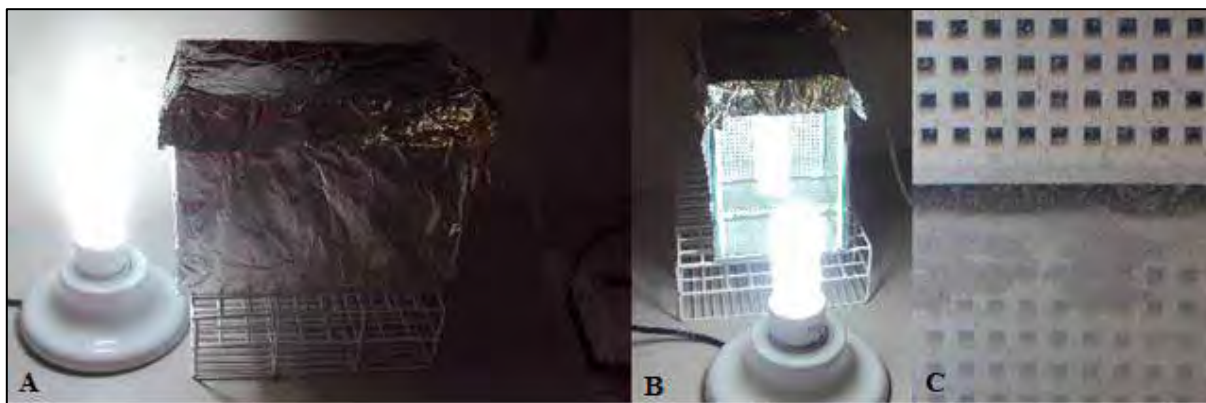
Este teste foi baseado no método proposto por McLaughlin et al. (1995) com modificações, onde o objetivo foi determinar a concentração de CL₅₀ das soluções simples e solução binária dos corantes para *A. salina*. O efeito tóxico avaliado foi a mortalidade ou perda da capacidade de movimentação das larvas após 48 horas de exposição às soluções. As concentrações de CL₅₀ foram determinadas pelo programa estatístico Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977).

4.6.1. Incubação dos ovos e eclosão das larvas

Para maior confiabilidade dos resultados do teste, as larvas foram mantidas em condições ótimas de crescimento, com temperatura entre 25 e 30°C, salinidade em torno de 3,2‰ e pH ligeiramente alcalino, em torno de 8,0. Sendo assim, em um aquário de vidro com

dimensões 19x10x15 cm, com as paredes encobertas por papel alumínio, com uma placa divisória contendo furos de aproximadamente 0,2 cm de largura, espaçados por 0,4 cm e distribuídos uniformemente (Figura 7), foi adicionado 500 mL de solução de água do mar sintética (salinidade de 3,2 %). Essa solução foi preparada a partir da dissolução de um sal marinho adquirido em uma loja de aquarismo diluído em água destilada. O recipiente foi acomodado na bancada do laboratório, uma das paredes não foi encoberta com papel alumínio e essa parede permaneceu iluminada por uma lâmpada fluorescente de 15 W. O aquário permaneceu com oxigenação e iluminação constantes, e na divisória que estava encoberta com papel alumínio foi adicionado 20 mg de cistos de *A. salina*, tomando-se o cuidado para que os mesmos não ultrapassassem essa divisória. A iluminação foi utilizada para atrair as larvas para o outro lado do sistema, forçando-as atravessar à divisória, já que as mesmas possuem fototropismo positivo. Esse procedimento teve como objetivo a homogeneização das condições físicas dos organismos utilizados no teste. A incubação foi realizada por período de 48 horas. A Figura 8 ilustra o ciclo de vida do microcrustáceo *A. salina*.

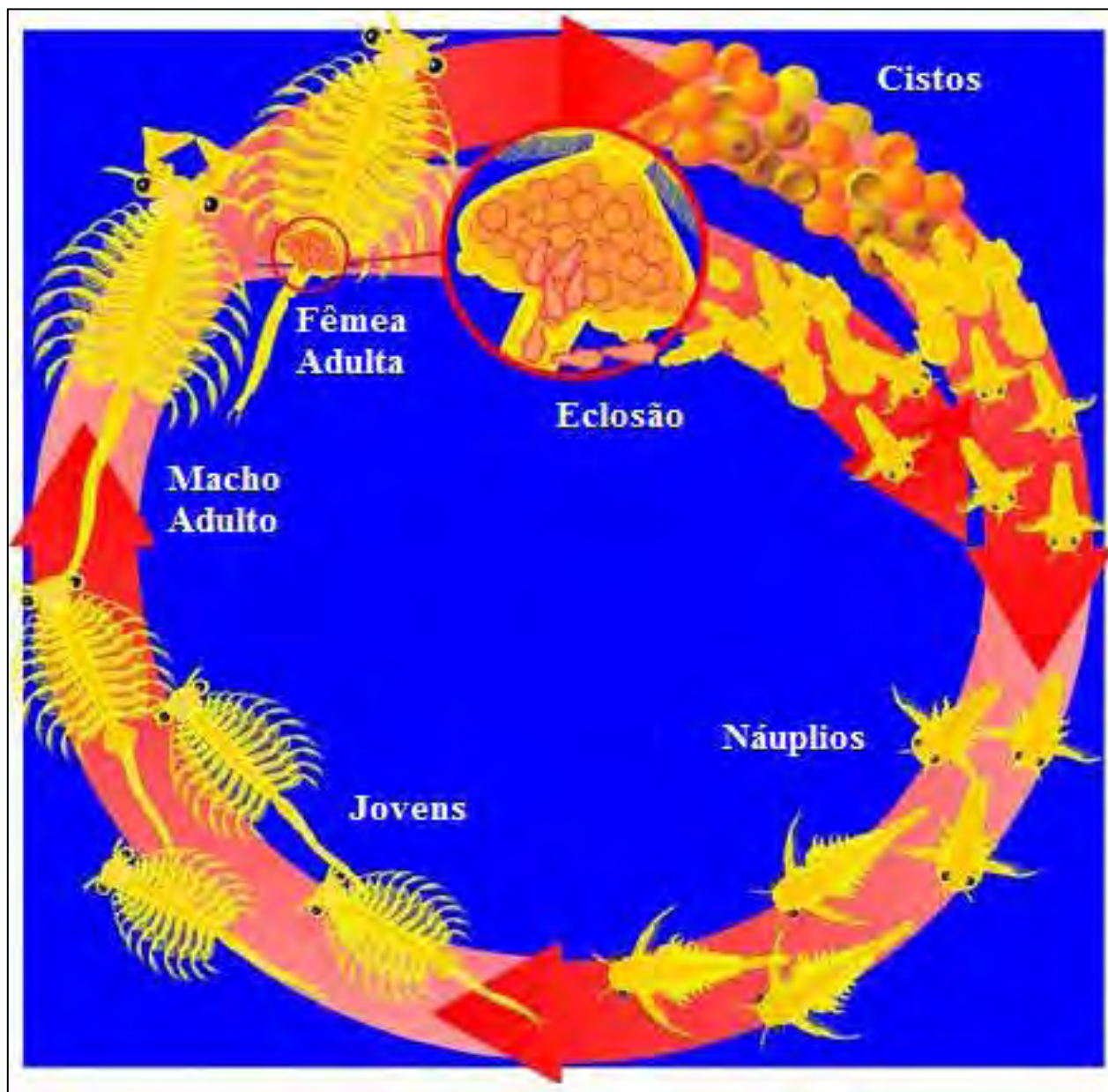
Figura 7 – Eclosão dos ovos de *A. salina*



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (a) parte lateral do aquário onde foi realizada a eclosão; (b) vista frontal do aquário; e (c) larvas de *A. salina* após a eclosão.

Figura 8 – Esquema do ciclo de vida do microcrustáceo *Artemia salina*



Fonte: http://hem.passagen.se/mysmicke23/hynt_Artemia.html, 2012.

4.6.2. Teste de toxicidade

Após o período de eclosão, as larvas (náuplios) de *A. salina* foram expostas a diferentes concentrações das soluções simples e solução binária, compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B (Figura 9), em sistema estático por período de 48 horas. O resumo da metodologia está descrito no Quadro 4.

Quadro 4 – Condições do teste toxicidade aguda com o microcrustáceo *A. salina*

Tipo de teste	Agudo estático sem renovação das soluções
Água de diluição	Água do mar sintética (salinidade 3,2 ‰)
Frasco teste	Tubos de ensaio
Volume final de solução	5 mL: 2 mL de solução de água do mar sintética + 3 mL de solução de corante
Nº organismos/frasco	10
Nº de réplicas	2
Luminosidade	Com luminosidade
Temperatura	Ambiente (20 – 25°C)
Tempo de Incubação	48 horas
Parâmetro final de avaliação	Mortalidade
Leitura	Observação direta
Expressão dos resultados	CL ₅₀
Cálculo estatístico	Programa Trimmed Spearman-Kärber

Fonte: Elaborado pela autora.

* **Validade do teste:** o teste é considerado válido quando o percentual de sobrevivência no controle (água de mar sintética) é maior ou igual a 90 % e a CL₅₀ para o dodecil-sulfato de sódio (DSS) estiver dentro da faixa de sensibilidade prevista (PLATTE et al., 2002).

Valor de referência CL₅₀ do DSS	Valor de CL₅₀ obtido no presente estudo
CL ₅₀ 48 horas = 13,95 – 20,23 mg/L	CL ₅₀ 48 horas = 19,30 mg/mL

Figura 9 – Teste de toxicidade aguda com *A. salina*

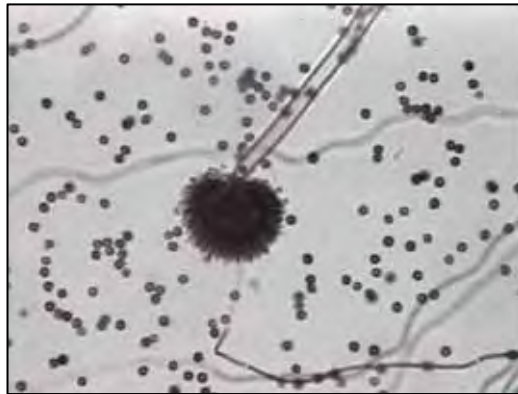


Fonte: Elaborado pela autora.

4.7. Micro-organismos

Os testes de bioabsorção e biodegradação foram realizados com os fungos filamentosos *Aspergillus terreus* (CCT 2679), *Aspergillus niger* (CCT 1435) e *Rhizopus oligosporus* (CCT 3762). As três culturas fúngicas são provenientes da Coleção de Culturas da Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello, e foram mantidas em tubos de ensaio com meio extrato de malte 2 % (LODDER, 1970) modificado e em temperatura ambiente. As Figuras 10, 11 e 12 correspondem as imagens microscópicas dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*.

Figura 10 – Imagem microscópica do fungo *A. niger*



Fonte: MicoBank, 2012.

Figura 11 – Imagem microscópica do fungo *A. terreus*



Fonte: MicoBank, 2012.

Figura 12 – Imagem microscópica do fungo *R. oligosporus*



Fonte: MicoBank, 2012.

4.7.1. Meios de cultura

As culturas foram mantidas em meio extrato de malte 2 % modificado (adição de glicose e peptona), e os componentes utilizados para o preparo do meio estão descritos abaixo. O meio de cultura depois de preparado foi esterilizado em autoclave a 120°C e 1 atm, durante 20 minutos.

• Extrato de malte 2 %		2,00 g
• Peptona 1 %		1,00 g
• Glicose 4 %		4,00 g
• Ágar 1,5 %		1,5 g
• Água destilada q.s.p.		100 mL

Depois de prontos e esterilizados os tubos de ensaio contendo 8 mL do meio de cultura foram mantidos inclinados até esfriarem. Após essa etapa, com o auxílio de uma alça de inoculação os fungos foram repicados nos tubos, e logo após os mesmos foram mantidos em estufa a 28°C por 5 dias e posteriormente foram retirados e permaneceram mais 2 dias em temperatura ambiente.

As culturas de *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* foram utilizadas após 7 dias para a obtenção da forma paramorfogênica física chamada de *pellets*, que seguiu o método descrito por Marcanti-Contato et al. (1997) modificado. Para esse procedimento foi utilizado o meio líquido de Vogel (VOGEL, 1956), enriquecido com sacarose 2 %. Para o preparo desse meio, utilizou-se uma solução de elementos traços em água destilada. A esta solução acrescentou-se 1,0 mL de clorofórmio como agente antimicrobiano.

Solução de elementos traços:

• Ácido cítrico . H ₂ O		5,00 g
• ZnSO ₄ . 7H ₂ O		5,00 g
• Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ . 6H ₂ O		1,00 g
• CuSO ₄ . 5H ₂ O		0,25 g
• MnSO ₄ . H ₂ O		0,005 g

• H_3BO_3		0,005 g
• $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		0,005 g
• Água destilada q.s.p.		100 mL

A solução de Vogel foi preparada a partir da dissolução dos sais descritos abaixo em água destilada.

• Citrato de sódio $\cdot 5\text{H}_2\text{O}$		15,0 g
• KH_2PO_4		25,0 g
• NH_4NO_3		10,0 g
• $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$		1,00 g
• $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		0,50 g
• Solução de biotina (0,1 mg/mL)		0,50 mL
• Solução de elementos traços		0,50 mL
• Água destilada q.s.p.		100 mL

Após o preparo foi adicionado 0,2 mL de clorofórmio a essa solução como agente antimicrobiano, e em seguida ela foi estocada sob refrigeração a 4°C.

Para o preparo do meio de cultura líquido, a solução de Vogel foi diluída 50 vezes (1 mL solução de Vogel : 49 mL de água destilada), suplementada com sacarose na concentração de 2 % como fonte de carbono.

4.8. Obtenção da forma paramorfológica física dos fungos filamentosos

Devido a dificuldade de se trabalhar diretamente com as suspensões de esporos dos fungos filamentosos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* no teste de biodegradação e pela necessidade de se obter biomassa fúngica para descoloração das soluções no teste de biossorção, optou-se por realizar os estudos microbiológicos com os fungos na sua forma paramorfológica física, e a produção dos *pellets* miceliais está descrita nos itens 4.8.1 e 4.8.2.

4.8.1. Preparo do pré-inóculo

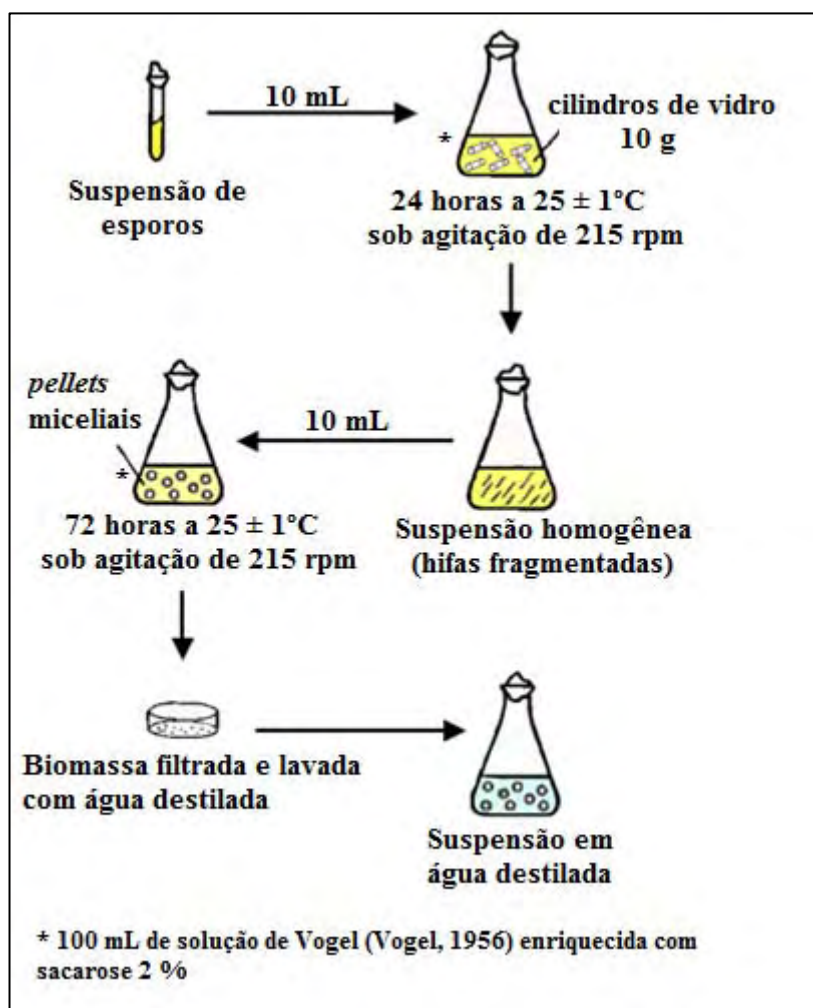
Para a realização do fracionamento dos micélios e crescimento dos fungos na forma de *pellets* primeiramente foi preparado um pré-inóculo. Para o preparo desse pré-inóculo em 6 frascos Erlenmeyers contendo 100 mL de solução de Vogel enriquecida com 2 % de sacarose foi adicionado 10 g de cilindros de vidro com diâmetro aproximado de 0,4 – 0,6 cm, e em seguida realizou-se a etapa de esterilização desses frascos em autoclave por 20 minutos a 120°C e 1 atm. Após essa etapa os frascos foram separados aos pares e em cada par foi inoculado um dos fungos utilizados no estudo. Nessa etapa o inóculo consistiu em uma suspensão de esporos, preparada a partir de culturas de 7 dias que cresceram em meio extrato de malte 2 % modificado. Para o preparo dessas suspensões, os esporos de cada cultura foram suspensos em água destilada esterilizada, e filtrados em uma gaze para a remoção de possíveis pedaços do meio de cultura sólido e segmentos de hifas. Após a filtragem a suspensão de esporos foi ajustada para a concentração de 10^7 esporos/mL. Realizado esse processo 10 mL de cada suspensão foi utilizada como inóculo. Para que ocorresse o fracionamento dos micélios fúngicos esse pré-inóculo permaneceu sob agitação a 215 rpm em temperatura ambiente por 24 horas.

4.8.2. Cultivo dos fungos na forma de *pellets* miceliais

Nessa etapa 6 frascos Erlenmeyers contendo 100 mL de solução de Vogel enriquecida com 2 % de sacarose foi esterilizado e também separados aos pares. Em seguida 15 mL de cada pré-inóculo foi transferido assepticamente para esses frascos, que foram mantidos sob agitação a 215 rpm por 72 horas.

Após as 72 horas de cultivo os *pellets* foram filtrados e lavados com água destilada gelada até a remoção de todo meio de cultura. A biomassa formada foi conservada sob refrigeração a 4°C até a sua utilização nos testes microbiológicos. Na Figura 13 é possível observar um esquema geral da produção dos *pellets* miceliais.

Figura 13 – Esquema da paramorfogênese física dos fungos filamentosos



Fonte: Marcanti-Contato et al. (1997) modificado.

4.8.3. Obtenção do peso seco dos pellets miceliais

A obtenção do peso seco dos *pellets* miceliais foi necessária para a quantificação de biomassa utilizada nos testes de bioissorção e biodegradação, e foi realizado em triplicata para cada fungo estudado. Sendo assim a cada 3 cadinhos com pesos previamente determinados foi adicionado 1 mL de suspensão de *pellets* miceliais de cada um dos fungos. Depois de preparados, os cadinhos foram mantidos em estufa de secagem a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, ou até obtenção de peso constante. Ao final do período de secagem os cadinhos foram transferidos para um dessecador até resfriarem, e logo em seguida foram pesados. A biomassa presente em 1 mL de suspensão de *pellets* foi determinada em mg/mL.

4.9. Análise quantitativa dos corantes

Para a realização das análises quantitativas dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária durante os testes de bioadsorção e biodegradação, foram preparadas soluções dos corantes nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL e outro grupo de soluções com concentrações de 40, 80, 120, 160 e 200 µg/mL, em triplicata e pH 4.0, para a confecção de uma reta padrão de cada solução nos dois grupos de concentrações testados. As varreduras espectrais foram realizadas na região de 720 a 240 nm, cubeta de quartzo e caminho ótico de 5 mm. Na calibração do espectrofotômetro foi utilizada água destilada como referência. Essa análise permitiu o cálculo das concentrações remanescentes dos corantes após os testes microbiológicos com os fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*.

Os Quadros 5 e 6 correspondem ao preparo das soluções para a realização das análises espectrofotométricas UV-Vis.

Quadro 5 – Preparo das soluções-teste dos corantes AB 161 e PR MX-B em solução simples e solução binária utilizadas nos testes de bioadsorção

Tubos	0	1	2	3	4	5
Volume de água destilada pH 4.0 (mL)	10	9,8	9,6	9,4	9,2	9,0
Volume de solução de corante (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Concentração de corante (µg/mL)	0	20	40	60	80	100

Fonte: Elaborado pela autora.

Quadro 6 – Preparo das soluções-teste dos corantes AB 161 e PR MX-B em solução simples e solução binária utilizadas nos testes de bioassortividade e biodegradação

Tubos	0	1	2	3	4	5
Volume de água destilada pH 4.0 (mL)	10	9,6	9,2	8,8	8,4	8,0
Volume de solução de corante (mL)	0	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0
Concentração de corante (µg/mL)	0	40	80	120	160	200

Fonte: Elaborado pela autora.

4.9.1. Cálculo das concentrações remanescentes dos corantes

A determinação das concentrações remanescentes das soluções simples dos corantes AB 161 e PR MX-5B foram calculadas a partir de equações do tipo $y = a + b \cdot x$ obtidas no teste de análise quantitativa dos corantes, em seus respectivos λ máximos.

Para o cálculo das concentrações remanescentes dos corantes na solução binária foram utilizadas duas retas, uma para cada corante. A concentração remanescente do corante AB 161 foi calculada a partir de uma reta obtida em 602,5 nm, uma vez que nesse comprimento de onda o corante PR MX-5B está em extinção. Quanto a determinação das concentrações remanescentes do corante PR MX-5B foram utilizados os seguintes cálculos: dos valores de absorbância da solução binária realizada em 537 nm, foi descontado os valores das absorbâncias interferentes do corante AB 161, neste comprimento de onda. Após essa operação foram determinadas as absorbâncias do corante PR MX-5B remanescente na solução binária, e a partir desses valores foi possível realizar os cálculos de suas concentrações remanescentes utilizando a reta obtida a partir da solução simples em 537 nm. No Quadro 7 está descrito como foram determinadas as absorbâncias necessárias para a realização dos cálculos de concentração de corante remanescente.

Quadro 7 – Demonstração de como foram realizados os cálculos para determinação das concentrações remanescente dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária

Abs. AB 161 na solução binária em 602,5 nm	Concentração AB 161 na Solução Binária	Abs. AB 161 na Solução Binária em 537 nm (A)	Abs. Solução Binária em 537 nm (B)	Abs. PR MX-5B na Solução Binária em 537 nm (B - A)	Concentração PR MX-5B na Solução Binária
---	---	---	---	---	---

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Abs. = absorbância máxima nos comprimentos de ondas máximos.

4.10. Teste de bioessortividade

O estudo da remoção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária por bioessorção foi realizado em pH 4.0, com concentração inicial de corante igual 100 µg/mL, variação de biomassa fúngica (1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL) peletizada e em triplicata. A água de diluição (água destilada) dos testes foi ajustada para o pH 4.0 a partir de soluções de HCl e NaOH com concentrações variando de 0,01 a 1,00 M. O teste foi preparado em tubos de ensaio contendo 9 mL de água de diluição pH 4.0 e 1 mL de solução estoque de corante com concentração de 1000 µg/mL, obtendo-se assim uma concentração final igual a 100 µg/mL. A essas soluções foram adicionados diferentes volumes de suspensão de *pellets* miceliais, necessárias para a obtenção da quantidade de biomassa desejada.

Após o preparo os tubos foram acondicionados em estufa a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 180 minutos. Decorrido o período de contato as soluções foram centrifugadas a 5000 rpm por 10 minutos. Em seguida foram realizadas análises espectrofotométricas UV-Vis, na região de 720 a 240 nm, em cubeta de quartzo e caminho ótico de 5 mm. Na calibração do espectrofotômetro foi utilizada água destilada como referência.

As análises UV-Vis permitiram determinar a concentração de corante remanescente nas soluções, a partir da variação de absorbância no λ máximo de cada um dos corantes. Também foi possível determinar a porcentagem de descoloração das soluções segundo Kalme et al. (2007), Vitor e Corso (2008), e Clarke et al. (2010), utilizando-se a Equação 2.

$$\% \text{ Descoloração} = \frac{(\text{absorbância inicial} - \text{absorbância final})}{(\text{absorbância inicial})} \times 100 \quad (2)$$

A capacidade adsorptiva dos *pellets* miceliais analisados foi calculada de acordo com Asgher e Bhatti (2010) (Equação 3).

$$q = \frac{(C_i - C_e) \cdot V}{W} \quad (3)$$

Onde,

q = quantidade de corante adsorvido por unidade de biomassa adsorvente (mg/g);

C_i = concentração inicial de corante (mg/mL);

C_e = concentração de corante remanescente após tratamento biossortivo (mg/mL);

V = volume de solução corante analisada (mL);

W = quantidade de biomassa adsorvente (g).

4.10.1. Aplicabilidade das isotermas de adsorção

As equações das isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir foram aplicadas para que fosse possível avaliar de que forma ocorreu a interação entre a biomassa fúngica e os corantes estudados durante o processo biossortivo. Os cálculos foram realizados a partir das concentrações remanescentes dos corantes e respectivas quantidades de biomassa em peso seco (mg/mL) utilizadas em cada teste.

A aplicação das isotermas realizada por Corso et al. (1987), Allen et al. (2004) e Kurniawan et al. (2012) estão descritas na Equação 4 (Isoterma de Freundlich) e Equação 5 (Isoterma de Langmuir).

$$\log \left(\frac{x}{m} \right) = \log K + n \cdot \log Cr \quad (4)$$

Onde,

x = concentração de corante adsorvido ($\mu\text{g/mL}$);

m = concentração de biomassa (mg/mL);

x/m = concentração de corante adsorvido por unidade de biomassa ($\mu\text{g/mg}$);

Cr = concentração de corante remanescente ($\mu\text{g/mL}$);

$K = x/m$, quando Cr é igual a 1;

$\log K$ = intercepto em y ;

n = inclinação.

$$Cr \left(\frac{m}{x} \right) = \frac{1}{K_1 K_2} + \left(\frac{1}{K_2} \right) \cdot Cr \quad (5)$$

Onde,

K_1 = inclinação/intercepto

K_2 = quantidade de soluto que satura uma unidade de biomassa adsorvente com uma monocamada ($\mu\text{g/mg}$).

4.11. Testes de toxicidade após interação bioassortiva e biodegradativa

Após a realização do teste descrito no item 4.10., foi determinado o fungo com maior capacidade de descoloração das soluções-testes compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B. A partir desse resultado realizou-se novo teste de bioassortividade para cada um dos corantes em solução simples e solução binária utilizando esse fungo. O teste foi conduzido em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo cada um 30 mL das soluções de corante testadas. A concentração inicial de cada corante foi igual a 200 $\mu\text{g/mL}$, pH 4.0, e a biomassa adsorvente utilizada foi de 5 mg/mL . Após o preparo os frascos foram acondicionados em estufa a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 180 minutos. Decorrido o período de contato, as soluções foram centrifugadas a 5000 rpm por 10 minutos. Em seguida foram realizadas análises espectrofotométricas UV-Vis, na região de 720 a 240 nm, em cubeta de quartzo e caminho ótico de 5 mm, para que fosse

possível realizar os cálculos de descoloração das soluções. Na calibração do espectrofotômetro foi utilizada água destilada como referência.

Após as análises espectrofotométricas o sobrenadante resultante de cada teste, foi utilizado para a realização de novos testes de fitotoxicidade com as sementes de *L. sativa* e toxicidade com o microcrustáceo *A. salina*, seguindo as metodologias descritas respectivamente nos itens 4.5. e 4.6. O objetivo desse novo teste foi determinar se a interação com a biomassa fúngica acarretou em alguma alteração da toxicidade das soluções de corante testadas. Para o teste de biodegradação foi utilizado o mesmo procedimento para avaliar a variação de toxicidade das soluções após o tratamento microbiológico.

4.12. Determinação do fungo utilizado no teste de biodegradação

Nesse estudo o objetivo foi determinar o fungo com maior capacidade de modificações das moléculas dos corantes em solução simples e binária, após 120 horas de tratamento. Para tanto foram utilizadas biomassas peletizadas dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*. O fungo que apresentou maior capacidade de modificações estruturais nas moléculas dos corantes foi utilizado no estudo de biodegradação.

Sendo assim o teste foi realizado em frascos Erlenmeyers de 50 mL, em duplicata, pH 4.0 e concentração inicial de corante igual a 200 µg/mL. Em cada frasco foi adicionado 25 mL de cada uma das soluções. Em seguida os frascos foram esterilizados em autoclave por 20 minutos a 120°C e 1 atm. Após a etapa de esterilização, em seus respectivos frascos foram inoculados 3 mg/mL de biomassa fúngica. Os frascos foram acomodados em estufa a 30 ± 1°C por um período de 120 horas.

Após o período de exposição as soluções foram centrifugadas a 5.000 rpm por 15 minutos. Em seguida foram realizadas análises espectrofotométricas UV-Vis, na região de 720 a 240 nm, em cubeta de quartzo e caminho ótico de 5 mm. Na calibração do espectrofotômetro foi utilizada água destilada como referência. As análises espectrofotométricas UV-Vis dos tratamentos permitiram determinar a % de descoloração das soluções e realização dos cálculos de absorbância relativa (Abs. Rel.).

A análise dos espectros de absorção permite visualizar a redução das concentrações dos corantes nas soluções testadas e indícios de alterações moleculares, que são identificadas

a partir de modificações espectrais ocorridas após os tratamentos microbiológicos. Um método rápido para identificar processos biodegradativos é o cálculo de absorbância relativa. Esses valores são obtidos pela razão entre as absorbâncias em dois comprimentos de onda máximos, geralmente o grupo cromóforo e o agrupamento azo.

De acordo com Glenn e Gold (1983) um corante apresenta sinais de degradação quando os valores de absorbância relativa dos tratamentos variam muito em relação à absorbância relativa do controle. E quando esses valores de absorbância relativa permanecem constantes, o processo predominante no sistema é o biossortivo.

Sendo assim para os corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples as absorbâncias relativas foram calculadas respectivamente pela razão das absorbâncias $Abs_{602,5nm}/Abs_{323nm}$ e Abs_{537nm}/Abs_{327nm} . Para a solução binária a razão utilizada foi $Abs_{537nm}/Abs_{602,5nm}$. Os resultados obtidos permitiram analisar se as moléculas dos corantes após a interação com os micro-organismos sofreram modificações estruturais.

4.13. Teste de biodegradação

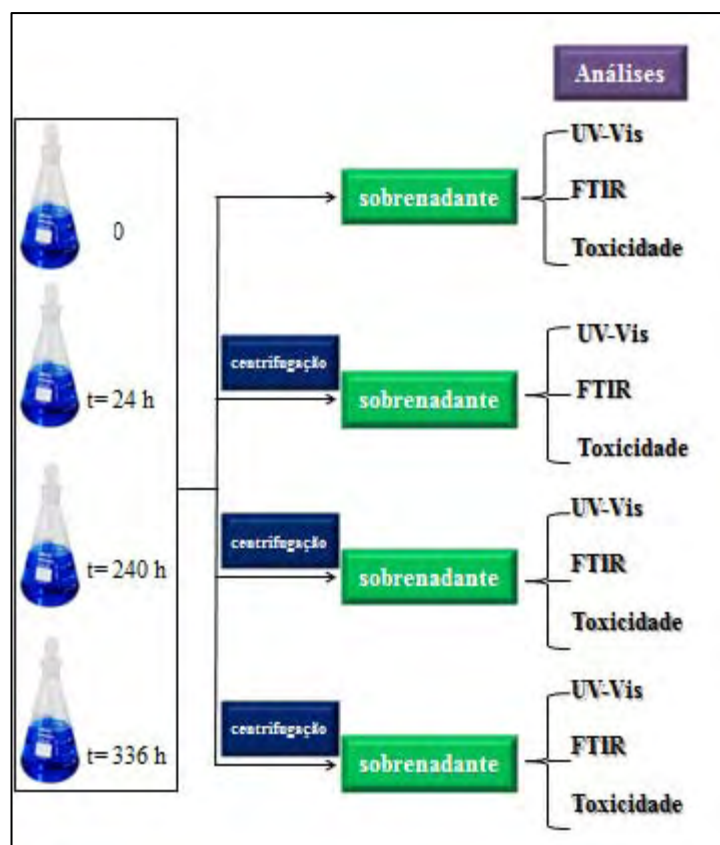
O teste de biodegradação dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária foi realizado com o fungo pré-determinado no item 4.12. Para a realização desse teste foram preparados 21 Erlenmeyers de 50 mL contendo 25 mL de solução de corante na concentração de 200 $\mu g/mL$, para cada uma das soluções testadas, totalizando assim 63 Erlenmeyers. Após o preparo os frascos foram esterilizados em autoclave a 120°C e 1 atm por 20 minutos. Decorrido o processo de esterilização, foram transferidos assepticamente para cada frasco o volume de suspensão de biomassa peletizada necessário para a obtenção de 3 mg/mL de *pellets* miceliais. Após o preparo os frascos foram incubados em estufa de cultivo a $30 \pm 1^\circ C$.

Foram realizadas análises das soluções em intervalos de 24 horas, onde o sobrenadante de cada solução tratada foi submetido a varreduras espectrofotométricas UV-Vis na região de 720 a 240 nm, em cubeta de quartzo com caminho óptico de 5 mm, análises de FTIR e testes de fitotoxicidade e toxicidade com *L. sativa* e *A. salina*. A Figura 14 representa um esquema resumido do teste de biodegradação dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária.

As análises espectrofotométricas UV-Vis permitiram a realização dos cálculos das concentrações de corante remanescente e das absorbâncias relativas das soluções. Enquanto as análises de FTIR permitiram verificar as modificações estruturais das moléculas dos corantes após interação com a biomassa fúngica.

E por fim os testes de fitotoxicidade com *L. sativa* e toxicidade com *A. salina*, metodologias citadas nos itens 4.5. e 4.6., mostraram se a quebra das moléculas dos corantes ocasionou alteração do grau de toxicidade das soluções.

Figura 14 – Esquema do teste de biodegradação dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária



Fonte: Elaborado pela autora.

4.13.1. Análises de por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Para a realização das análises de FTIR as soluções simples e solução binária controles e tratadas com o fungo pré-determinado no item 4.12., foram colocadas em cadinhos

previamente identificados e mantidas em estufa de secagem a 105°C por 48 horas. Decorrido esse intervalo de tempo os cadinhos foram transferidos para um dessecador onde permaneceram a vácuo por mais 24 horas.

Após a secagem do material foram preparadas pastilhas contendo 1 mg de solução (em peso seco) e 149 mg de KBr através de compactação a 30 KN por 5 minutos. Estas pastilhas foram colocadas em suportes apropriados para discos de KBr e as leituras foram realizadas em intervalos de 4000 a 400 cm^{-1} , 16 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} , onde foi possível identificar mudanças na estrutura molecular de cada corante após o tratamento microbiológico de biodegradação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

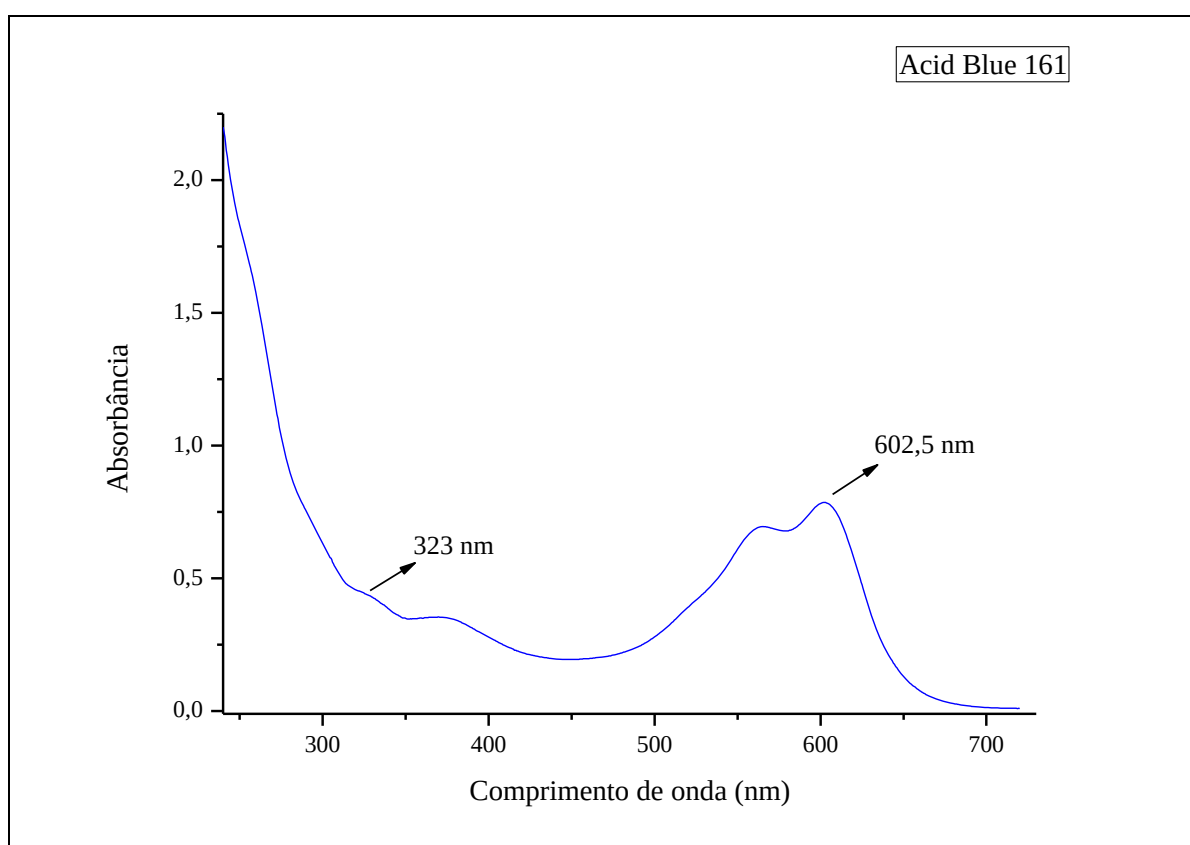
5.1. Obtenção dos espectros de absorção

Analizando as varreduras espectrais obtidas nos testes espectrofotométricos UV-Vis foi possível determinar os comprimentos de onda máximos ($\lambda_{\text{máximo}}$) dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e em solução binária. Os valores do $\lambda_{\text{máximo}}$ das moléculas são correspondentes ao grupo cromóforo, e foram respectivamente iguais a 602,5 nm para o corante AB 161 e 537 nm para o PR MX-5B.

As Figuras 15 e 16 ilustram os espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples, e a Figura 17 o espectro de absorção dos corantes em solução binária.

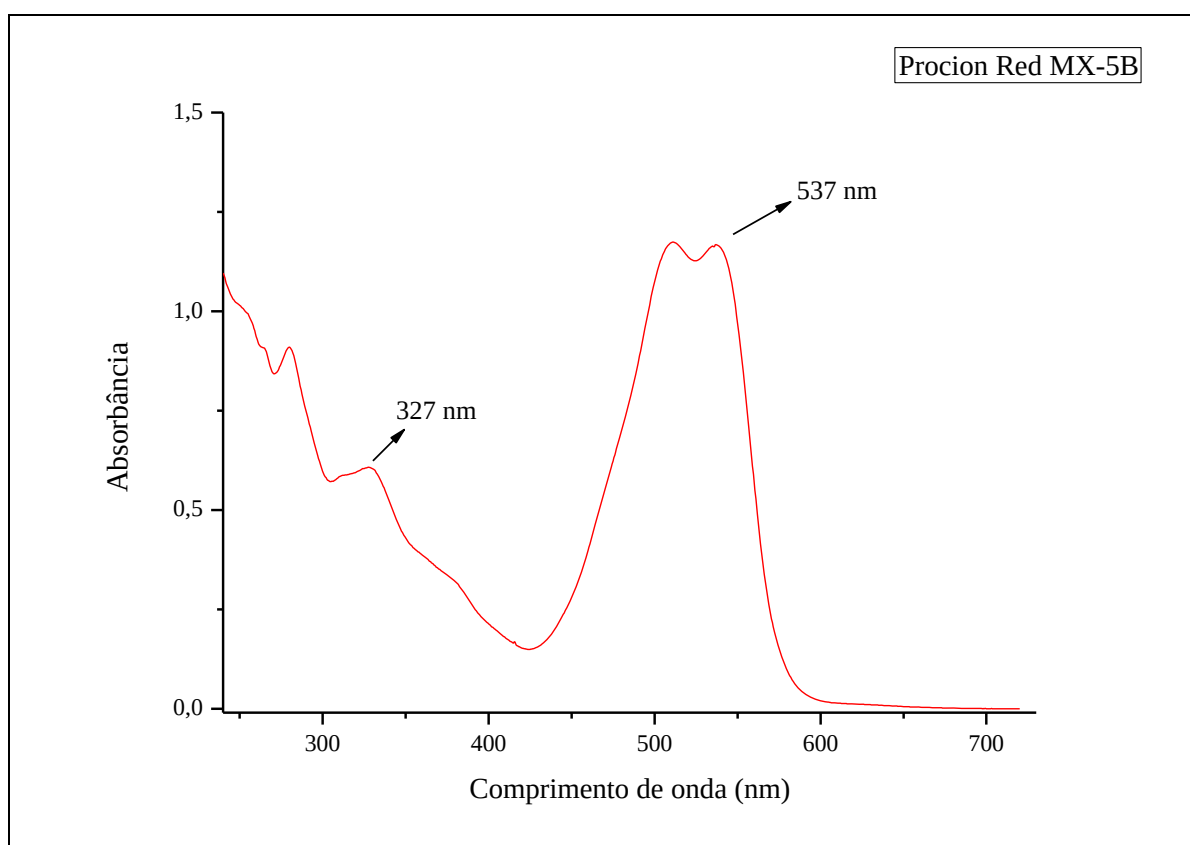
O segundo grupo cromóforo dos corantes está localizado na região de 320 nm que corresponde à presença de azo ligações nas moléculas dos corantes (SILVERSTEIN et al., 1994).

Figura 15 – Espectro de absorção do corante AB 161 em solução simples na concentração de 100 µg/mL



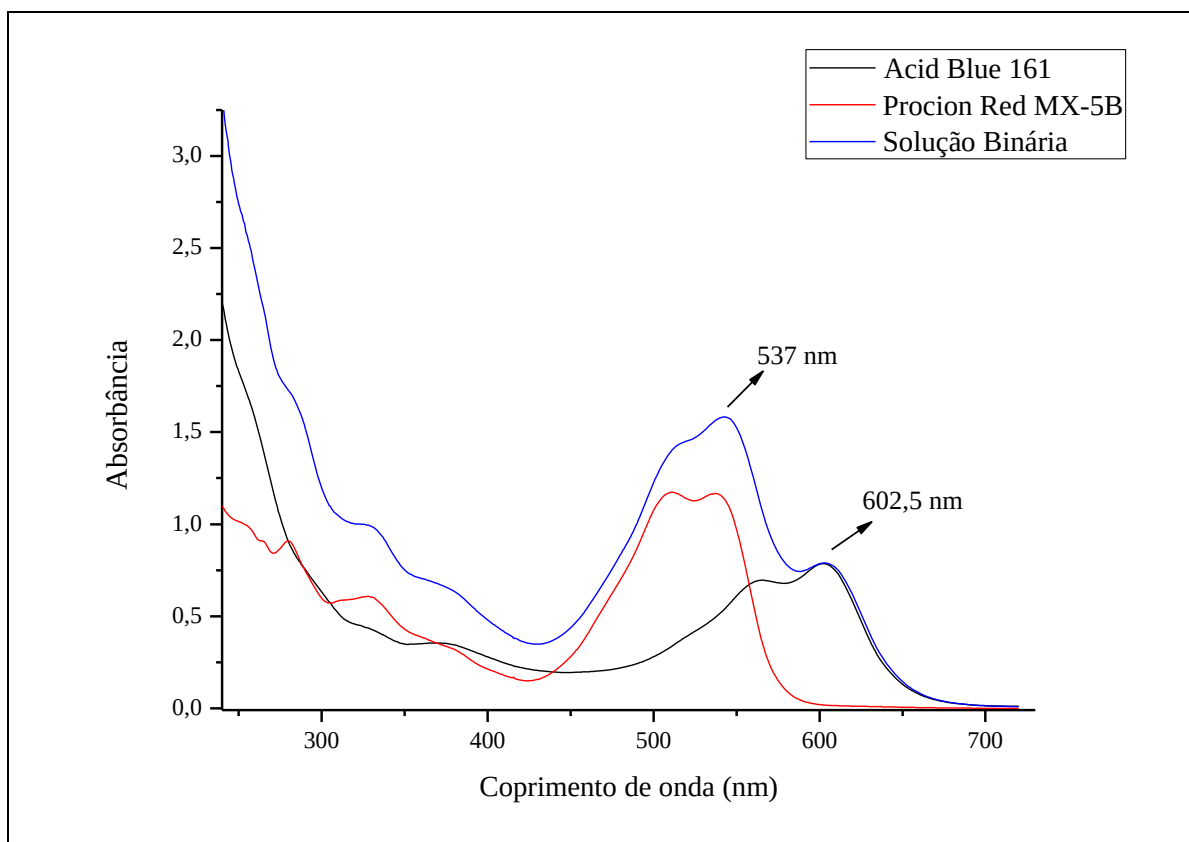
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 16 – Espectro de absorção do corante PR MX-5B em solução simples na concentração de 100 µg/mL



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 17 – Espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e em solução binária nas concentrações de 100 µg/mL



Fonte: Elaborado pela autora.

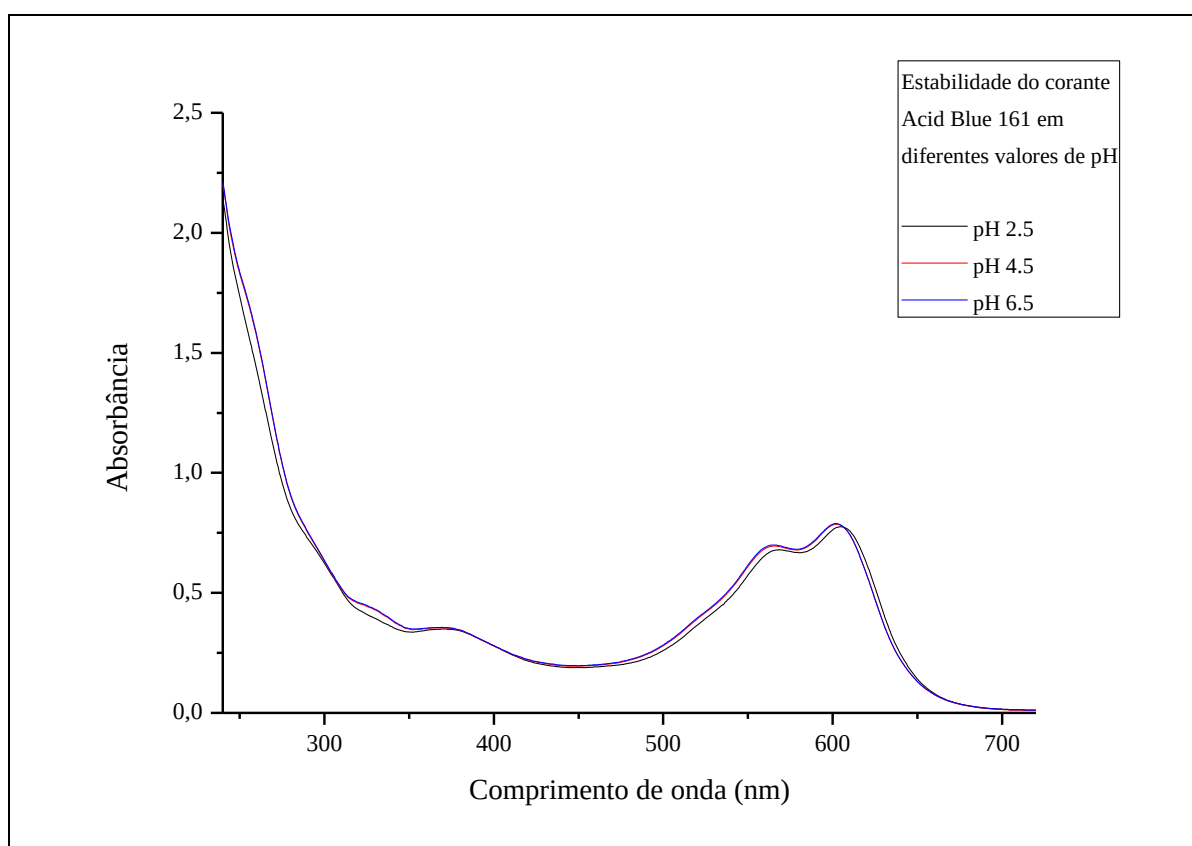
A análise do comportamento espectral dos corantes individualmente e em solução binária entre 500 e 550 nm (Figura 17) indica que nessa região o espectro correspondente a cor roxa da solução binária, representa a soma dos espectros dos corantes em solução simples. Porém, quando analisamos a região entre 600 e 700 nm verificamos que o espectro da cor vermelha, correspondente ao corante PR MX-5B, está totalmente em extinção, aparecendo somente o espectro de absorção referente à cor azul do corante AB 161. Essas características individuais de cada um dos corantes foi o que permitiu o estudo dos mesmos em solução binária.

5.2. Estabilidade de acordo com a variação de pH

Alguns corantes podem sofrer modificações estruturais em função da variação hidrogênica do meio reacional, o que comumente acarreta em leves ou intensas alterações colorimétricas. Essas alterações ocorrem pela entrada ou saída de íons H^+ na molécula, o que faz com que a luz seja absorvida em um comprimento de onda diferente, originando assim diferentes tonalidades de um mesmo corante. Esses corantes são considerados indicadores de pH, e a sua utilização nesse tipo de estudo dificultaria a análise dos resultados devido as variações espectrais que poderiam ocorrer durante o tratamento microbiológico. Portanto, o teste de estabilidade em função da variação de pH é imprescindível antes do início dos tratamentos com os micro-organismos.

Nas Figuras 18 e 19 estão representados os espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e diferentes valores de pH, onde é possível notar ligeira variação dos picos de absorção máxima no pH 2.5. Contudo, essa pequena alteração não foi o suficiente para ocasionar variações das tonalidades dos corantes em solução. Na solução binária (Figura 20) também se verificou ligeira alteração do espectro de absorção no pH 2.5, sem alteração da tonalidade da solução.

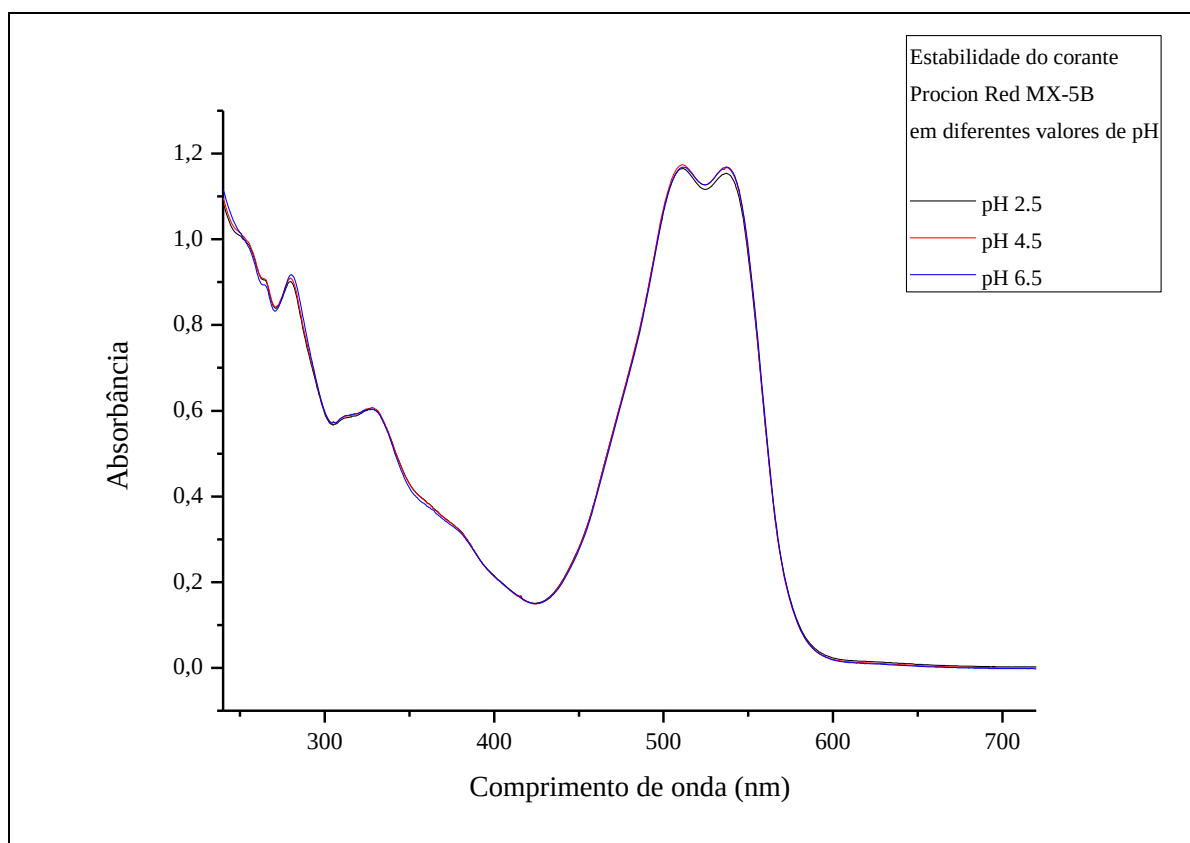
Figura 18 – Espectros de absorção do corante AB 161 em solução simples na presença de diferentes valores de pH



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Concentração inicial de corante igual a 100 $\mu\text{g/mL}$.

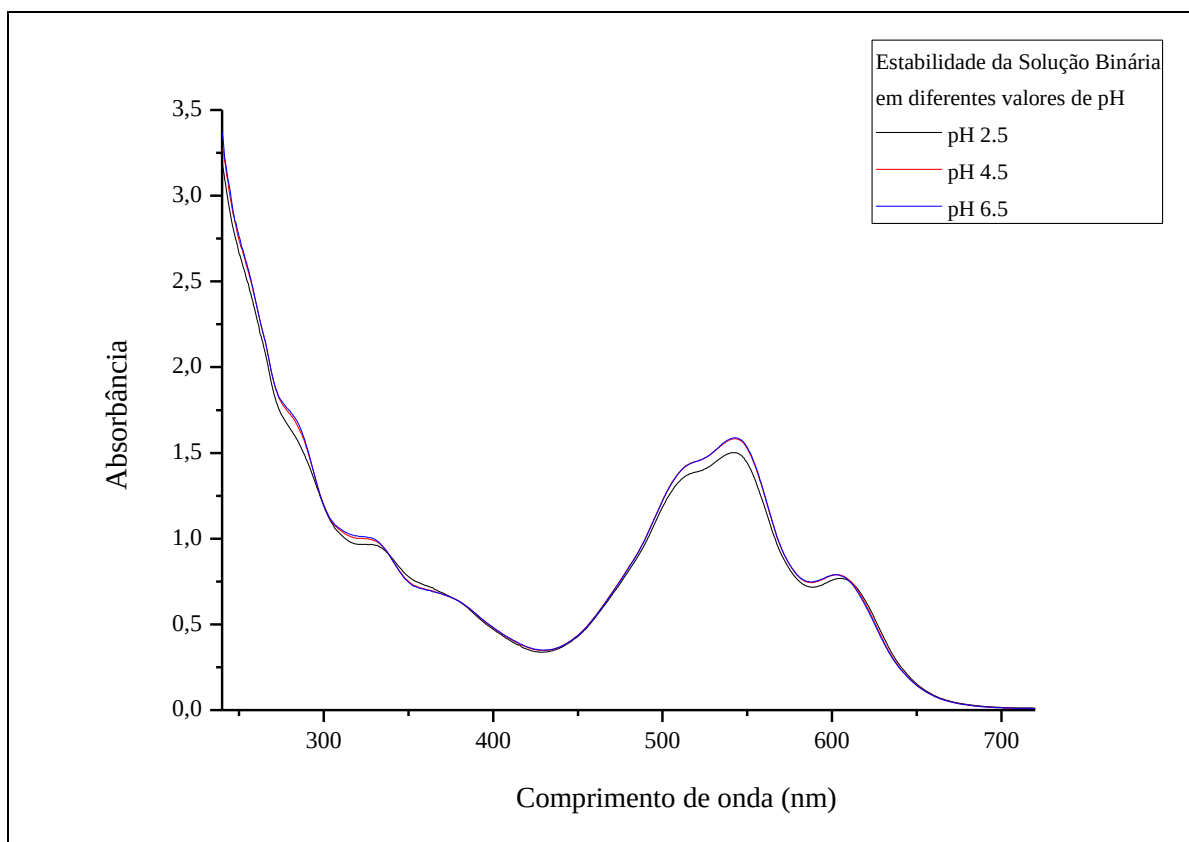
Figura 19 – Espectros de absorção do corante PR MX-5B em solução simples na presença de diferentes valores de pH



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Concentração inicial de corante igual a 100 µg/mL.

Figura 20 – Espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária na presença de diferentes valores de pH



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Concentração inicial de corante igual a 100 µg/mL.

5.3. Testes de toxicidade

Os testes de toxicidade com agentes químicos devem ser considerados uma análise fundamental no controle da poluição dos corpos aquáticos, pois são capazes de detectar os efeitos nocivos de poluentes sobre a biota presente nesses ecossistemas. Portanto o objetivo dos testes de fitotoxicidade com sementes de *L. sativa* e toxicidade com *A. salina* foi determinar efeitos deletérios como inibição do crescimento radicular e mortalidade após exposição a diferentes concentrações dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária.

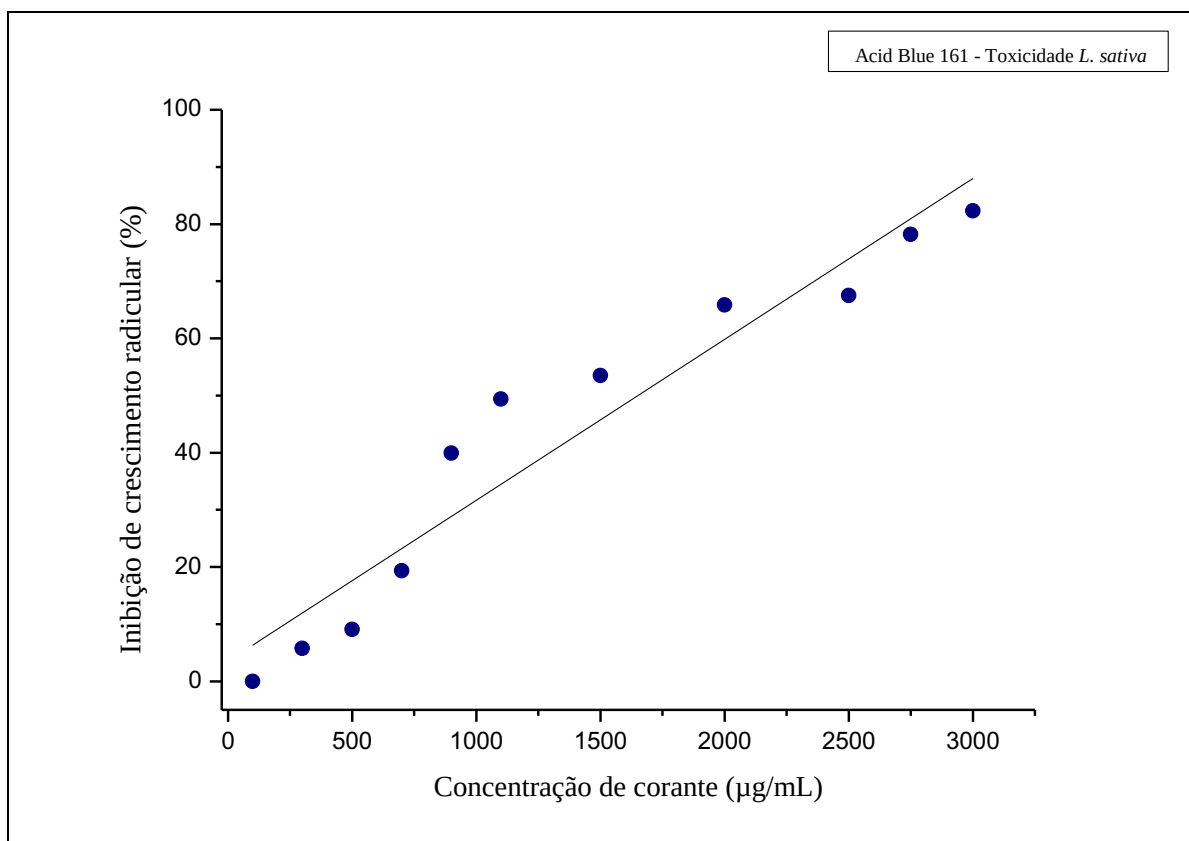
5.3.1. *Lactuca sativa*

Dentre os mais diferentes fatores ambientais, a disponibilidade e qualidade da água é o que mais influencia na germinação e desenvolvimento das plantas. Com a absorção de água pelas sementes, ocorre a hidratação dos tecidos, levando a intensificação da respiração e de todas as demais atividades metabólicas, que resultam no fornecimento de energia e nutrientes para o desenvolvimento do eixo embrionário (PALÁCIO et al., 2009). Sendo assim, se a água envolvida nesses processos estiver de alguma forma contaminada por agentes tóxicos, todo o processo germinativo estará comprometido. Essa sensibilidade das plantas a presença de poluentes ambientais justifica a sua utilização nos mais diferentes tipos de testes ecotoxicológicos.

Uma vez hidratadas as sementes rompem seu estado de dormência e inicia-se o processo de germinação, onde elas passarão por intensas modificações fisiológicas, e é nesse momento que se tornam altamente sensíveis as variações ambientais. As plantas são organismos aquáticos essenciais, e a presença de substâncias tóxicas que possam prejudicar esses organismos irão afetar diretamente a estrutura e funcionamento de todo o ecossistema, resultando principalmente em diminuição de oxigênio e da produtividade primária (WANG; FREEMARK, 1995).

Entre esses e outros motivos os testes de toxicidade com plantas são significativamente importantes. Sendo assim os resultados de toxicidade aguda obtidos a partir da exposição das sementes de *L. sativa* a diferentes concentrações das soluções simples e solução binária dos corantes testados, por um período de 72 horas, expressos em % de inibição do crescimento radicular, podem ser observados respectivamente nas Figuras 21, 22 e 23. A obtenção desses resultados permitiu o cálculo da concentração de CIR₅₀ para cada corante em solução simples, e também para a solução binária. Os cálculos foram realizados no programa estatístico Origin Professional 8.0 a partir de regressões lineares.

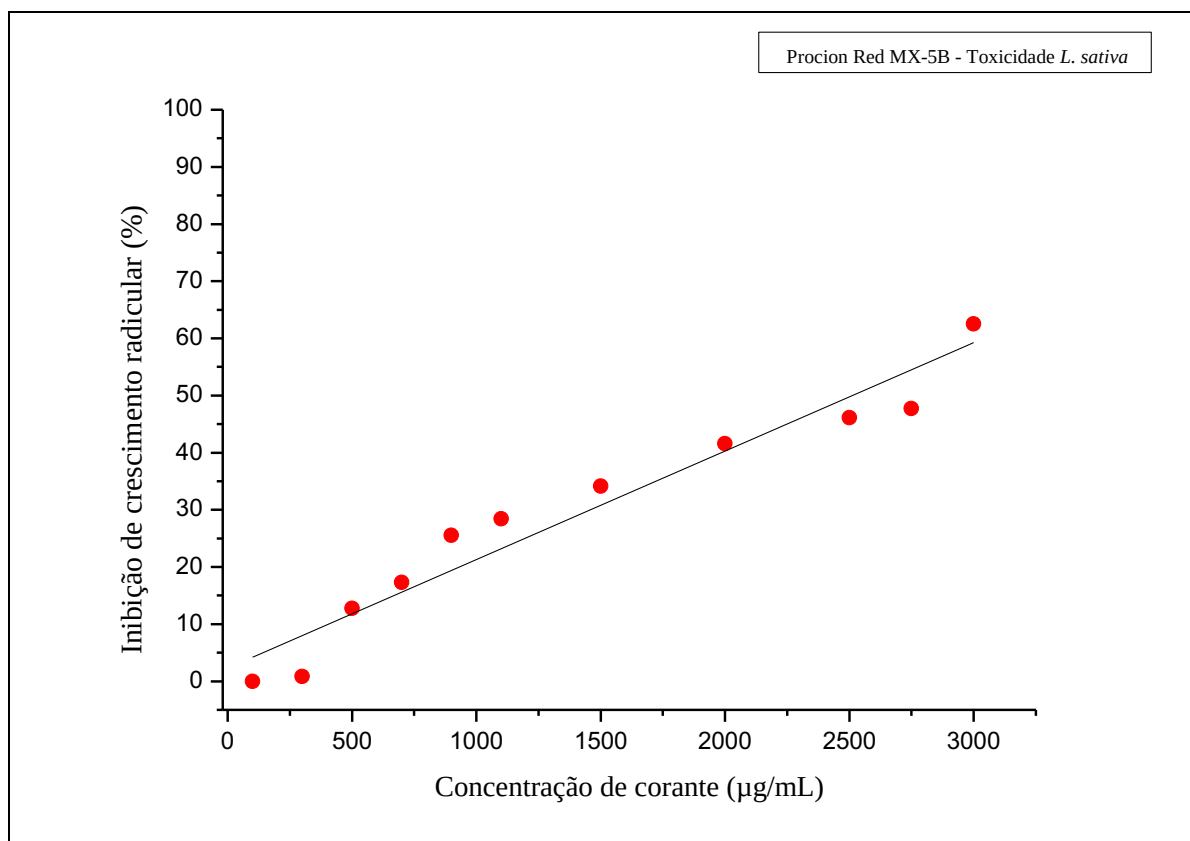
Figura 21 – Inibição de crescimento radicular das plântulas de *L. sativa* após 72 horas de exposição a diferentes concentrações do corante AB 161 em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: % de inibição = $3,51026 + 0,02815 \cdot [\text{corante}]$; $R = 0,915$; $CIR_{50} = 1652 \mu\text{g/mL}$.

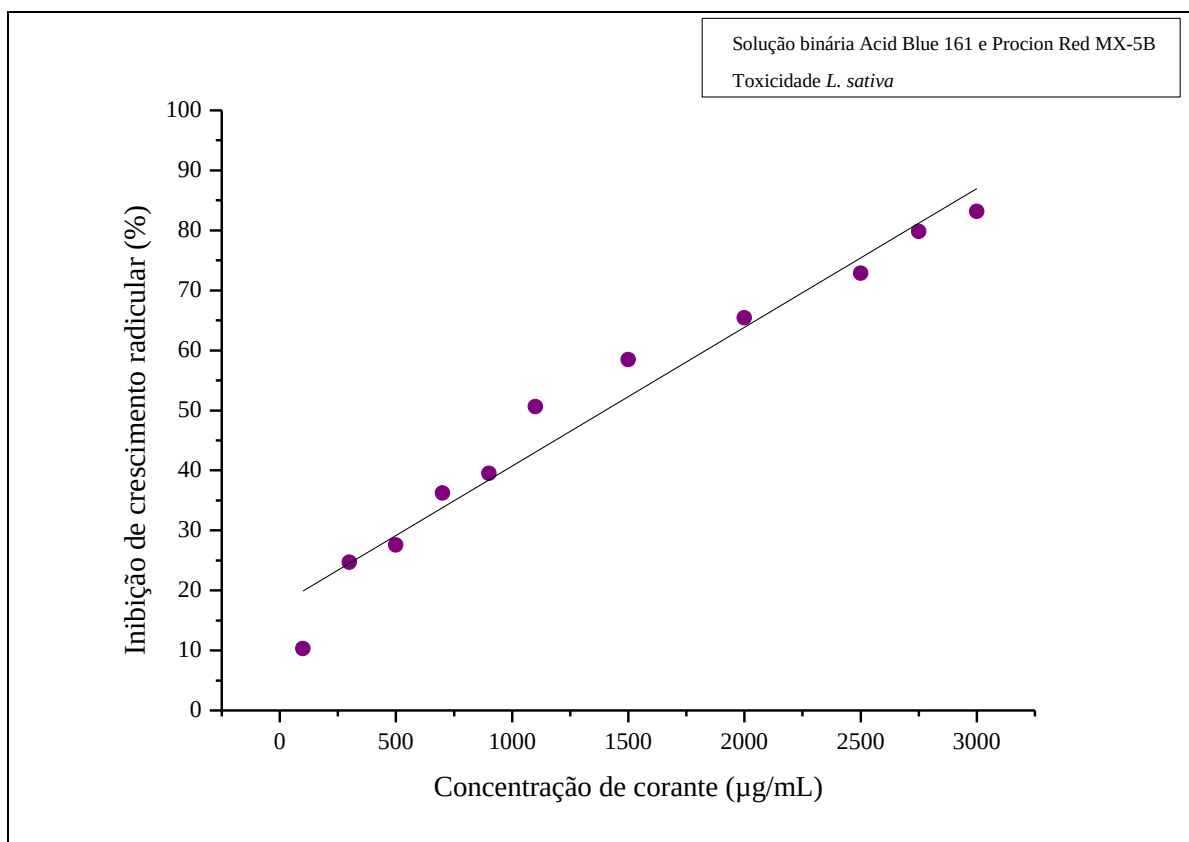
Figura 22 – Inibição de crescimento radicular das plântulas de *L. sativa* após 72 horas de exposição a diferentes concentrações do corante PR MX-5B em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: % de inibição = $2,32991 + 0,01897 \cdot [\text{corante}]$; $R=0,939$; $CIR_{50}=2513 \mu\text{g/mL}$.

Figura 23 – Inibição de crescimento radicular das plântulas de *L. sativa* após 72 horas de exposição a diferentes concentrações dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária



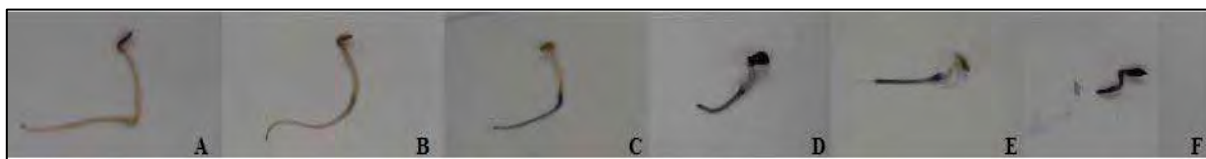
Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: % de inibição = $17,5989 + 0,02313 \cdot [\text{corante}]$; $R = 0,958$; $CIR_{50} = 1400 \mu\text{g/mL}$.

Os resultados de CIR_{50} obtidos para os corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples foram respectivamente de 1652 e 2513 $\mu\text{g/mL}$. A partir desses dados verificamos que o corante AB 161 apresentou-se mais tóxico, pois teve um valor de CIR_{50} 1,5 vezes menor que a do corante PR MX-5B. Em solução binária a concentração de CIR_{50} obtida foi igual a 1400 $\mu\text{g/mL}$ de cada um dos corantes, indicando que essa associação de corantes não tornou o meio mais tóxico para as sementes de *L. sativa*.

Esse teste foi realizado para determinar o grau de toxicidade dos corantes estudados antes de qualquer tipo de tratamento microbiológico. O objetivo foi analisar a partir de uma determinada concentração as variações de toxicidade que podem ou não ocorrer durante os tratamentos de bioabsorção e biodegradação, além de verificar a sensibilidade desses organismos a presença dos corantes. As Figuras 24, 25 e 26 representam o desenvolvimento das plântulas após 72 horas de contato com as soluções dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária e em diferentes concentrações.

Figura 24 – Inibição do crescimento radicular das plântulas de *L. sativa* em diferentes concentrações do corante AB 161 em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) água destilada; (B) 100 µg/mL; (C) 500 µg/mL; (D) 900 µg/mL; (E) 1100 µg/mL; (F) 2750 µg/mL

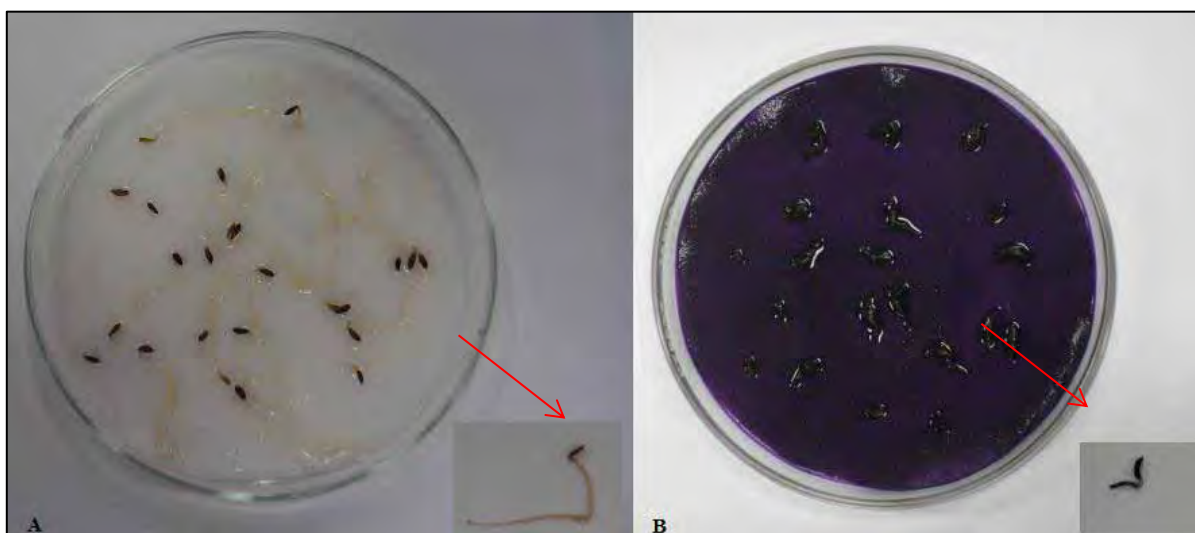
Figura 25 – Inibição do crescimento radicular das plântulas de *L. sativa* em diferentes concentrações do corante PR MX-5B em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) água destilada; (B) 100 µg/mL; (C) 500 µg/mL; (D) 900 µg/mL; (E) 1100 µg/mL; (F) 2750 µg/mL.

Figura 26 – Desenvolvimento das sementes de *L. sativa* em (A) água destilada (solução controle) e (B) solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B na concentração de 2750 µg/mL



Fonte: Elaborado pela autora.

5.3.2. *Artemia salina*

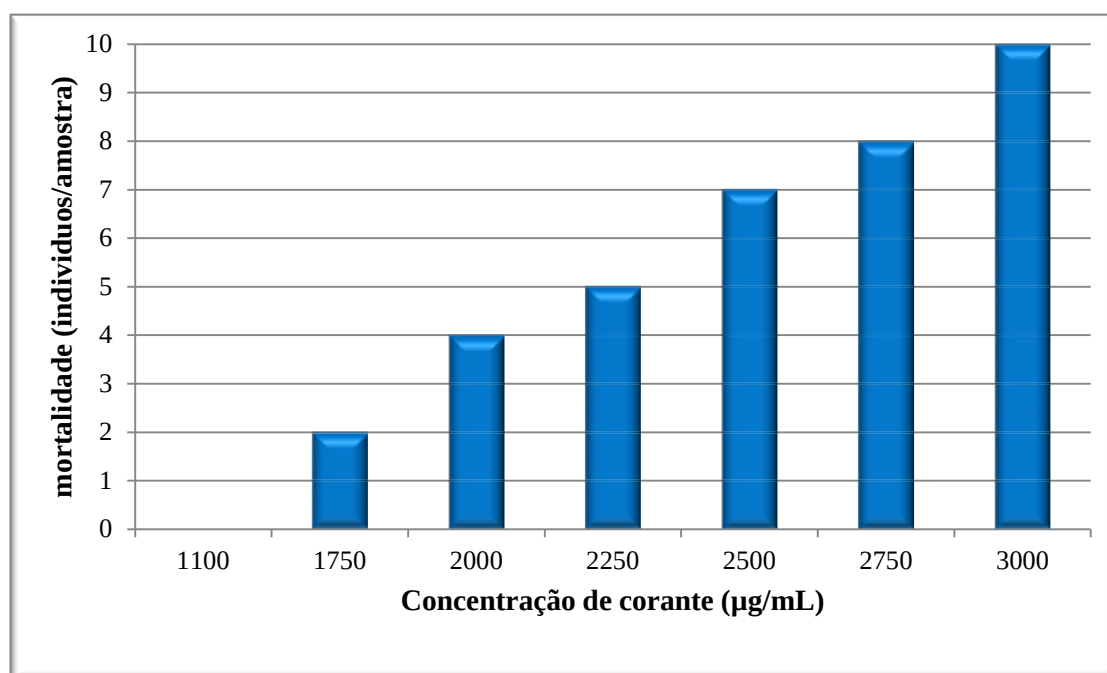
Atualmente sugere-se que o estudo da toxicidade de substâncias potencialmente nocivas ao meio ambiente seja realizado com organismos de diferentes níveis tróficos. A partir desses estudos é possível determinar como esses poluentes se comportam dentro da cadeia e quão prejudiciais são aos organismos a eles expostos. Nesse contexto, as larvas do microcrustáceo *A. salina* tem se apresentado como um bom indicador da presença de substâncias tóxicas no meio aquático, além de serem de fácil manuseio em laboratório, e apresentar resposta rápida e resultados confiáveis (GUERRA, 2001; BIZUKOJC et al., 2005).

Os testes de toxicidade com *A. salina* foram realizados a fim de se determinar a toxicidade aguda dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária, antes dos tratamentos microbiológicos de bio-sorção e biodegradação. Como controles foram utilizados duas soluções, uma de água do mar sintética a 3,2 ‰ de sais e outra de água do mar sintética a 3,2 ‰ diluída a 50 ‰ em água destilada. A diluição da água do mar sintética foi realizada para ver a resposta das larvas frente a uma concentração menor de sais.

O teste de sensibilidade dos organismos foi realizado com o dodecil-sulfato de sódio (DSS). As duas soluções salinas utilizadas como controle não apresentaram mortalidade das larvas, indicando boa tolerância das larvas à variação de salinidade do meio. E o valor de sensibilidade ao DSS ficou na faixa de concentração de CL_{50} esperada. Esses dois parâmetros analisados indicaram que as larvas estavam aptas para serem utilizadas no teste de toxicidade.

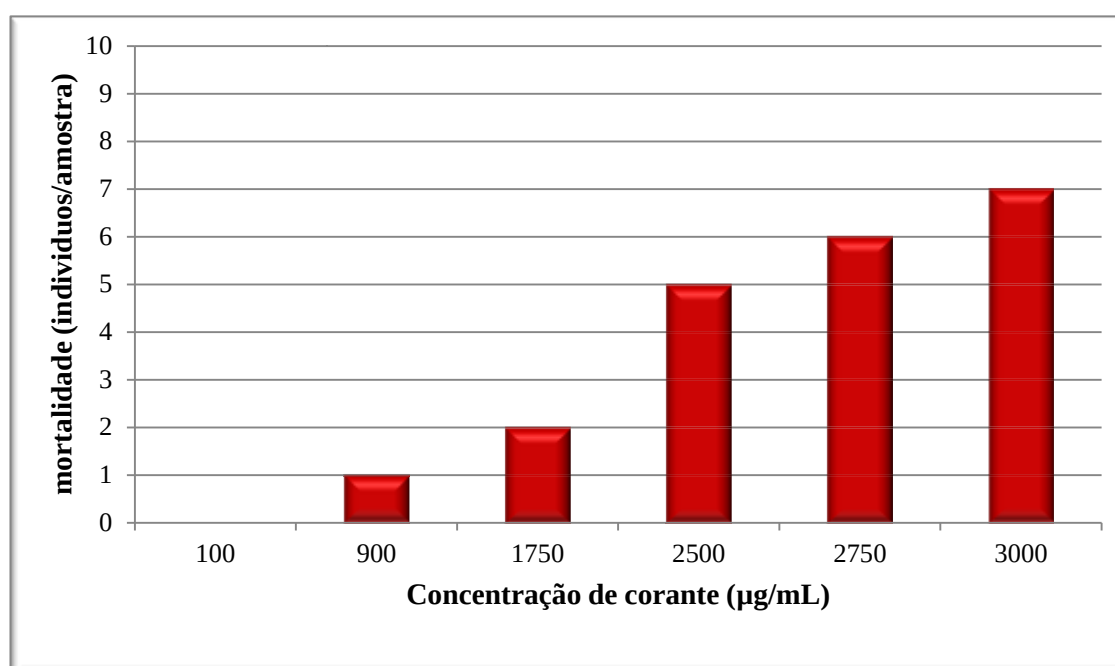
Nas Figuras 27, 28 e 29 estão representados os valores de mortalidade determinados após 48 horas de exposição das larvas a diferentes concentrações dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária.

Figura 27 – Mortalidade das larvas de *A. salina* frente a diferentes concentrações do corante AB 161 em solução simples



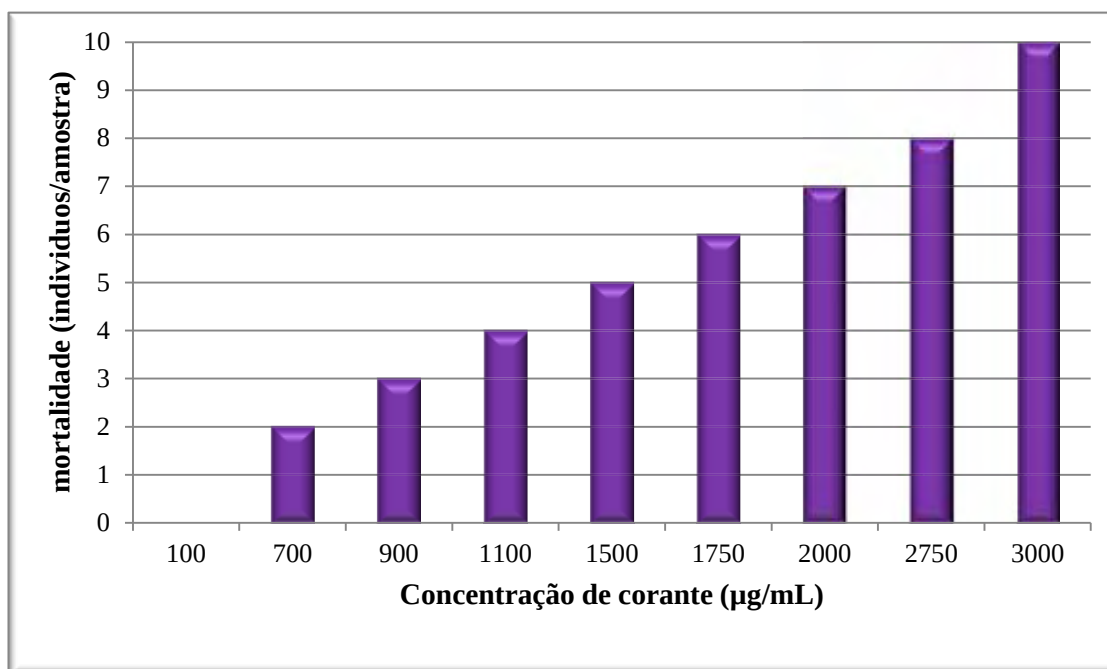
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 28 – Mortalidade das larvas de *A. salina* frente a diferentes concentrações do corante PR MX-5B em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 29 – Mortalidade das larvas de *A. salina* frente a diferentes concentrações do corante AB 161 e PR MX-5B em solução binária



Fonte: Elaborado pela autora.

A partir desses dados de mortalidade foi possível calcular os valores de CL_{50} para cada solução testada utilizando o programa estatístico Trimmed Spearman-Kärber. Os valores de CL_{50} obtidos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de CL_{50} para os corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária, determinados após a exposição das larvas de *A. salina* a diferentes concentrações dessas soluções

Solução de Corante	CL_{50}
AB 161 em solução simples	$2175 \pm 161 \mu\text{g/mL}$
PR MX-5B em solução simples	$2574 \pm 280 \mu\text{g/mL}$
AB 161 e PR MX-5B em solução binária	$1341 \pm 224 \mu\text{g/mL}$ de cada um dos corantes

Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando os valores de CL_{50} é possível afirmar que em solução simples o corante AB 161 apresentou-se ligeiramente mais tóxico para as larvas de *A. salina*, sendo a diferença de CL_{50} entre os dois corantes igual a 400 $\mu\text{g/mL}$. E para os resultados obtidos em solução binária verificou-se que as concentrações de CL_{50} permaneceram equivalentes as concentrações determinadas em solução simples, indicando que associação dos dois corantes não tornou o meio mais tóxico para esses organismos.

5.4. Obtenção do peso seco da biomassa fúngica

Nessa análise foi realizada a quantificação em mg/mL , de biomassa seca presente em 1 mL de suspensão de *pellets* miceliais. O objetivo foi calcular qual volume seria necessário para adquirir quantidades iguais de biomassa peletizada para a realização dos tratamentos de bioissorção e biodegradação. A quantidade de biomassa obtida em 1 mL de suspensão foi diferente para cada um dos fungos. E admitindo-se que as suspensões são homogêneas e que não houve diferença de pipetagem, a partir desses valores foi calculado o volume necessário para a obtenção de 1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL de biomassa que foi utilizada no teste de bioissorção, e de 3 mg/mL utilizada no teste de biodegradação. A Tabela 2 apresenta as quantidades de biomassa presente em 1 mL de suspensão para cada um dos fungos.

A utilização de quantidades iguais de biomassa foi necessária para a realização das análises comparativas de descoloração.

Tabela 2 – Peso seco da biomassa presente em 1 mL de suspensão peletizada dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*

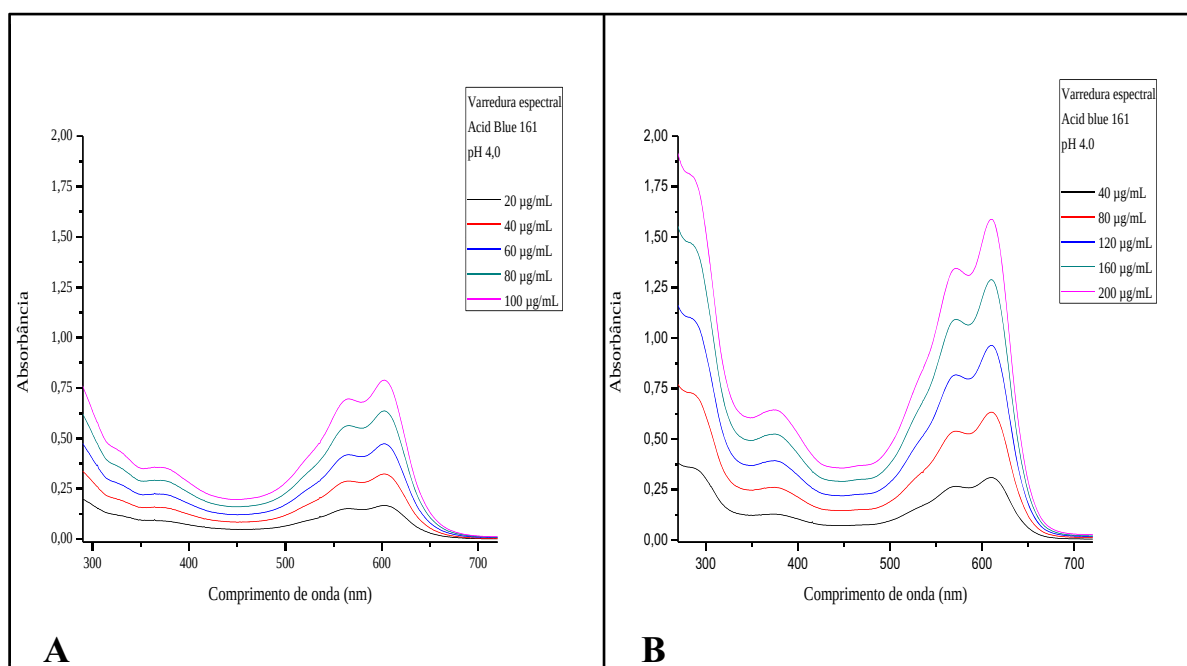
	Peso seco (mg/mL)	Desvio Padrão
<i>A. niger</i>	13,57	$\pm 0,25$
<i>A. terreus</i>	11,93	$\pm 0,38$
<i>R. oligosporus</i>	14,53	$\pm 0,60$

Fonte: Elaborado pela autora.

5.5. Cálculo das concentrações remanescentes dos corantes AB 161 e PR MX-5B

Os espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária em pH 4,0, nas concentrações de 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL e 40, 80, 120, 160, 200 µg/mL estão ilustradas nas Figuras 30, 31 e 32. A partir dessas varreduras espectrais foi possível determinar as retas padrão de cada uma das soluções utilizadas nos testes de bioabsorção e biodegradação. As retas foram utilizadas para determinação das concentrações de corantes remanescentes nas soluções após os tratamentos microbiológicos.

Figura 30 – Espectros de absorção do corante AB 161 em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

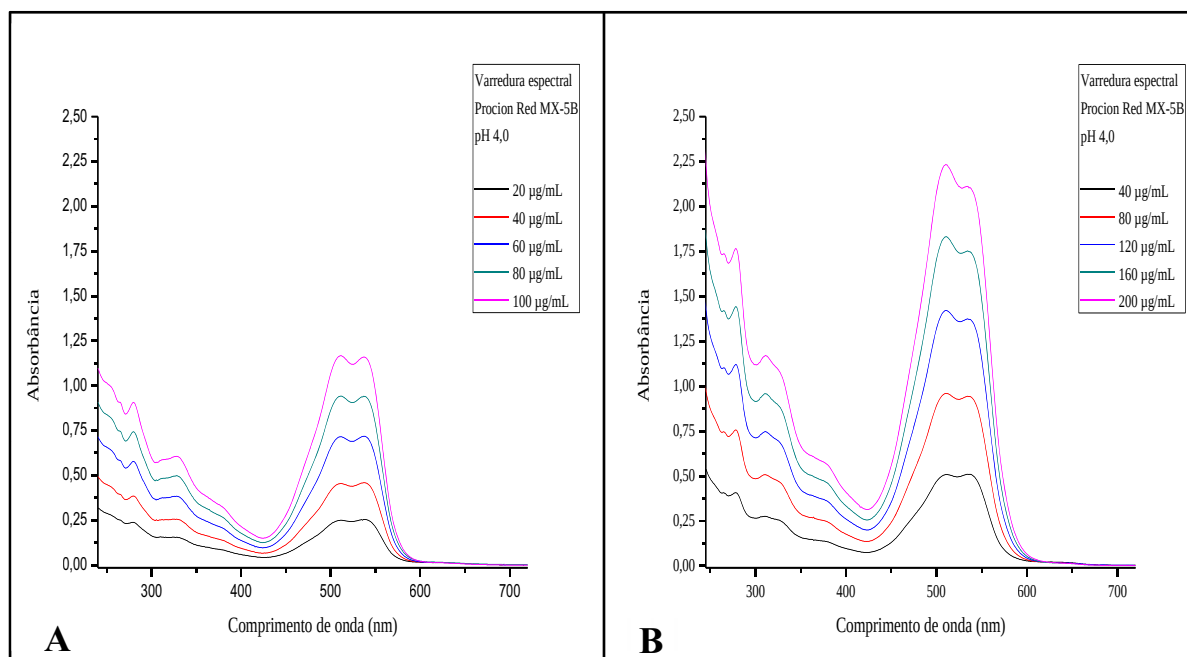
Notas: (A) Concentrações 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL:

Bioabsorção - Reta: $Abs_{602,5nm} = 0,01031 + 0,00779 \cdot [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$;

(B) Concentrações 40, 80, 120, 160 e 200 µg/mL:

Biodegradação - Reta: $Abs_{602,5nm} = -0,00535 + 0,00768 \cdot [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$.

Figura 31 – Espectros de absorção do corante PR MX-5B em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

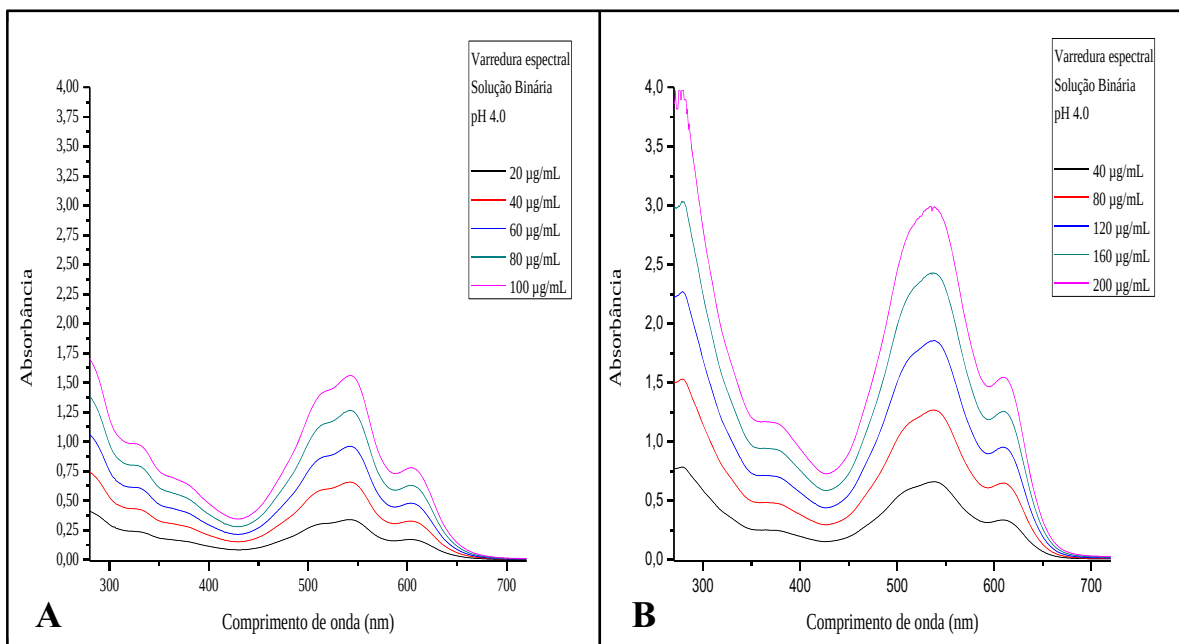
Notas: (A) Concentrações 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL:

Biossorção - Reta: $Abs_{537nm} = 0,03267 + 0,0113 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$;

(B) Concentrações 40, 80, 120, 160 e 200 µg/mL:

Biodegradação - Reta: $Abs_{537nm} = 0,13727 + 0,00999 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$.

Figura 32 – Espectros de absorção dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária



Fonte: Elaborado pelo autora.

Notas: (A) Concentrações 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL:

Biossorção – Reta AB 161: $Abs_{602,5nm} = 0,02366 + 0,00757 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$;

Reta interferente AB 161: $Abs_{537nm} = 0,01541 + 0,00475 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$;

Reta PR MX-5B: $Abs_{537nm} = 0,03267 + 0,0113 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$;

(B) Concentrações 40, 80, 120, 160 e 200 µg/mL:

Biodegradação – Reta AB 161: $Abs_{602,5nm} = 0,04064 + 0,00739 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$;

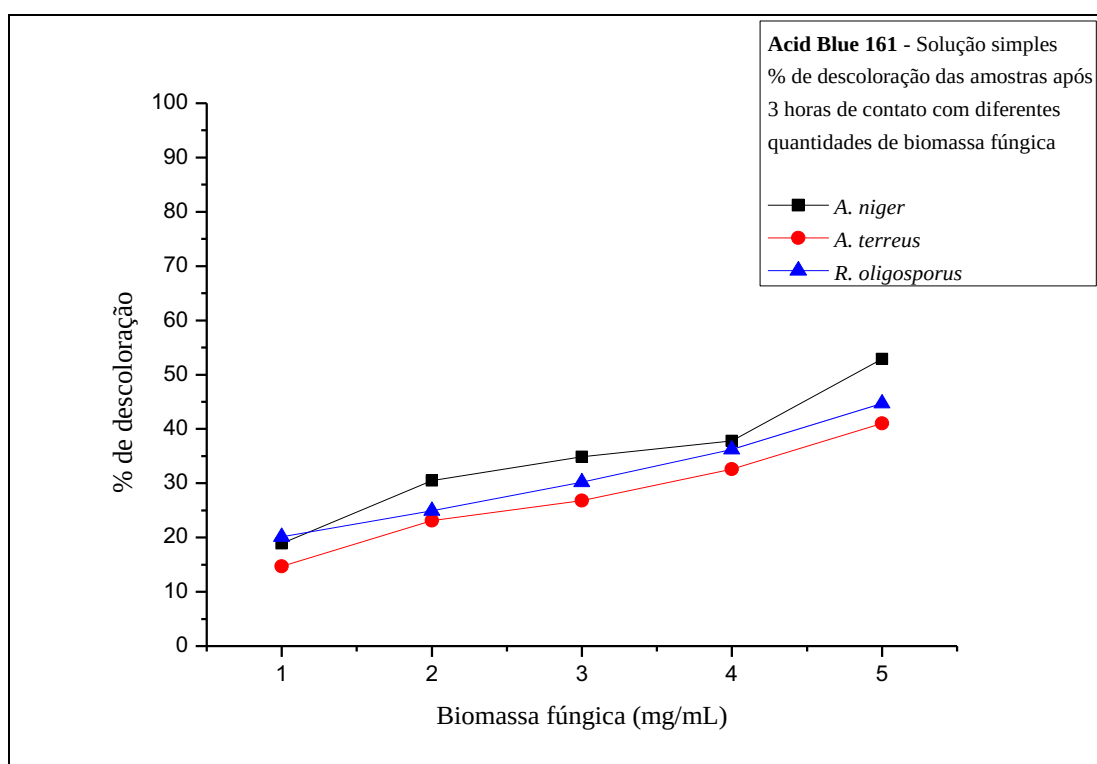
Reta interferente AB 161: $Abs_{537nm} = 0,00389 + 0,00431 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$;

Reta PR MX-5B: $Abs_{537nm} = 0,13727 + 0,00999 * [corante\ remanescente]$; $R = 0,999$.

5.6. Teste de bioissorção

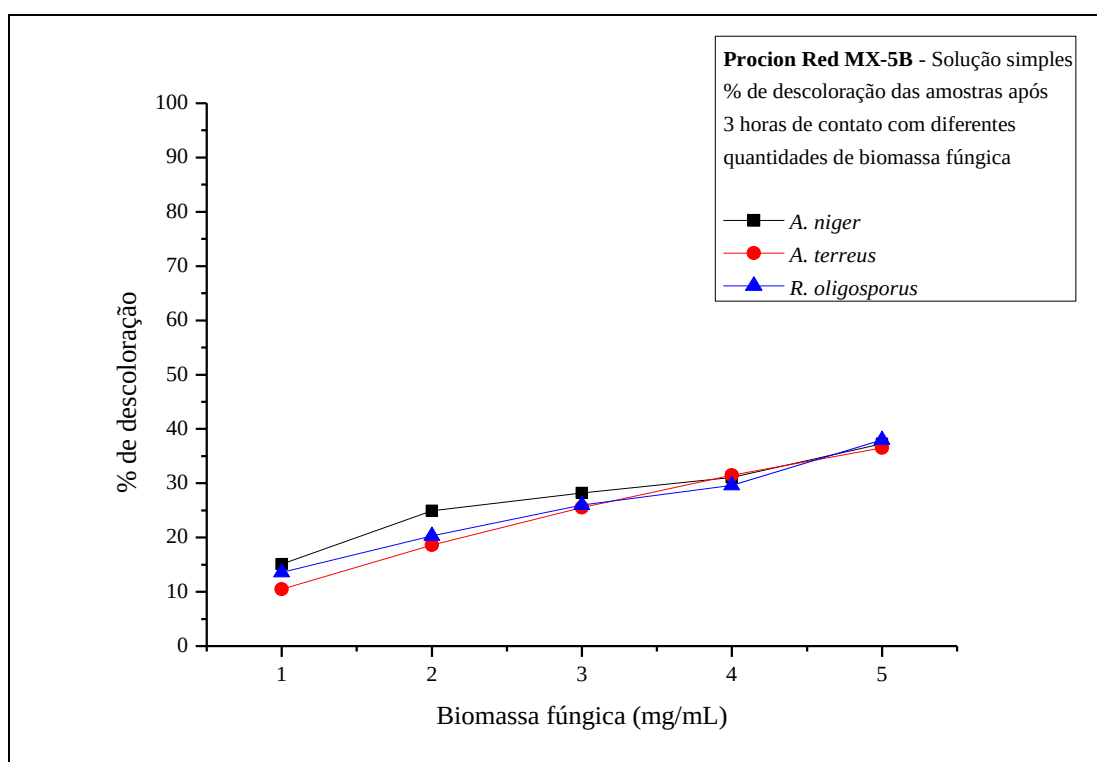
No teste de interação bioissorativa entre os fungos filamentosos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* na forma paramorfogênica e os corantes AB 161 e PR MX-5B foi analisado a porcentagem de descoloração das soluções e a capacidade de cada fungo em adsorver as moléculas dos corantes do meio em solução simples e solução binária. Os dados de descoloração obtidos através de análises espectrofotométricas UV-Vis para cada corante em solução simples, após 3 horas de contato com diferentes quantidades de biomassa fúngica peletizada (mg/mL) pH 4.0, podem ser observados nas Figuras 33 e 34. Os resultados de descoloração para a solução binária, considerando a soma da remoção dos dois corantes presentes na solução estão representados na Figura 35. A Tabela 3 ilustra a remoção individual dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária após a interação bioissorativa, sendo a concentração inicial de corante nas soluções de 100 µg/mL.

Figura 33 – Correlação entre diferentes quantidades de biomassa peletizada (1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL) dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* e % de descoloração das soluções-teste do corante AB 161 em solução simples



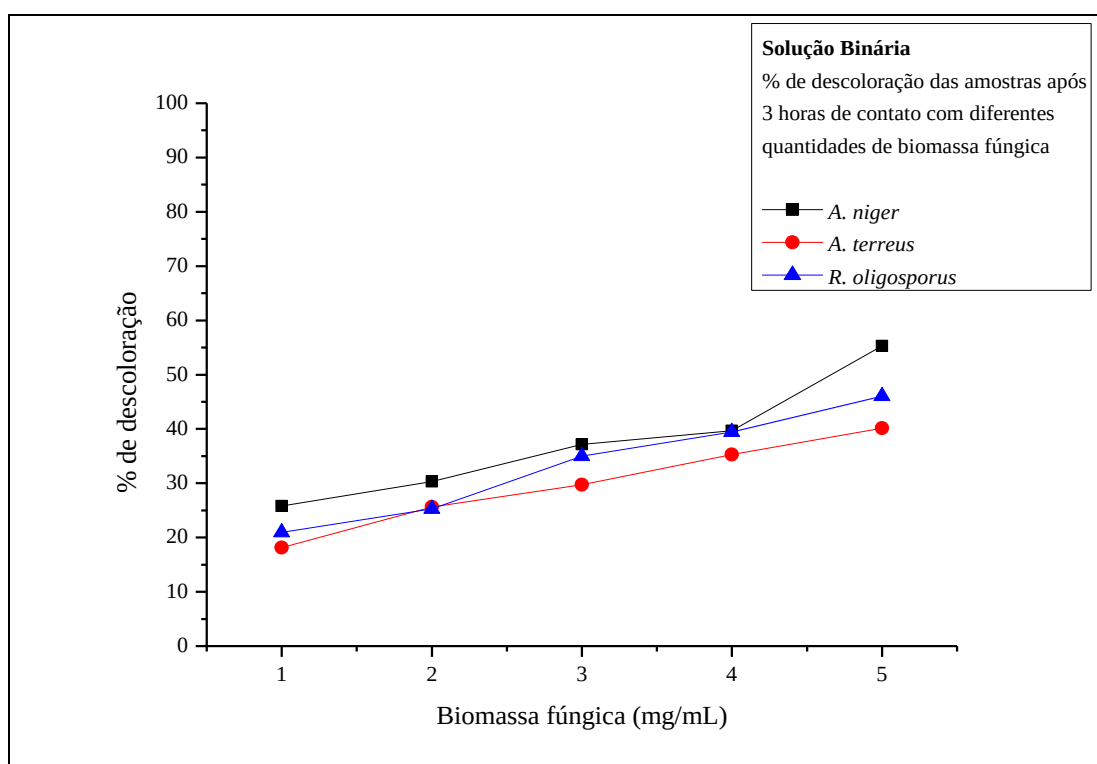
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 34 – Correlação entre diferentes quantidades de biomassa peletizada (1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL) dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* e % de descoloração das soluções-teste do corante PR MX-5B em solução simples



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 35 – Correlação entre diferentes quantidades de biomassa peletizada (1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL) dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* e % de descoloração das soluções-teste dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária



Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3 – Porcentagem de remoção individual dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária utilizando diferentes quantidades de biomassa peletizada dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*

Fungo	Corantes	% de descoloração das soluções				
		1 mg/mL	2 mg/mL	3 mg/mL	4 mg/mL	5 mg/mL
<i>A. niger</i>	AB 161	27,3	32,2	40,1	41,5	63,4
	PR MX-5B	24,3	28,4	34,2	37,9	47,2
<i>A. terreus</i>	AB 161	14,3	22,2	27,0	33,0	38,3
	PR MX-5B	22,0	29,1	32,5	37,6	42,0
<i>R. oligosporus</i>	AB 161	20,2	24,3	36,0	40,9	48,0
	PR MX-5B	21,7	26,2	34,0	37,5	44,0

Fonte: Elaborado pela autora.

Nas Tabelas 4 e 5 estão expressos os valores de concentração remanescente ($\mu\text{g/mL}$) dos corantes AB 161 e PR MX-5B nas soluções simples e solução binária após interação biossortiva.

Tabela 4 – Análise comparativa de remoção do corante AB 161 em solução simples e solução binária após interação bioassortiva com biomassa peletizada dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*

		Concentração de corante remanescente (µg/mL)				
Fungo	Tipo de solução	1 mg/mL	2 mg/mL	3 mg/mL	4 mg/mL	5 mg/mL
<i>A. niger</i>	Simples	81,10	69,50	65,10	62,20	47,10
	Binária	72,70	67,80	59,90	58,50	36,60
<i>A. terreus</i>	Simples	85,30	76,90	73,20	67,40	59,00
	Binária	85,70	77,80	73,00	67,00	61,70
<i>R. oligosporus</i>	Simples	79,90	75,10	69,80	63,80	55,30
	Binária	79,80	75,70	64,00	59,10	52,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 5 – Análise comparativa de remoção do corante PR MX-5B em solução simples e solução binária após interação bioassortiva com biomassa peletizada dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*

		Concentração de corante remanescente (µg/mL)				
Fungo	Tipo de solução	1 mg/mL	2 mg/mL	3 mg/mL	4 mg/mL	5 mg/mL
<i>A. niger</i>	Simples	84,90	75,10	71,80	68,90	62,70
	Binária	75,70	71,60	65,80	62,10	52,80
<i>A. terreus</i>	Simples	89,50	81,40	74,50	68,50	63,50
	Binária	78,00	70,90	67,50	62,40	58,00
<i>R. oligosporus</i>	Simples	86,00	79,70	74,00	70,40	62,00
	Binária	78,30	73,80	66,00	62,10	55,90

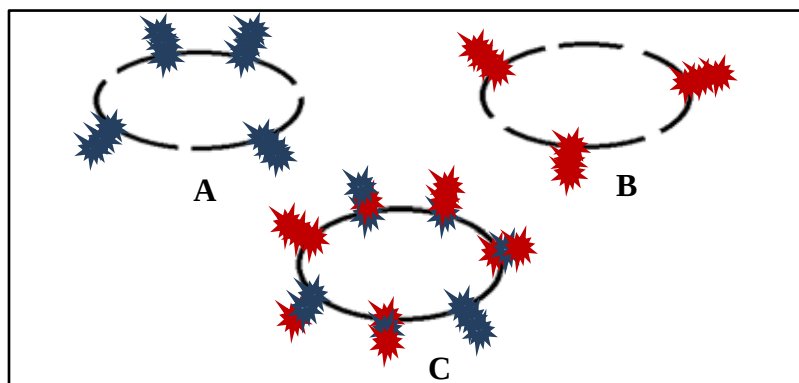
Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando os resultados pode-se afirmar que com o aumento da quantidade de biomassa presente nas soluções testadas ocorreu aumento da taxa de descoloração das soluções, e que o fungo *A. niger* em todas as condições (solução simples e solução binária) foi o que apresentou maior percentual de descoloração. O corante AB 161 foi mais facilmente removido pelas biomassas fúngicas, tanto em solução simples, quanto em solução binária. Isso mostra que esse corante possui maior afinidade com as paredes celulares desses fungos.

A parede celular dos fungos é constituída principalmente de polissacarídeos, proteínas e lipídios e possui muitos grupos funcionais. Os corantes podem interagir com esses sítios ativos na superfície celular através de diferentes mecanismos. Os mecanismos de ligação podem ser físicos (forças de Van der Waals) ou químicos (ligação iônica ou covalente). Contudo, atualmente sabe-se que a eficiência e a seletividade de adsorção pela biomassa existem principalmente devido a mecanismos de troca iônica (CRINI, 2006).

A maior remoção dos corantes pelos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* em solução binária nos levou a inferir que em suas paredes celulares há sítios ativos específicos de ligação para cada corante. Uma hipótese é de que quando em solução simples, as moléculas de corante ocupam seus sítios ativos específicos, deixando espaços vazios, ou seja, a parede celular da biomassa adsorvente não é completamente preenchida. Contudo, quando associados em solução binária cada corante ocupa o seu sítio ativo específico e ocorre preenchimento de toda a superfície adsorvente. Esse fato explica a maior quantidade de corante removido em solução binária, pois nesse modelo todos os sítios ativos da parede celular são ocupados, favorecendo o processo de descoloração das soluções. A Figura 36 representa um esquema geral do processo adsorativo em solução simples e solução binária.

Figura 36 – Esquema hipotético da aderência das moléculas dos corantes AB 161 e PR MX-5B na parede celular dos fungos estudados



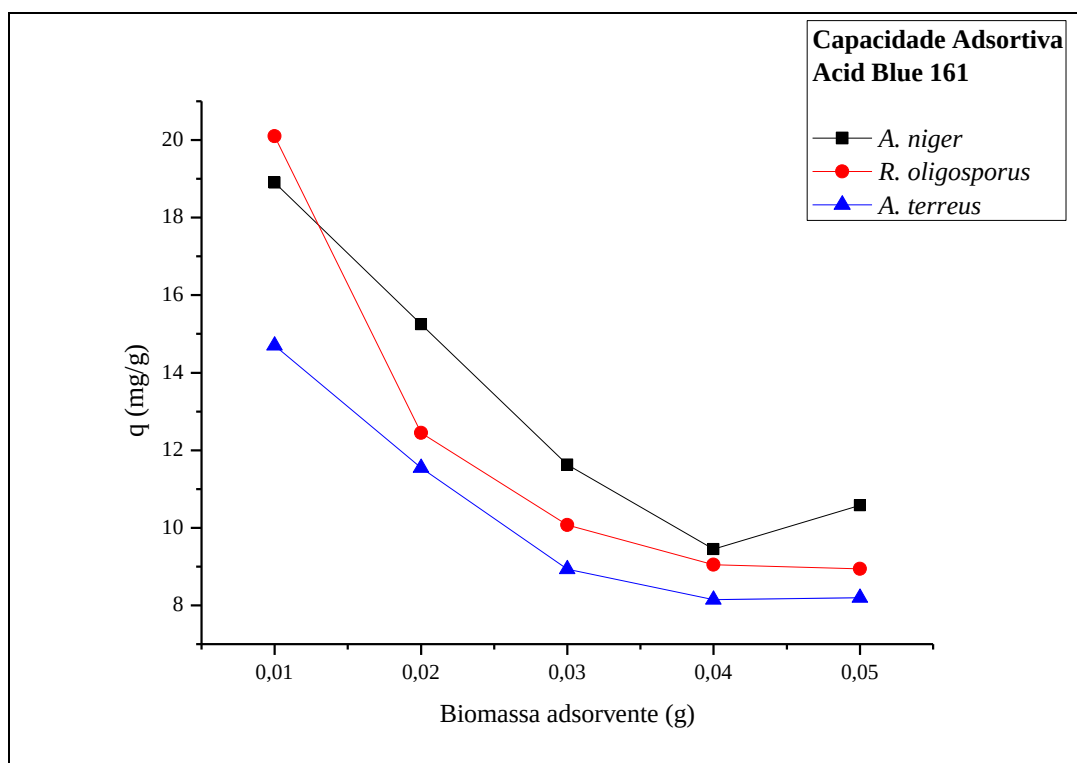
Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) Adsorção do AB 161 em solução simples, onde é possível observar sítios ativos livres; (B) Adsorção do PR MX-5B em solução simples, presença de sítios ativos livres; (C) Adsorção dos corantes em solução binária, onde é possível observar a ocupação de todos os sítios ativos.

Outro fator analisado foi a capacidade adsortiva (q) expressa em mg/g de cada biomassa fúngica testada para remover as moléculas dos corantes das soluções. Nas Figuras 37, 38 e 39 é possível observar os resultados obtidos nos testes biossorbitivos com os corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária.

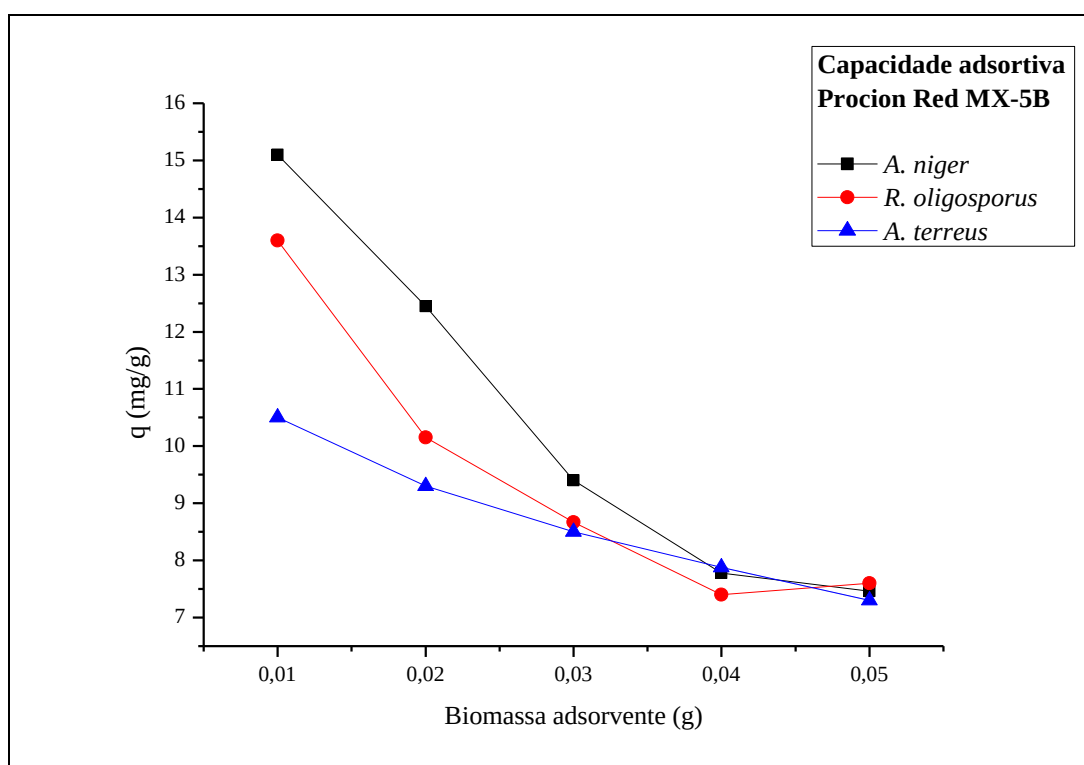
Nas Figuras 40 e 41 estão representadas imagens dos *pellets* dos fungos *A. terreus*, *A. niger* e *R. oligosporus*, após interação biossorbitiva com a solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B. As imagens representadas na Figura 41 foram obtidas em lupa Leica MZ16 equipada com câmera Leica DFC 320.

Figura 37 – Efeito da capacidade adsortiva dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* com o aumento da quantidade (g) de biomassa fúngica para o corante AB 161



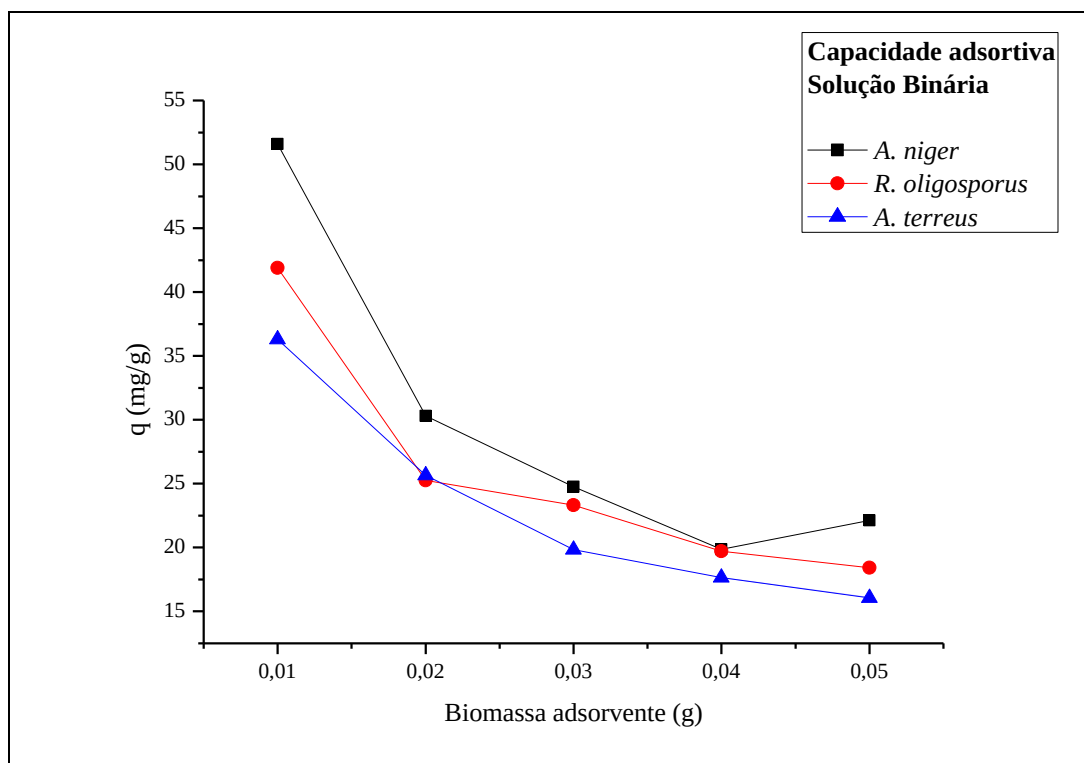
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 38 – Efeito da capacidade adsortiva dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* com o aumento da quantidade (g) de biomassa fúngica para o corante PR MX-5B



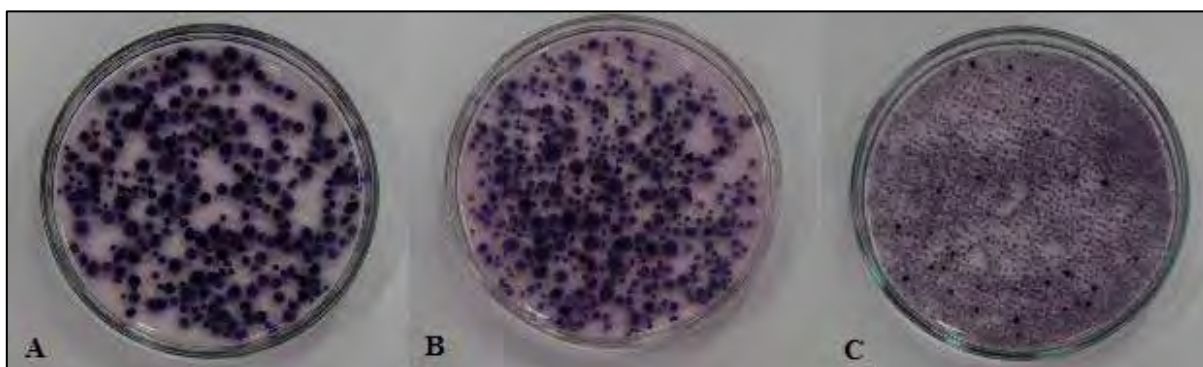
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 39 – Efeito da capacidade adsortiva dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* com o aumento da quantidade (g) de biomassa fúngica para solução binária



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 40 – Pellets dos fungos (A) *A. niger*; (B) *R. oligosporus*; e (C) *A. terreus* após estudo de interação bioassortiva com a solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 41 – Imagem dos *pellets* dos fungos (A) *A. niger* (B) *R. oligosporus* (C) *A. terreus*; após interação bioassortiva com a solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) aumento 160x; (B) aumento 160 vezes; (C) aumento 400 x.

Ao observarmos a morfologia dos *pellets* é possível verificar que eles apresentam-se como um emaranhado de hifas, rodeado por muitos filamentos soltos na superfície. Essa conformação permite a aderência das moléculas dos corantes a essa superfície exposta, além do preenchimento dos espaços internos presentes nos *pellets*. Essa característica explica o fato de que com o aumento da quantidade de biomassa presente nas soluções-teste ocorra a diminuição da capacidade adsorptiva, como pode ser observado nas Figuras 37, 38 e 39. Na presença de uma maior quantidade de biomassa ocorre compactação dos *pellets*, reduzindo a superfície de contato do adsorvente, ou seja, diminui a quantidade de sítios ativos expostos para se ligar as moléculas de corante. Lembrando que na presença de quantidades maiores de biomassa ocorre maior descoloração das soluções, mas em contrapartida ocorre perda da capacidade adsorptiva dessas biomassas. Portanto, estudos posteriores serão realizados para tentar aumentar a taxa de descoloração das soluções-teste levando em consideração as condições necessárias para otimizar a capacidade adsorptiva da biomassa adsorvente.

5.6.1. Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir foram aplicadas para que fosse possível avaliar de que forma ocorreu a interação entre os substratos adsorventes e os corantes durante os testes biossorbitivos.

A isoterma de Langmuir assume que todas as forças que atuam na adsorção são similares em natureza aquelas que envolvem uma reação química e que a adsorção se resume em uma única camada de moléculas da substância sobre a superfície do adsorvente. Enquanto que a isoterma de Freundlich considera que a adsorção ocorre em múltiplas camadas e é útil para descrever a adsorção em superfícies altamente heterogêneas (MOORE, 1968; GOLDBERG, 1995).

Na Tabela 6 estão representados os coeficientes de correlação (R) das equações de Freundlich e Langmuir, obtidos a partir dos resultados do teste de biossorção.

Tabela 6 – Coeficientes de correlação (R) obtidos a partir das equações das isotermas de Freundlich e Langmuir, para cada tratamento biossorbitivo dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária

	AB 161 em solução simples		PR MX-5B em solução simples		AB 161 e PR MX-5B em solução binária	
	Freundlich	Langmuir	Freundlich	Langmuir	Freundlich	Langmuir
<i>A. niger</i>	0,5073	0,2947	0,8650	0,6642	0,3015	0,2516
<i>A. terreus</i>	0,7399	0,1489	0,9937	0,0322	0,9078	0,8503
<i>R. oligosporus</i>	0,5869	0,1769	0,7309	0,2788	0,7053	0,2741

Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando os coeficientes de correlação (R) das isotermas foi possível concluir que a adsorção realizada pelos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* ocorreu de acordo com a isoterma de Freundlich, ou seja a remoção dos corantes das soluções ocorreu através de

múltiplas camadas. Esse modelo de adsorção explica os resultados discutidos no item 5.5., onde foi verificado que em solução simples a taxa de remoção dos corantes pelas biomassas adsorventes foi menor do que em solução binária. O que sugere a presença de sítios ativos específicos para cada um dos corantes, e que em solução binária ocorreu o preenchimento de todos esses sítios de fixação disponíveis, aumentando assim a taxa de remoção dos corantes das soluções.

5.7. Testes de toxicidade após interação bioassortiva

Os resultados de descoloração das soluções-teste dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária, obtidos após interação bioassortiva com biomassa peletizada do fungo *A. niger*, estão expressos na Tabela 7. Foi utilizado para descoloração o fungo *A. niger*, pois como já discutido no item 5.5. ele apresentou maior taxa de descoloração das soluções.

Os resultados dos testes de toxicidade com *L. sativa* e *A. salina* realizados com os sobrenadantes resultantes da etapa de bioassortividade, estão expressos nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 7 – Porcentagem de descoloração e concentração remanescente dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária após interação bioassortiva com 5 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. niger*

	Descoloração (%)	Corante Remanescente (µg/mL)
AB 161 em solução simples	46,30	107,40
PR MX-5B em solução simples	31,20	137,60
Solução Binária	39,92	105,00 – Acid Blue 161 135,32 – Procion Red MX-5B

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: a concentração inicial das soluções foi igual a 200 µg/mL

Tabela 8 – Comprimento (cm) das raízes, média das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes de *L. sativa* expostas as diferentes soluções compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes (soluções controle com concentração de 200 µg/mL) e após interação biossortiva (soluções tratadas) com 5 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. niger*

Solução-teste	Tipo de solução	Crescimento Réplica 1 (cm)	Crescimento Réplica 2 (cm)	Média de crescimento (cm)	Inibição (%)
Controle água destilada		0,77	0,74	0,76	-
AB 161 em solução simples	Solução controle	0,63	0,75	0,69	9,21
	Solução tratada	0,79	0,74	0,77	0,00
PR MX-5B em solução simples	Solução controle	0,70	0,74	0,72	5,26
	Solução tratada	0,85	0,88	0,87	0,00
Solução Binária	Solução controle	0,66	0,60	0,63	17,11
	Solução tratada	0,69	0,73	0,71	6,60

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 9 – Mortalidade das larvas de *A. salina* após exposição a diferentes soluções compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes (soluções controle com concentração de 200 µg/mL) e após interação bioassortiva (soluções tratadas) com 5 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. niger*

Solução-teste	Tipo de solução	Mortalidade Réplica 1	Mortalidade Réplica 2	Média mortalidade
Controle solução salina		0	0	0
AB 161 em solução simples	Solução controle	0	0	0
	Solução tratada	0	0	0
PR MX-5B em solução simples	Solução controle	0	0	0
	Solução tratada	0	0	0
Solução Binária	Solução controle	0	1	1
	Solução tratada	1	0	1

Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando os resultados dos testes com *L. sativa* é possível verificar que para as três soluções testadas ocorreu redução da toxicidade após o tratamento bioassortivo. Esse resultado indica que a interação bioassortiva com o fungo *A. niger* foi eficiente para descolorir as soluções e reduzir a toxicidade do meio. O mesmo ocorreu para as larvas de *A. salina*, onde ocorreu ausência de toxicidade antes e após o tratamento de descoloração com a biomassa fúngica.

Manal et al. (2005) estudaram a descoloração do corante Crystal Violet em biorreatores utilizando a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. A descoloração das soluções foi analisada em três intervalos de tempo 0, 6 e 12 horas de tratamento, e paralelamente as análises de descoloração foram realizados testes de toxicidade com essas soluções utilizando larvas de *Artemia salina* como organismos-teste, para que fosse possível verificar a eficiência do tratamento. Ao final do processo de descoloração a solução inicial foi 100% descolorida e a taxa de mortalidade das larvas de *A. salina* reduziu de 45 (solução inicial de corante com concentração de 15 µg/mL) para 10%, indicando que a bactéria foi eficiente na descoloração e redução da toxicidade das soluções.

Em outro estudo Furlan et al. (2010) analisaram a descoloração de soluções compostas pelos corantes Black 5 e Orange 6 utilizando processo de coagulação e coagulação/adsorção, onde como biomassa adsorvente utilizada foi casca de coco e a coagulação das soluções foi realizada com cloreto de alumínio. Além da descoloração, foi analisada a toxicidade das soluções para *Artemia salina* e *Daphnia magna* antes dos tratamentos, após o tratamento de coagulação e por fim, após o tratamento combinado de coagulação/adsorção. Os resultados para *A. salina* mostraram que para a concentração inicial de corante, 100 mg/L, ocorreu mortalidade de 80% das larvas, e ao final dos tratamentos de coagulação e coagulação/adsorção a mortalidade foi reduzida para zero. Para a *D. magna* também ocorreu redução da toxicidade após os tratamentos de descoloração. Portanto, nesse estudo os processos de descoloração utilizados foram úteis para reduzir as concentrações e a toxicidade dos corantes em solução.

Garcia et al. (2009) analisaram o comportamento de degradação e mineralização de efluentes têxteis através de processos oxidativos avançados utilizando TiO_2 ou associação de $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2$, monitorando a toxicidade dos produtos formados, através do organismo-teste *Lactuca sativa*. Após 6 horas de tratamento com irradiação, os resultados demonstraram que a associação $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2$ é mais eficiente na mineralização dos resíduos e em relação a toxicidade essa associação apresenta maior toxicidade nas primeiras horas de irradiação e posterior redução da mesma ao final das 6 horas de tratamento.

5.8. Determinação do fungo com melhor capacidade de biodegradação das soluções

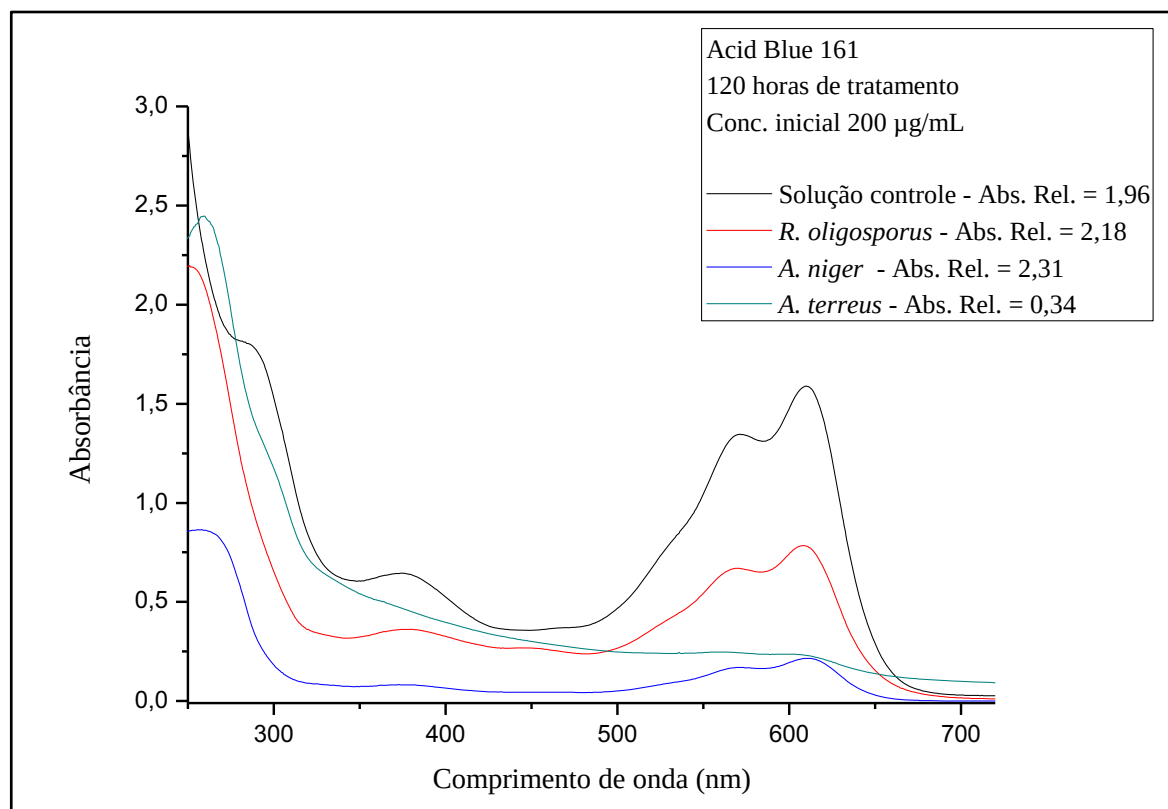
A realização desse teste teve como objetivo determinar qual dos fungos estudados possui maior capacidade de biodegradação das soluções simples e binária compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B. O tempo de tratamento com a biomassa peletizada de *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus* foi de 120 horas. Esse teste foi preliminar ao estudo de biodegradação, que será discutido no item 5.9.

Nessa etapa as soluções foram analisadas espectrofotometricamente na região UV-Vis, e a partir desses resultados foi possível determinar a porcentagem de descoloração e absorbâncias relativas após o tratamento microbiológico, além do fungo com maior capacidade de degradação das moléculas. As varreduras espectrais e absorbâncias relativas dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples após exposição as biomassas fúngicas

estão representadas nas Figuras 42 e 43, e na Figura 44 estão representadas as varreduras espectrais e absorbâncias relativas da solução binária.

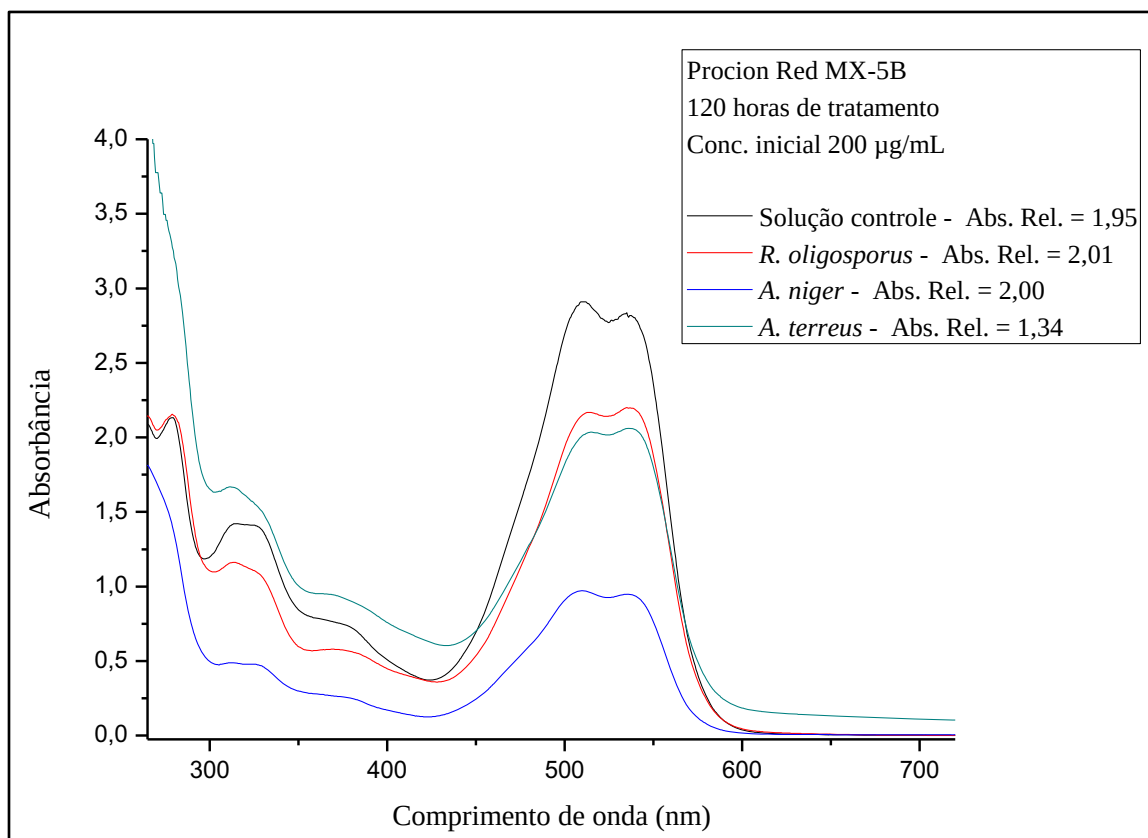
Observando as Figuras 45, 46 e 47 é possível visualizar a variação de tonalidade das soluções após interação com os micro-organismos. Na Figura 48 estão representados os valores de porcentagem de descoloração das soluções testadas.

Figura 42 – Espectros de absorção e absorbâncias relativas do corante AB 161 em solução simples antes e após 120 horas de interação com 3 mg/mL de biomassa peletizada dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*



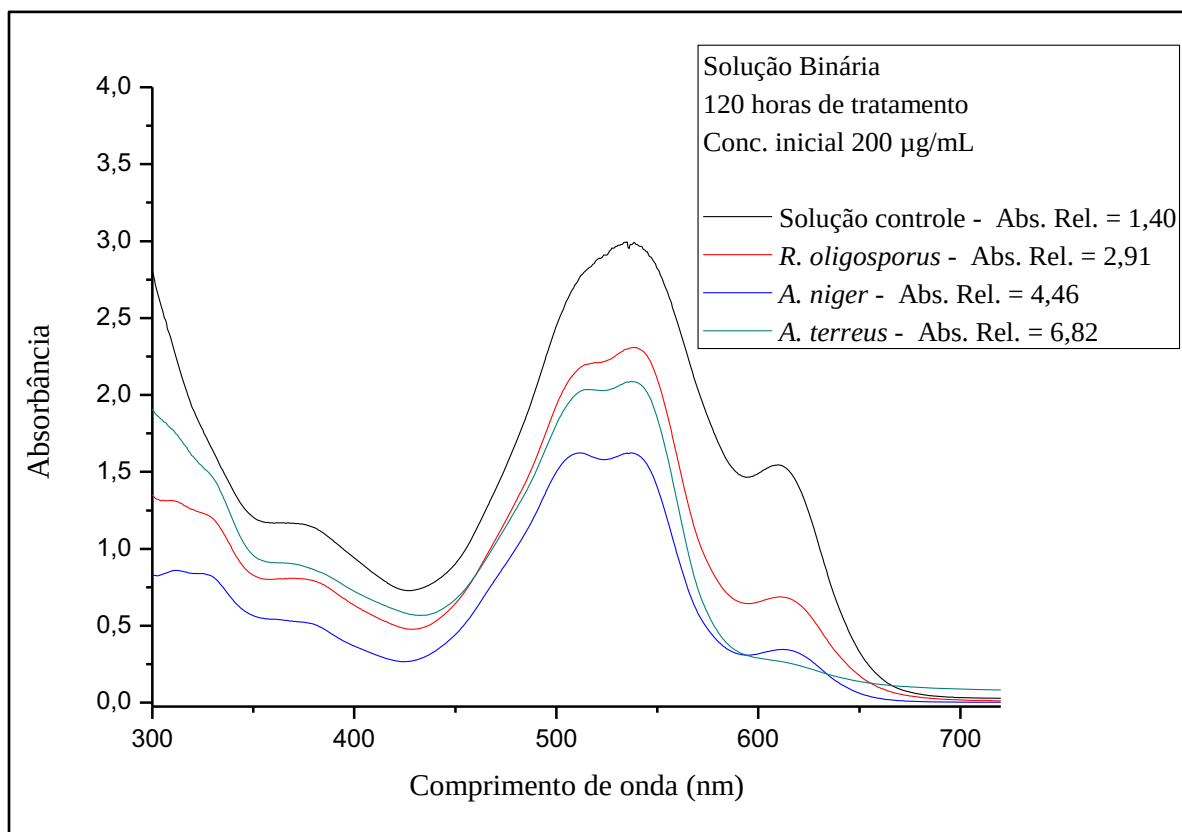
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 43 – Espectros de absorção e absorbâncias relativas do corante PR MX-5B em solução simples antes e após 120 horas de interação com 3 mg/mL de biomassa peletizada dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*



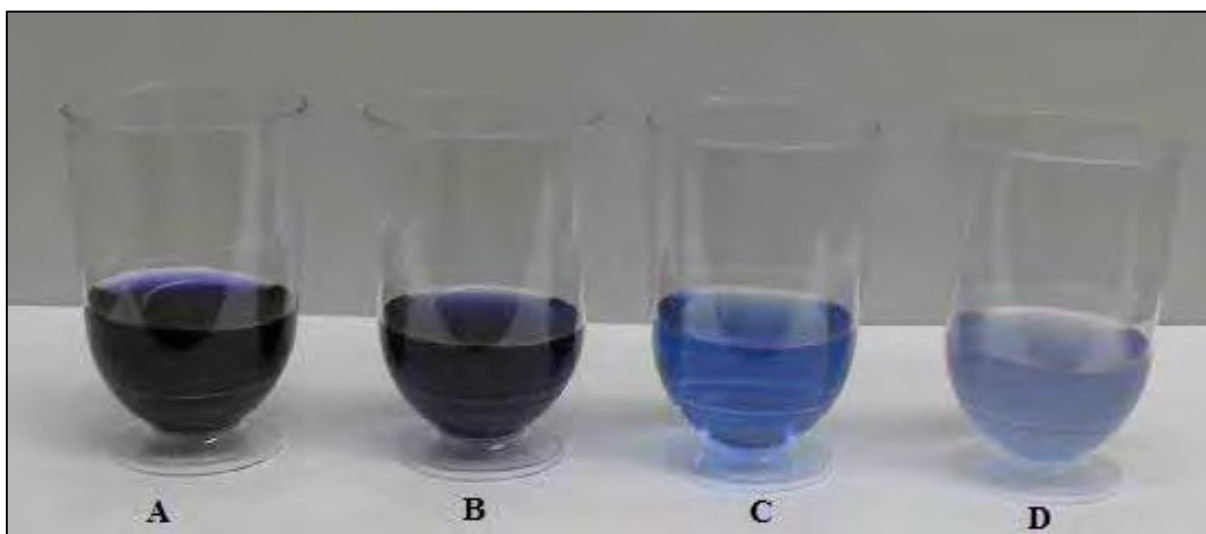
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 44 – Espectros de absorção e absorbâncias relativas dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária antes e após 120 horas de interação com 3 mg/mL de biomassa dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*



Fonte: Elaborado pela autora.

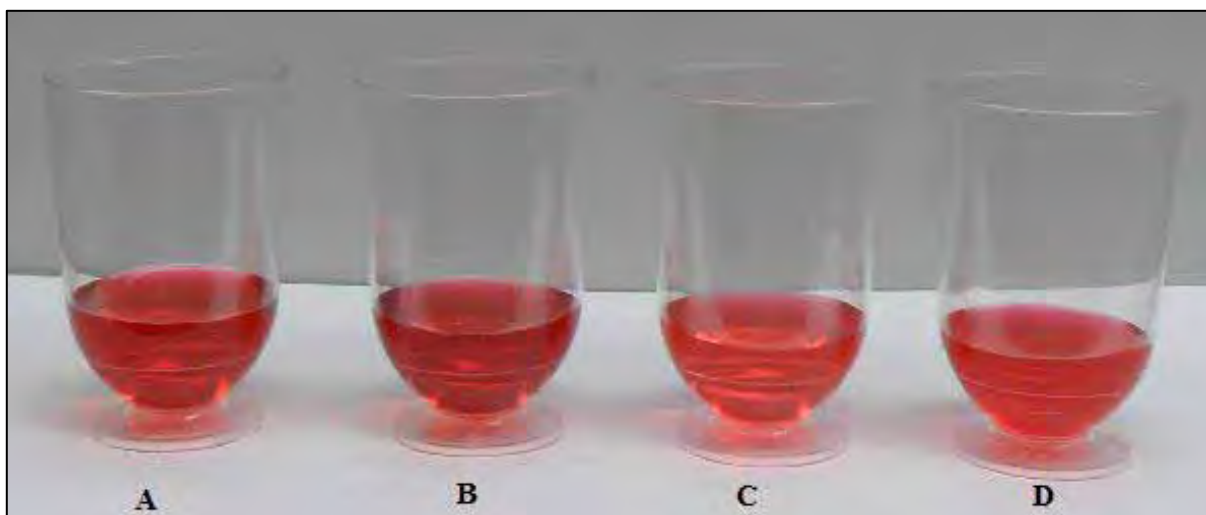
Figura 45 – Variação de concentração das soluções composta pelo corante AB 161 antes e após o tratamento microbiológico



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) solução simples com concentração inicial de 200 $\mu\text{g/mL}$, e após 120 horas de tratamento microbiológico com biomassa peletizada dos fungos (B) *R. oligosporus*, (C) *A. niger* e (D) *A. terreus*.

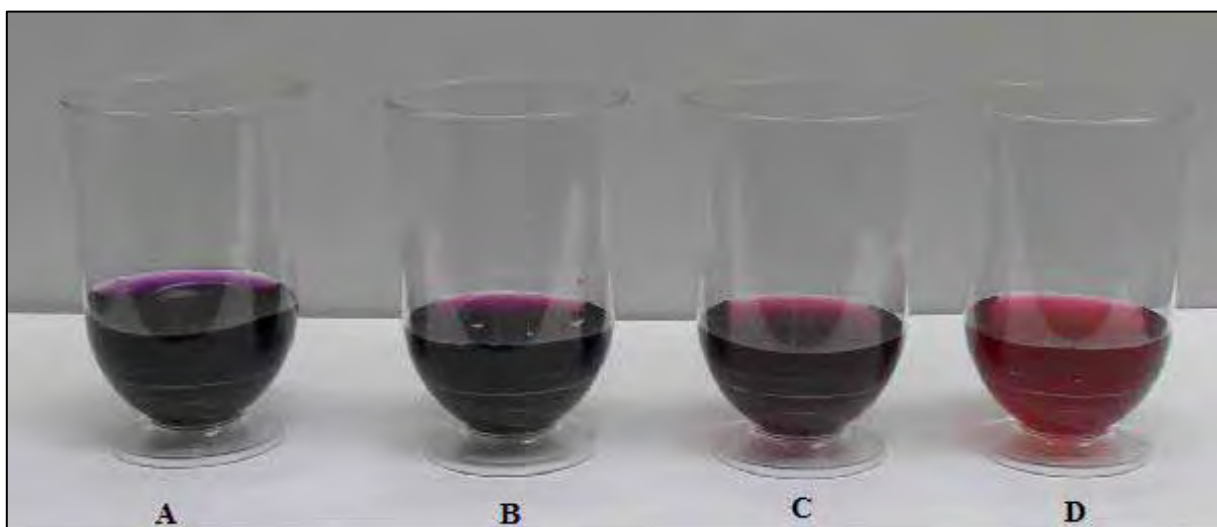
Figura 46 – Variação de concentração das soluções composta pelo corante PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) solução simples com concentração inicial de 200 $\mu\text{g/mL}$, e após 120 horas de tratamento microbiológico com biomassa peletizada dos fungos (B) *R. oligosporus*, (C) *A. niger* e (D) *A. terreus*.

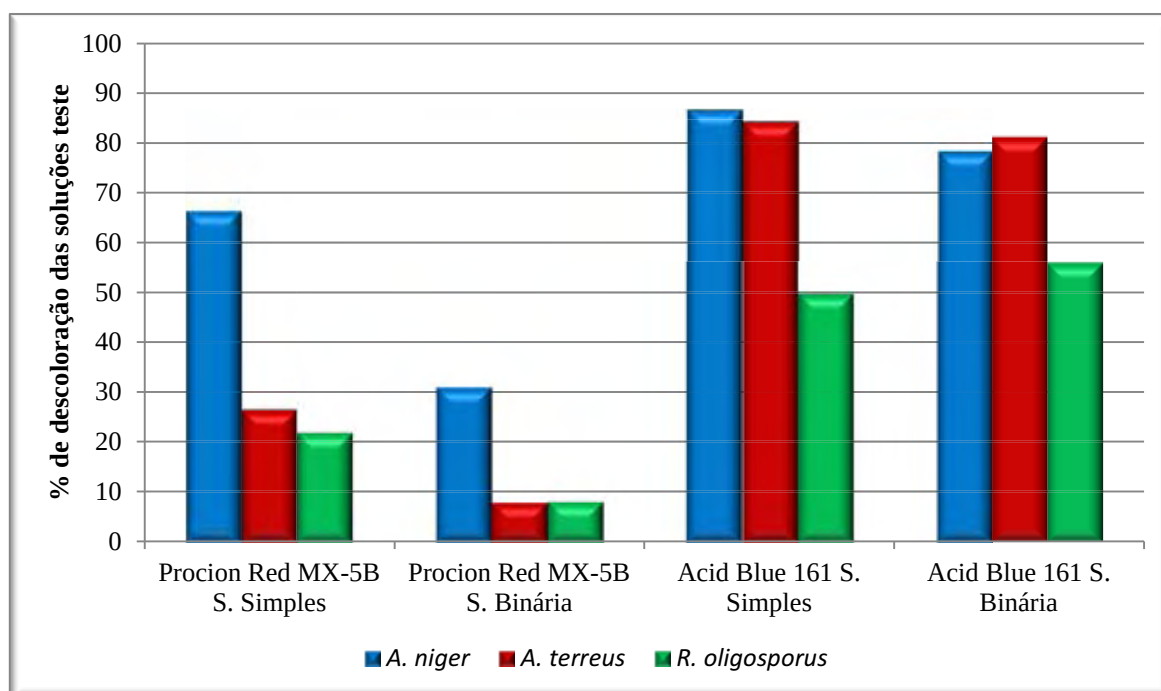
Figura 47 – Variação de concentração das soluções binárias compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) solução simples com concentração inicial de 200 µg/mL, e após 120 horas de tratamento microbiológico com biomassa peletizada dos fungos (B) *R. oligosporus*, (C) *A. niger* e (D) *A. terreus*.

Figura 48 – Porcentagem de descoloração dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária após 120 horas de tratamento microbiológico com os fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*



Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando as varreduras espectrais e as porcentagens de descoloração das soluções, foi possível concluir que os três fungos testados tiveram maior afinidade com o corante AB 161, assim como ocorreu no teste de biossortividade discutido no item 5.5. Em solução simples e solução binária a descoloração desse corante foi maior, chegando aproximadamente a 90% para os fungos *A. niger* e *A. terreus*. Enquanto a descoloração do corante PR MX-5B na presença de biomassa peletizada dos fungos apresentou baixa eficiência, com o valor máximo de remoção igual a 66% encontrado na presença do fungo *A. niger* em solução simples. Em solução binária o valor máximo de remoção foi de 32% realizado também por este mesmo fungo.

As análises dos espectros de absorção e das absorbâncias relativas das soluções mostraram que ocorreram alterações das varreduras espectrais de cada um dos corantes após interação com os micro-organismos, indicando possíveis modificações moleculares, ou seja, há indícios que ocorreu biodegradação das moléculas.

A análise dos resultados de uma forma geral mostrou que o fungo *A. niger* apresentou maior capacidade de descoloração das soluções, mas os valores das absorbâncias relativas não se alteraram de modo significativo, indicando que nesse tratamento predominou basicamente a remoção das moléculas por adsorção. Entretanto, foi o fungo *A. terreus* que mostrou maior capacidade de degradação das moléculas dos corantes, além de apresentar boa taxa de descoloração das soluções, principalmente para o corante AB 161. No tratamento com esse fungo as variações das absorbâncias relativas foram altas em função das grandes modificações que apresentaram os espectros de absorção dos corantes após o contato com a biomassa fúngica.

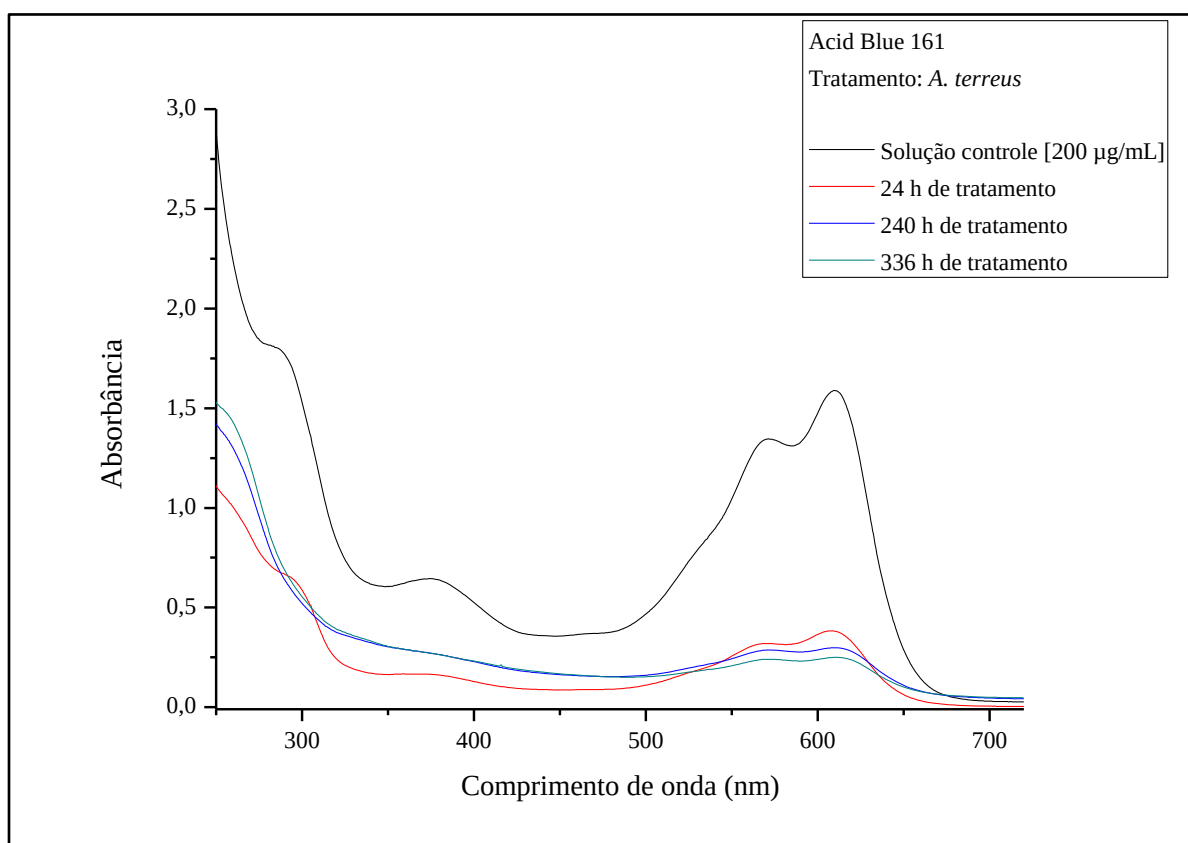
Portanto, devido a boa capacidade de degradação apresentada, o fungo *A. terreus* foi escolhido para a realização do teste final de biodegradação.

5.9. Teste de biodegradação

5.9.1. *Análise por espectrofotometria UV-Vis*

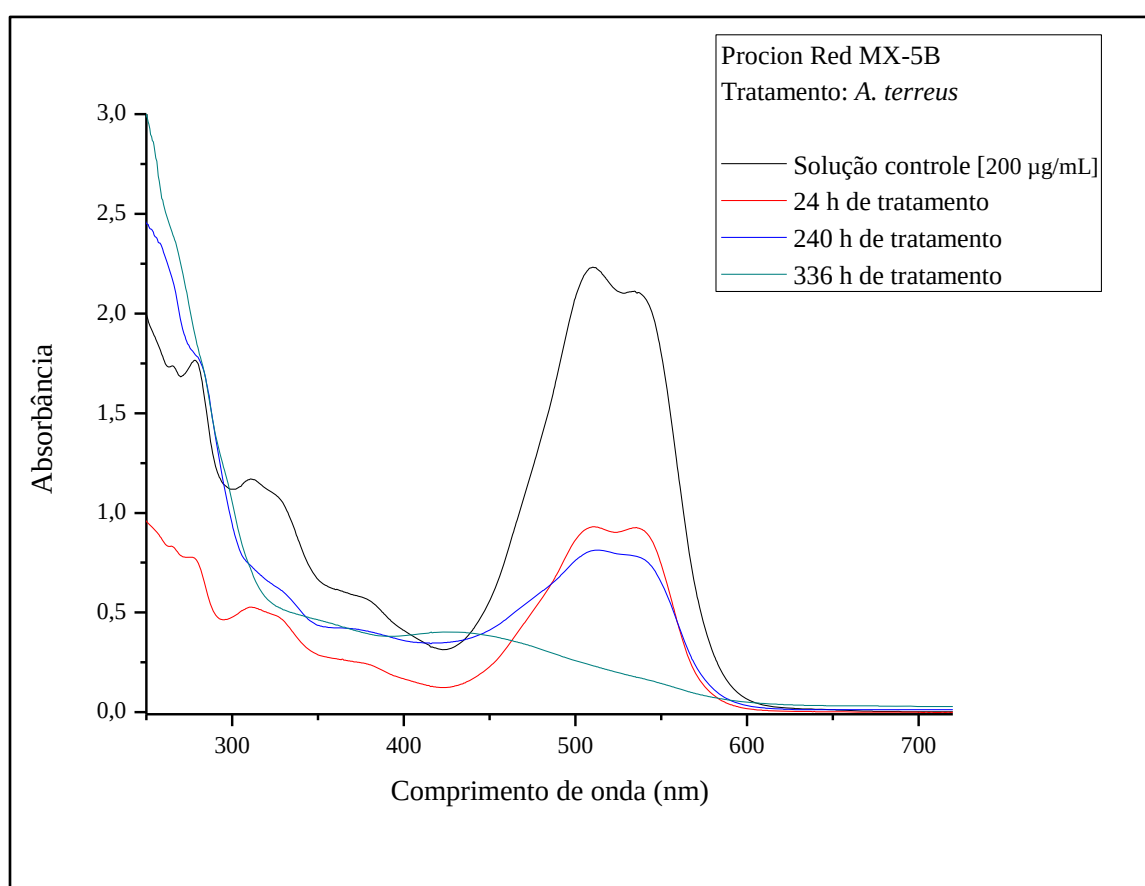
Os espectros de absorção UV-Vis forneceram algumas informações a respeito dos corantes AB 161 e PR MX-5B. Foram analisadas as soluções controle com concentração inicial de 200 µg/mL e com 24, 240 e 336 horas de tratamento microbiológico. A diminuição dos valores de absorbância nos seus respectivos picos de ondas máximos no decorrer dos tratamentos, indicou que o fungo *A. terreus* foi eficiente na remoção dos corantes, e as alterações espectrais indicaram indícios de degradações moleculares que foram comprovadas com a análise de FTIR que será discutida no item 5.9.2. Nas Figuras 49, 50 e 51 estão representados os espectros das soluções controle e biotratadas.

Figura 49 – Espectros de absorção UV-Vis do corante AB 161 em solução simples, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*



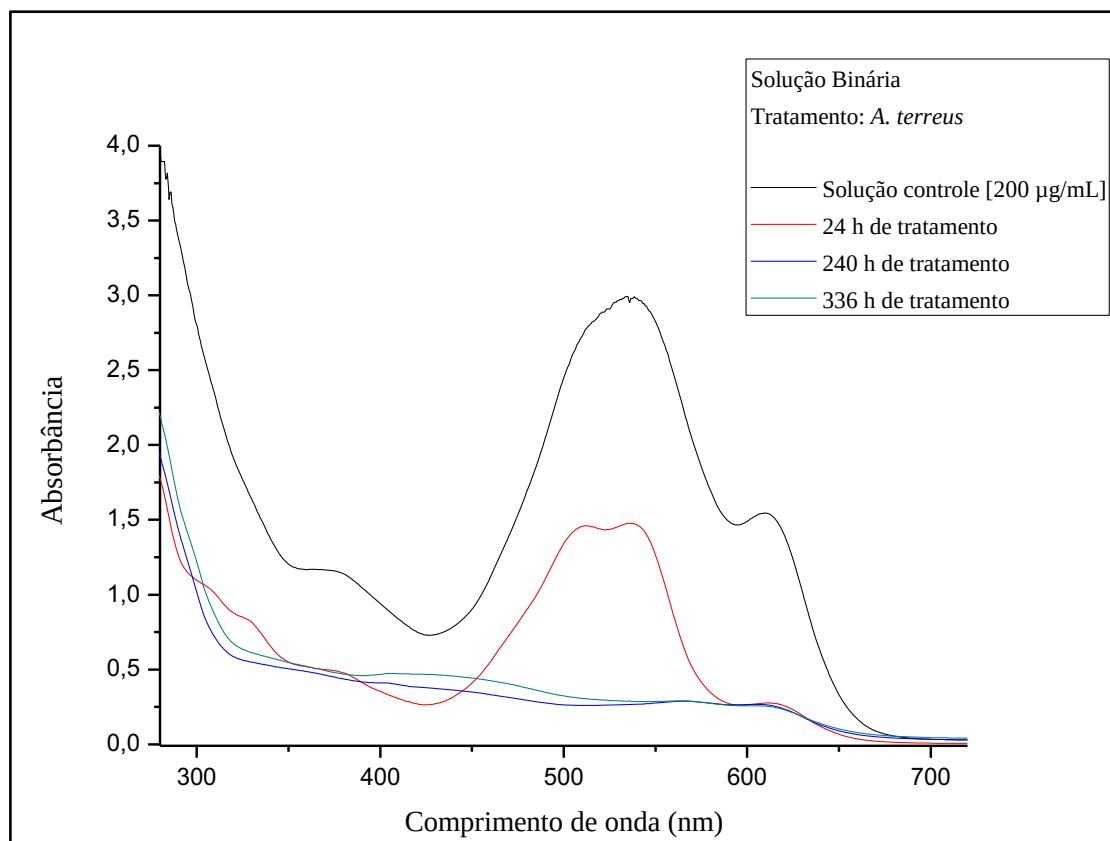
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 50 – Espectros de absorção UV-Vis do corante PR MX-5B em solução simples, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 51 – Espectros de absorção UV-Vis dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*



Fonte: Elaborado pela autora.

Os valores das concentrações remanescentes, porcentagem de descoloração e absorbância relativa dos corantes em solução simples e solução binária estão representados nas Tabelas 10, 11 e 12.

Tabela 10 – Concentração remanescente, % de descoloração e absorbância relativa do corante AB 161 em solução simples após tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	Corante remanescente (µg/mL)	% de descoloração	Absorbância Relativa (602,5nm/323nm)
0	200	0,0	1,96
24	49,4	75,3	1,69
240	38,7	80,7	0,79
336	32,4	84,0	0,91

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 11 – Concentração remanescente, % de descoloração e absorbância relativa do corante PR MX-5B em solução simples após tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	Corante remanescente (µg/mL)	% de descoloração	Absorbância Relativa (537nm/327nm)
0	200,0	0,0	1,95
24	78,7	60,6	1,93
240	64,2	68,0	1,25
336	4,0	98,0	0,33

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 12 – Concentração remanescente, % de descoloração total das soluções e absorbância relativa dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária após tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	Corantes	Corante remanescente (µg/mL)	% de descoloração total	Absorbância Relativa (602,5nm/537nm)
0	AB 161	200,0	0,0	1,4
	PR MX-5B	200,0		
24	AB 161	30,5	62,3	5,04
	PR MX-5B	120,5		
240	AB 161	30,6	92,4	0,5
	PR MX-5B	0,0		
336	AB 161	29,4	92,7	0,6
	PR MX-5B	0,0		

Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando as Tabelas 10 e 11 foi possível verificar que a porcentagem de descoloração dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples foi aumentando proporcionalmente ao tempo de contato com a biomassa peletizada do fungo *A. terreus*. Ao final das 336 horas de tratamento o fungo apresentou maior eficiência de descoloração das soluções composta pelo corante PR MX-5B, chegando a remover praticamente todo o corante do meio, 98% de descoloração. Enquanto que para o corante AB 161 a descoloração foi de 84%.

Nessa etapa o processo pelo qual se deu a remoção da cor das soluções foi determinado pelo cálculo das absorvâncias relativas que de acordo com Glen e Gold (1983) é predominante o processo bioassortivo se esses valores permanecerem constantes em relação à solução controle, e há indícios de biodegradação das moléculas quando esses valores apresentam variação significativa.

Para o corante AB 161 (Tabela 10) já nas primeiras horas de tratamento foi possível verificar variação da absorvância relativa, indicando que logo no início do tratamento o fungo

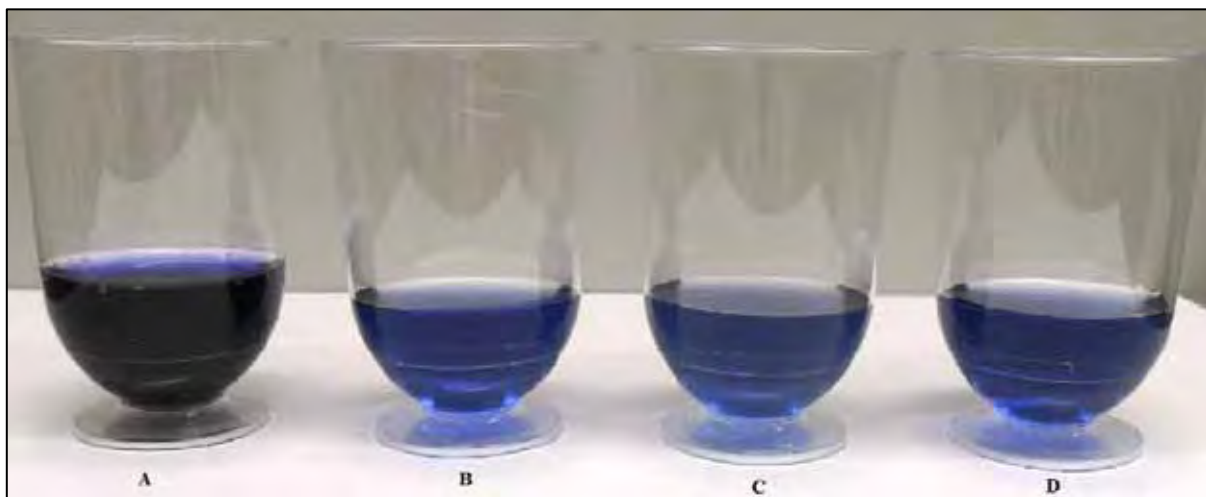
apresentou boa capacidade de causar danos estruturais as moléculas desse corante. Essa variação foi ainda maior para os tratamentos de 240 e 336 horas, indicando intensificação do processo de biodegradação no decorrer do tratamento microbiológico.

O corante PR MX-5B começou a apresentar variação da absorbância relativa a partir de 240 horas de tratamento. Mas com as análises de FTIR foi possível verificar que nas primeiras horas de tratamento começaram a aparecer modificações nos espectros indicando alterações estruturais nas moléculas do corante.

Analizando a Tabela 12, é possível verificar que em solução binária o fungo *A. terreus* apresentou maior afinidade pelo corante PR MX-5B, assim como ocorreu com os tratamentos em solução simples. A partir de 240 horas de tratamento 100% das moléculas desse corante tinham sido removidas da solução. A descoloração do corante AB 161 manteve-se constante em 84% até o final do tratamento.

As Figuras 52, 53 e 54 correspondem as soluções simples e binária compostas pelos corantes estudados antes e após o tratamento microbiológico.

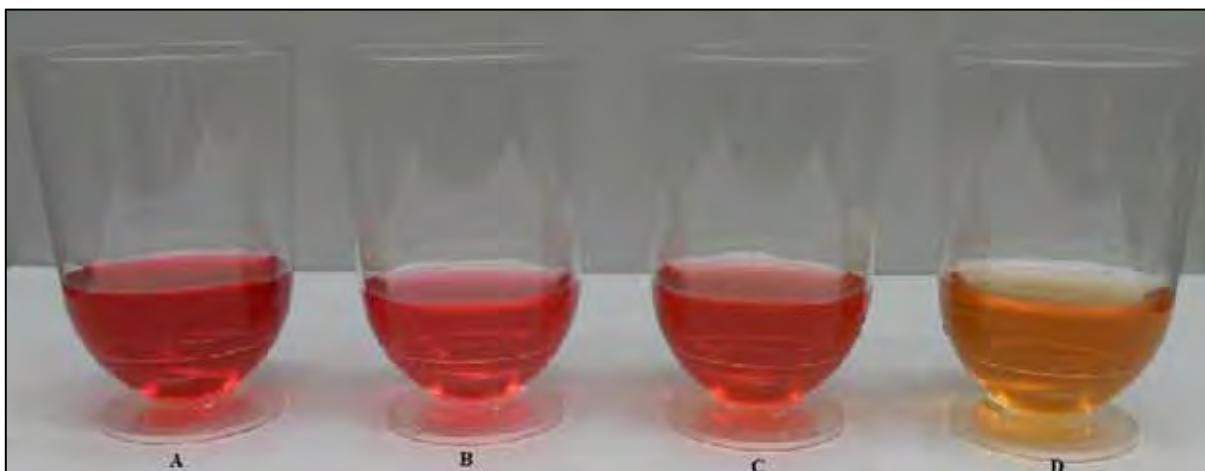
Figura 52 – Variação de concentração das soluções simples compostas pelo corante AB 161 antes e após o tratamento microbiológico



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) solução simples com concentração inicial de 200 µg/mL, e após (B) 24 horas, (C) 240 horas e (D) 336 horas de contato com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*.

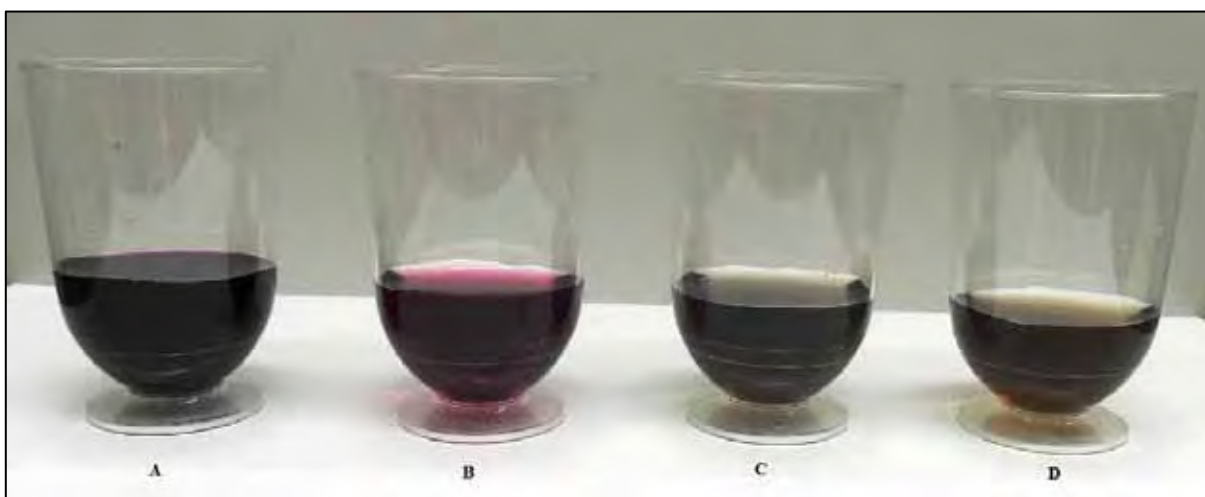
Figura 53 – Variação de concentração das soluções simples compostas pelo corante PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) solução simples com concentração inicial de 200 $\mu\text{g/mL}$, e após (B) 24 horas, (C) 240 horas e (D) 336 horas de contato com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*.

Figura 54 – Variação de concentração das soluções binárias compostas pelos corantes AB 161 e PR MX-5B antes e após o tratamento microbiológico



Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: (A) solução simples com concentração inicial de 200 $\mu\text{g/mL}$, e após (B) 24 horas, (C) 240 horas e (D) 336 horas de contato com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*.

5.9.2. Análises de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia com Transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica que possui vantagens como facilidade de preparação e necessidade de uma pequena quantidade de amostra, relativa rapidez na obtenção dos dados, além de ser não destrutiva (BOULET et al., 2007). E têm se destacado como método de análise em estudos de biodegradação/biossorção de corantes (SO et al., 2002; JADHAV et al. 2008; FANCHIANG; TSENG, 2009; FRANCISCON et al., 2009; AYED et al., 2010; BINUPRIYA et al., 2010; DEVEOGLU et al., 2012).

O espectro de infravermelho é característico da molécula como um todo, mas certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença destas bandas características de grupos que permitem a obtenção de informações estruturais dos corantes. Essas informações são obtidas através das análises espectrais (SILVERSTEIN et al., 1994).

A energia infravermelha corresponde à região do espectro situada na faixa em números de ondas entre 14290 e 200 cm^{-1} , sendo a região situada entre 4000 – 400 cm^{-1} a mais importante para a análise de compostos orgânicos (SILVERSTEIN et al., 1994).

Para fins de análise o espectro no infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) pode ser dividido em três regiões. A região 1 compreendida entre 4000 a 1300 cm^{-1} , sendo denominada região de grupos funcionais, onde geralmente aparecem poucas bandas de absorção, as quais se referem aos estiramentos de ligações dos principais grupos funcionais como OH, NH e C=O. A região 2, compreendida entre 1300 e 700 cm^{-1} é muito complexa, onde aparecem muitas bandas e é chamada de impressão digital, uma vez que ela serve para confirmar a identidade de determinado composto, pois mesmo isômeros que apresentam espectros idênticos nas outras regiões apresentarão diferença nessa mesma faixa de número de ondas. E por último a região 3, de 700 a 400 cm^{-1} que geralmente apresenta bandas fortes nos casos de compostos aromáticos, heteroaromáticos e alquenos (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007).

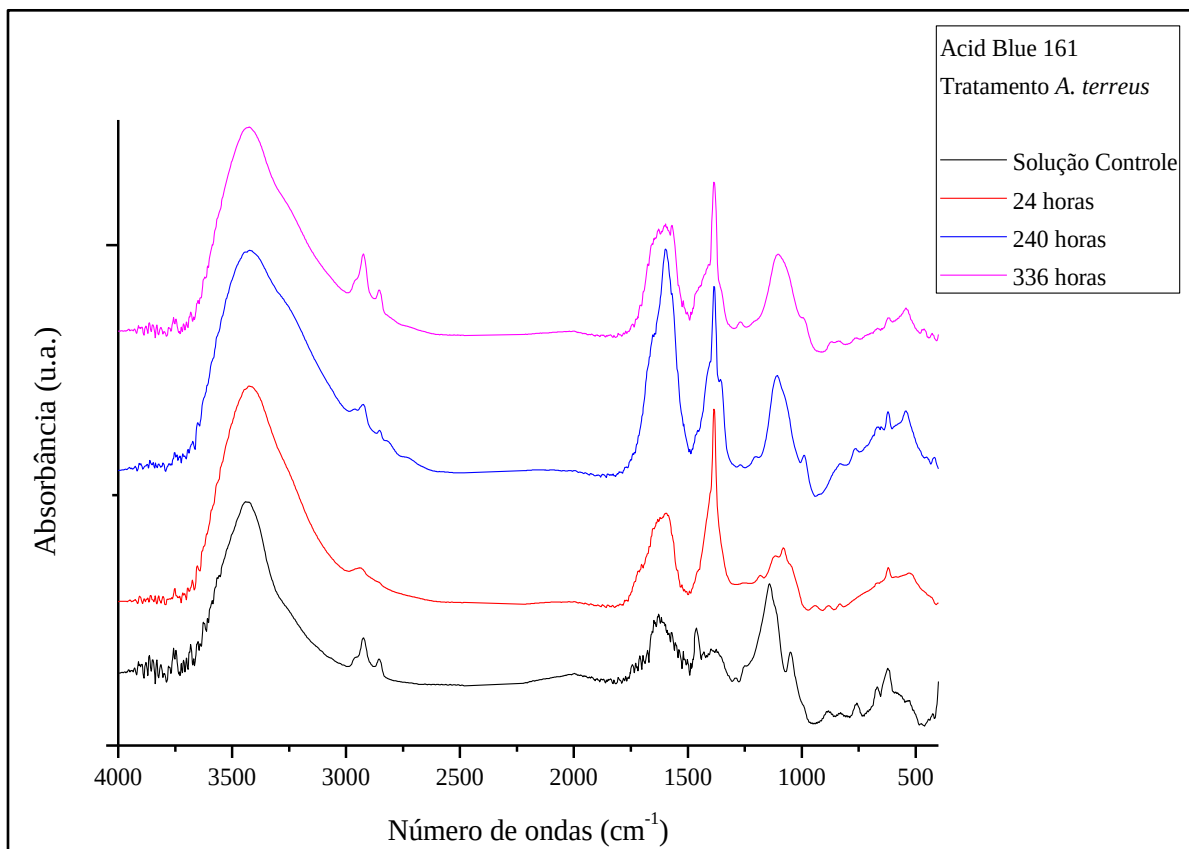
De um modo geral os espectros de FTIR mostram as estruturas dos corantes com maior número de detalhes, e quando comparamos os espectros de absorção das soluções controle e biologicamente tratadas dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária, são nítidas as mudanças estruturais ocorridas após o contato com a biomassa peletizada do fungo *A. terreus*. Analisando esses diferentes espectros foi possível identificar

as regiões espectrais que sofreram alterações após o tratamento de biodegradação. A partir desses dados foi realizada uma estimativa de quais compostos foram formados com a degradação das moléculas dos corantes, e na tentativa de determinar quais foram os metabólitos formados, algumas dessas modificações mais pronunciadas foram destacadas e suas bandas apresentadas a seguir:

Acid Blue 161

A Figura 55 está representando os espectros de FTIR da solução controle do corante AB 161, em pH 4 e concentração de 200 µg/mL, e das soluções biotratadas com biomassa peletizada do fungo *A. terreus* por 24, 240 e 336 horas. As leituras das soluções foram realizadas na forma de pastilhas de KBr, na proporção de 1 mg de amostra (solução simples antes e após os tratamentos em peso seco) para 149 mg de KBr.

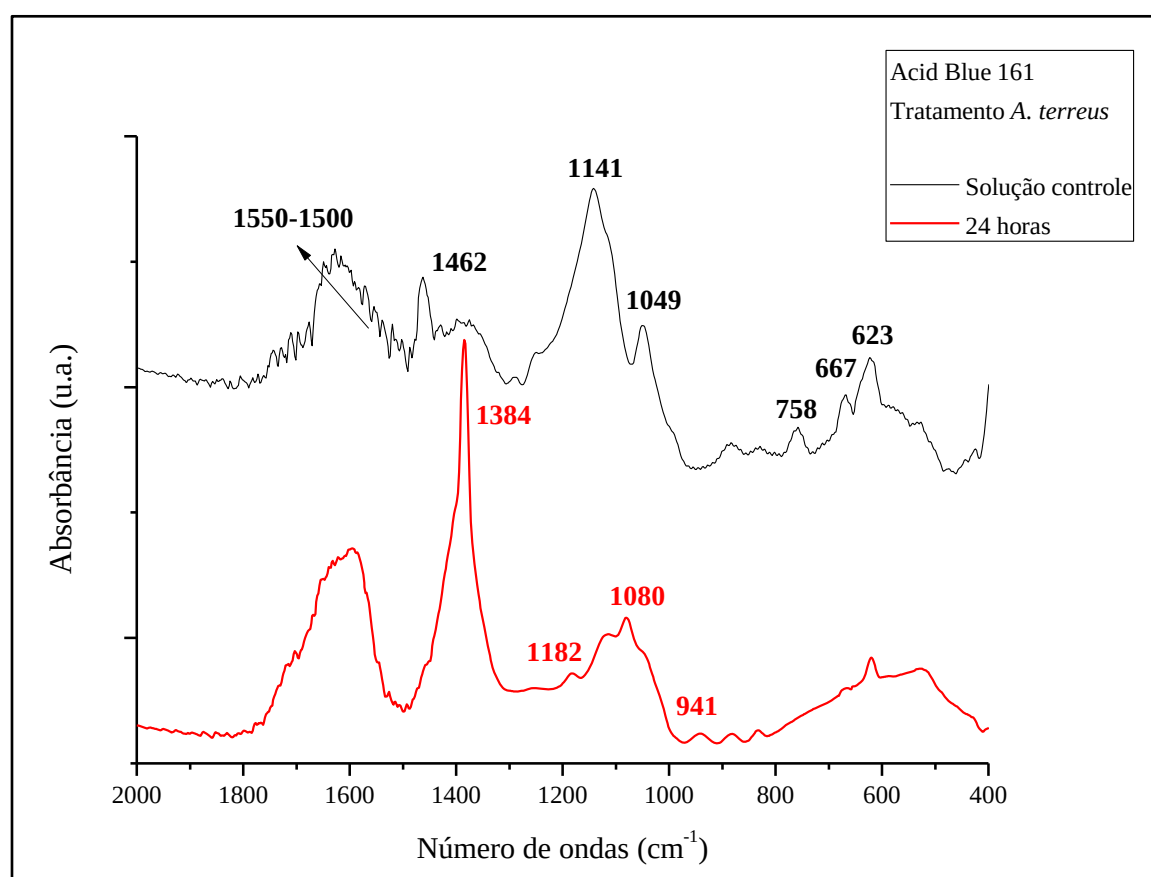
Figura 55 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratadas do corante AB 161, em diferentes intervalos de tempo, pelo fungo *A. terreus* na forma peletizada



Fonte: Elaborado pela autora.

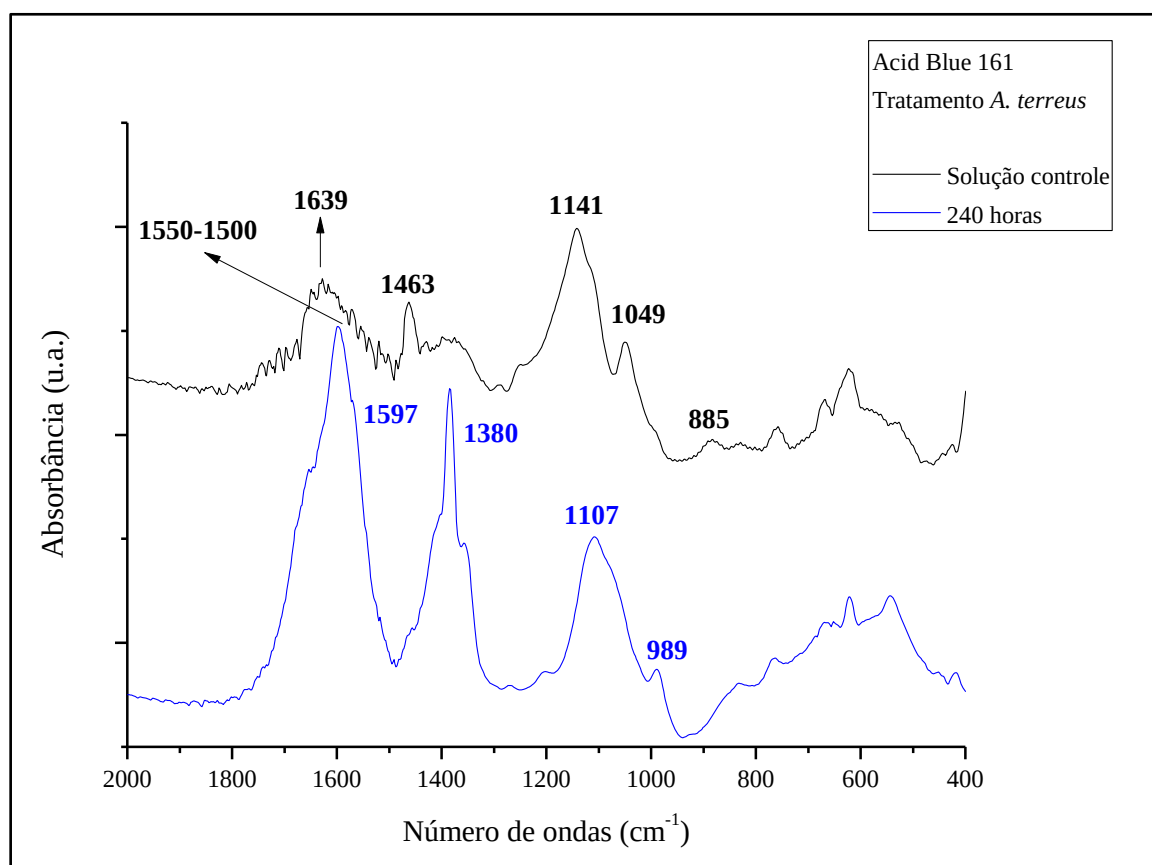
Observando os espectros de FTIR presentes na Figura 55, foi possível notar significativas modificações estruturais na molécula do corante AB 161 no decorrer do tratamento microbiológico, principalmente na região espectral compreendida entre 2000 - 400 cm^{-1} . Para estudar de forma mais detalhada essas modificações as Figuras 56, 57 e 58, correspondem aos espectros de FTIR dos tratamentos de 24, 240 e 336 horas, nessa região. As bandas em destaque nos espectros FTIR da solução controle e dos tratamentos são as mais representativas e as que sofreram maiores alterações.

Figura 56 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 24 horas do corante AB 161



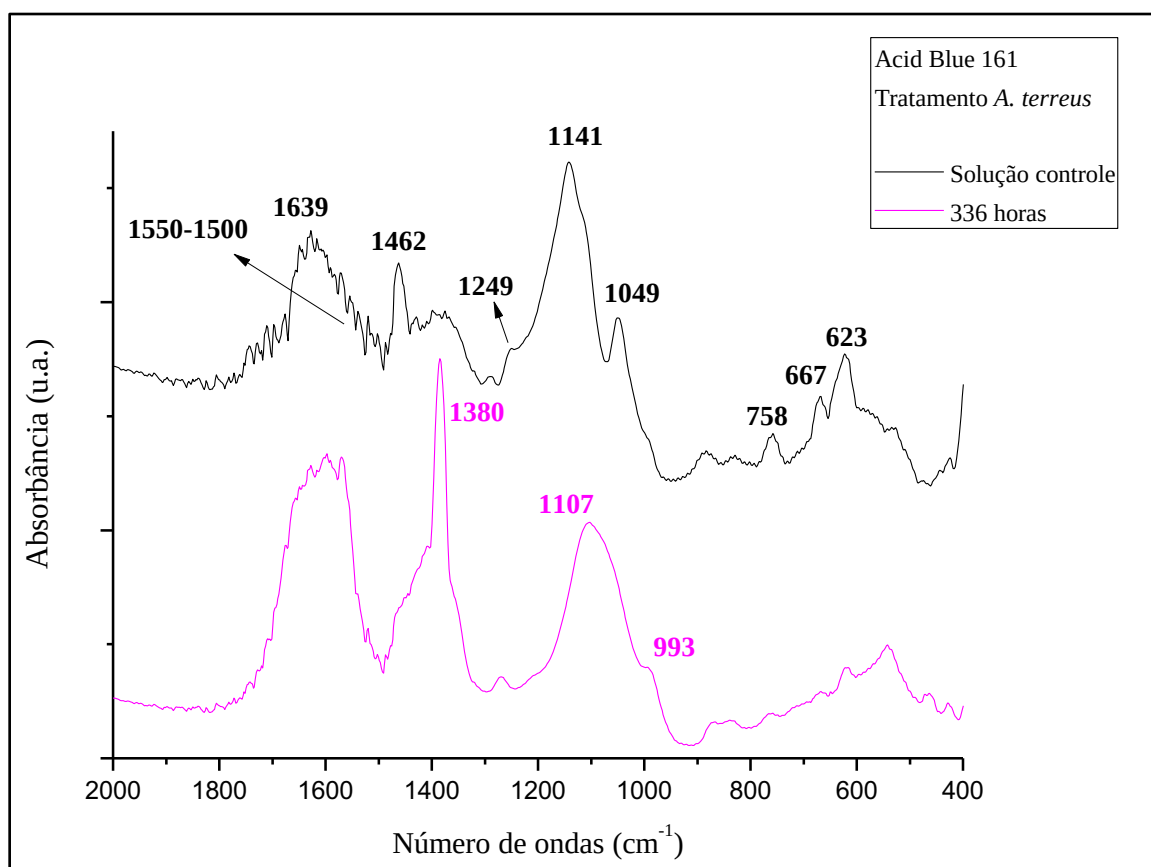
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 57 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 240 horas do corante AB 161



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 58 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 336 horas do corante AB 161



Fonte: Elaborado pela autora.

Para uma melhor análise dos resultados na Tabela 13 estão relacionadas às principais bandas da solução controle que sofreram alterações no decorrer do tratamento microbiológico.

Tabela 13 – Bandas presentes na solução controle do corante AB 161

Bandas originais da solução controle	Estruturas correspondentes
3431 cm ⁻¹	Presença de naftol, estiramento da ligação O-H (SOARES, 1998; JOHNSON et al., 2003), amins primárias e secundárias Estiramento da ligação N-H (ARJUNAN et al., 2004; FRANCISCON et al., 2009; AYED et al., 2010; TELKE et al., 2010)
2926 cm ⁻¹	Região característica de anéis aromáticos (MANE et al.,

	2008), aminas aromáticas primárias, deformações angulares de N-H (SILVERSTEIN et al., 1994; AYED et al., 2010)
1639, 1550-1500, 1463 e 1462 cm^{-1}	Região característica de agrupamentos azo (-N=N-) (DYER, 1969; SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007; GUP et al. 2007; KALME et al., 2007; PACHHADE et al., 2009); Deformação angular de NH_2 (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007); vibrações da ligação C=N (WHARFE et al., 2010)
1141 cm^{-1}	Região característica de compostos sulfônicos (-S=O) (DYER, 1969)
1049 cm^{-1}	Deformação angular de -CH; grupos fenólicos e grupos sulfônicos (SILVERSTEIN et al., 1994; OLUKANNI et al., 2010)
885 cm^{-1}	Deformação da ligação -CH de anel aromático (BARBOSA, 2007; POLUNIN et al., 2008; EL-KABANY et al., 2011)
758 cm^{-1}	Presença de grupos benzênicos (DYER, 1969; SILVERSTEIN et al., 1994); deformação angular de =C-H de anéis aromáticos (SILVERSTEIN et al., 1994)
667 cm^{-1}	Vibração de C=C de anel aromático (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007); vibração da ligação -C-N (TELKE et al., 2010)
623 cm^{-1}	Deformação angular de -OH (BARBOSA, 2007); vibração de grupos sulfônicos (IYIM et al., 2008)

Fonte: Elaborado pela autora.

Analizando os espectros de FTIR de 24, 240 e 336 horas de tratamento, foi possível verificar alterações significativas na região espectral de 1640 a 1463 cm^{-1} , uma região característica da presença de agrupamentos azo e aminos. O aumento de intensidade das bandas nessa região indica que possivelmente ocorreu quebra das ligações azóicas promovida

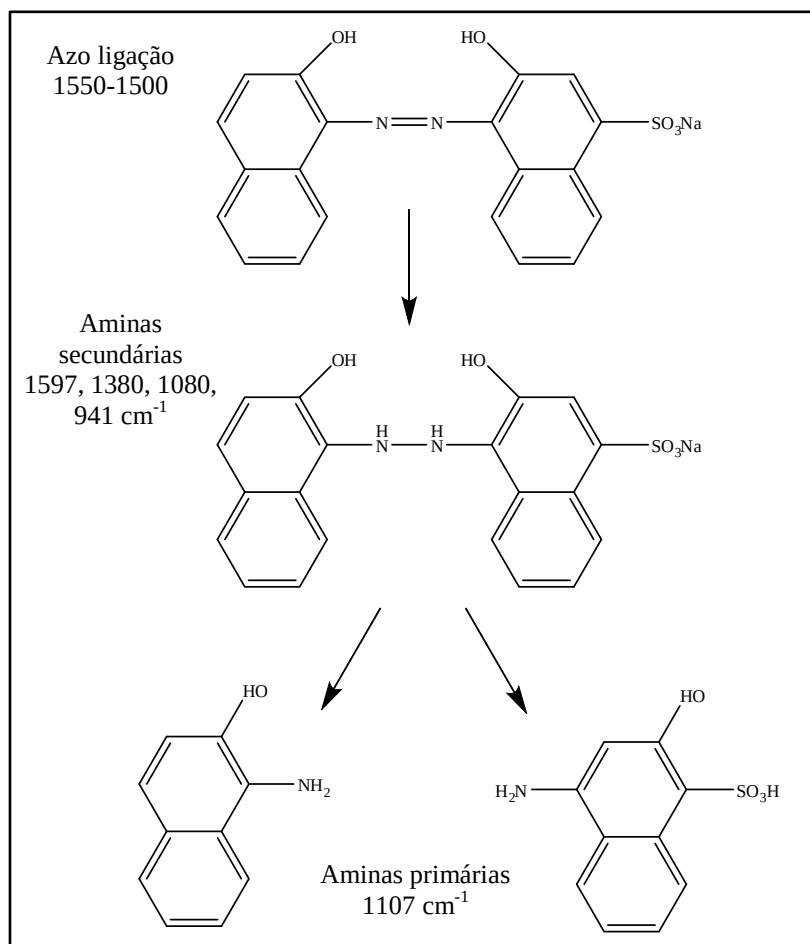
pela ação de enzimas azoredutases, liberando como subprodutos moléculas de aminas (JADHAV et al., 2008; OLUKANNI et al., 2010). A presença de aminas também pode ser observada já nas primeiras horas de tratamento, onde ocorreu aumento da banda na região de 1380 cm^{-1} , que é característica da presença de aminas secundárias. Uma das possibilidades é que a formação dessas aminas tenha ocorrido a partir da quebra das ligações dos naftóis presente na molécula do corante (BARBOSA, 2007).

As bandas em 1141 e 1049 cm^{-1} são características de grupos sulfonados e vibrações das ligações C-OH presente no grupo naftol. Em todos os tratamentos ocorreu redução da intensidade dessas bandas, indicando possivelmente quebra dessas ligações durante o processo de biodegradação das moléculas (JADHAV et al., 2008; DHANVE et al., 2009; DEVEOGLU et al., 2012).

No tratamento de 24 horas o espectro de FTIR apresentou o surgimento de duas bandas, 1080 e 941 cm^{-1} correspondente a vibração de ligações C-N e N-H de aminas secundárias (BARBOSA, 2007; AYED et al., 2010). Para o tratamento de 240 horas ocorreu intensificação das regiões em 1597 e 1107 cm^{-1} correspondentes a presença de C=C de anéis e aminas primárias respectivamente (SILVERSTEIN et al., 1994; ARJUNAN et al., 2004; FANCHIANG; TSENG, 2009). Para o tratamento de 336 horas, assim como o tratamento de 240 horas ocorreu intensificação da banda em 1107 cm^{-1} (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007; AYED et al. 2010; OLUKANNI et al., 2010).

A análise de todos os espectros de FTIR do corante AB 161, antes e após o tratamento com o fungo *A. terreus*, permitiu estabelecer uma provável via de degradação da molécula do corante. Na Figura 59 estão representados a estrutura molecular inicial do corante e os prováveis metabólitos formados após o processo biodegradativo.

Figura 59 – Possível rota de degradação do corante AB 161 após tratamento com o fungo *A. terreus*

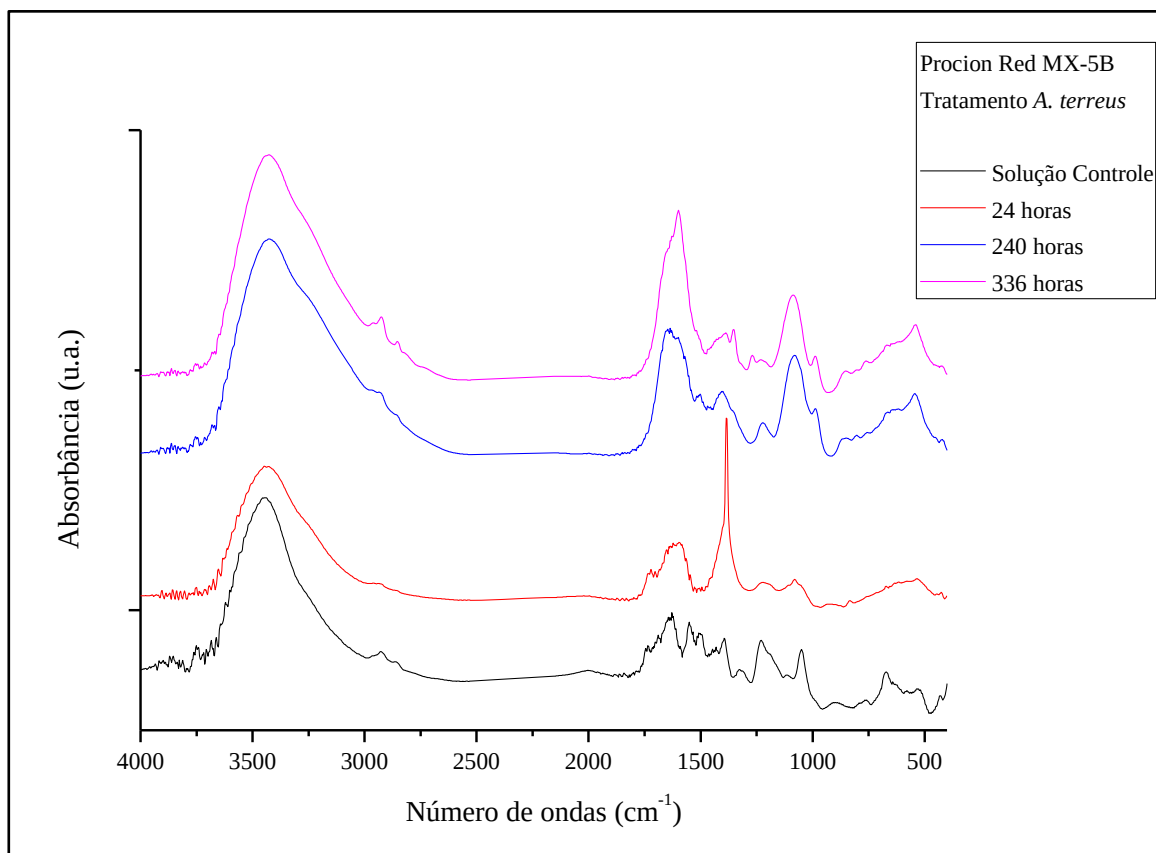


Fonte: Elaborado pela autora.

Procion Red MX-5B

A Figura 60 representa os espectros de FTIR da solução controle do corante PR MX-5B, em pH 4 e concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$, e das soluções biotratadas com biomassa peletizada do fungo *A. terreus* por 24, 240 e 336 horas. As leituras das soluções foram realizadas na forma de pastilhas de KBr, na proporção de 1 mg de amostra (solução simples antes e após os tratamentos em peso seco) para 149 mg de KBr.

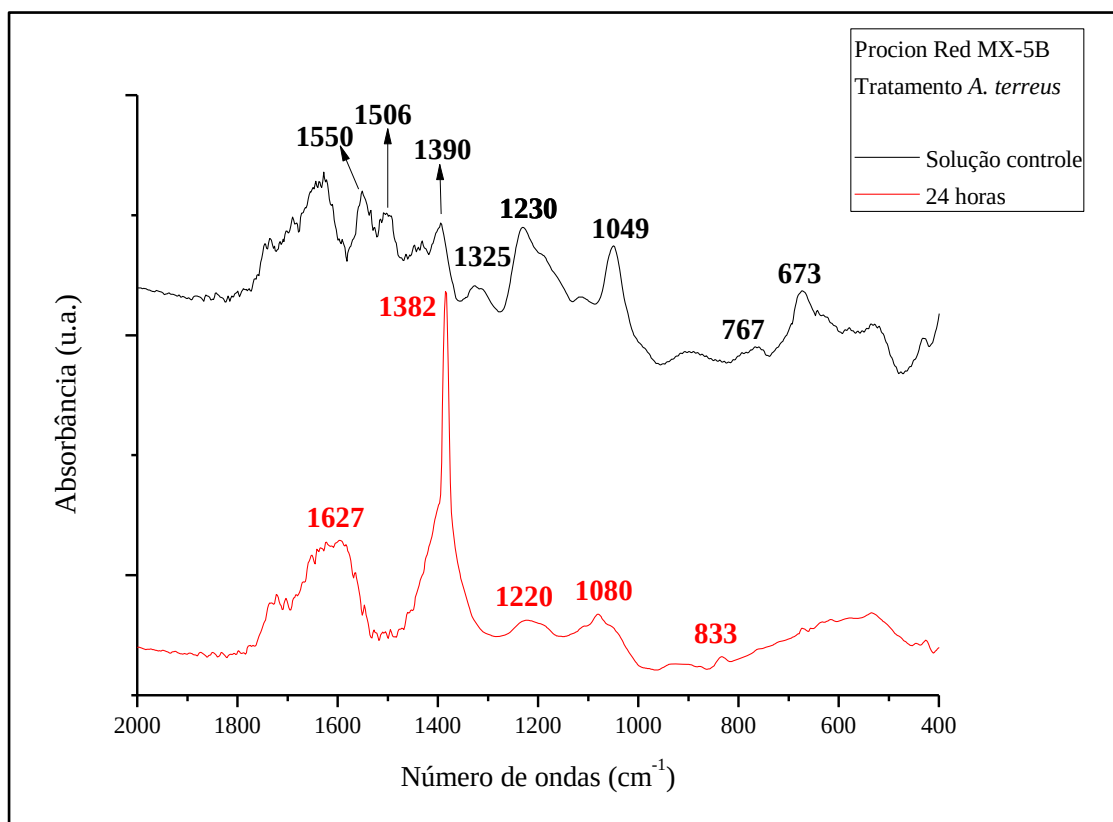
Figura 60 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratadas do corante PR MX-5B, em diferentes intervalos de tempo, pelo fungo *A. terreus* na forma peletizada



Fonte: Elaborado pela autora.

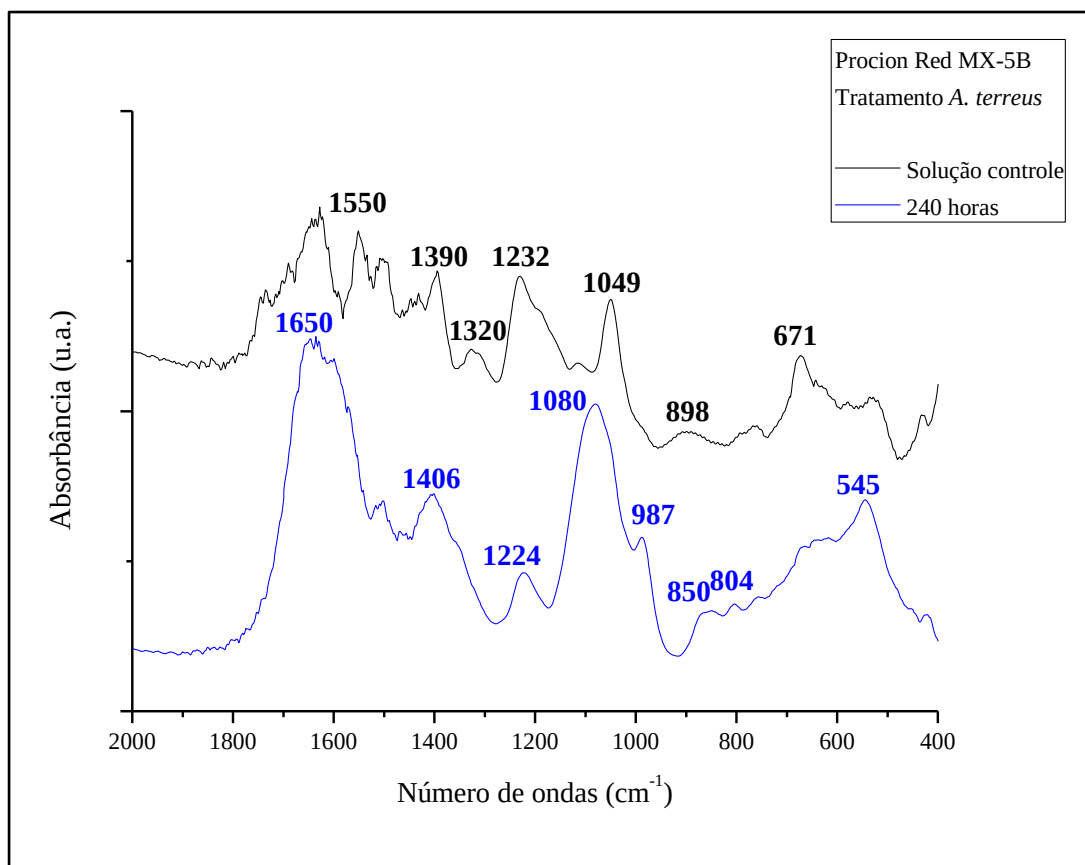
Observando os espectros de FTIR presentes na Figura 60, é possível verificar significativas modificações estruturais na molécula do corante PR MX-5B no decorrer do tratamento com o fungo *A. terreus*, principalmente na região espectral compreendida entre 2000 – 400 cm⁻¹. E assim como nos tratamentos do corante AB 161, para estudar de forma mais detalhada essas modificações as Figuras 61, 62 e 63, correspondem aos espectros de FTIR dos tratamentos de 24, 240 e 336 horas, nessa região. As bandas em destaque nos espectros FTIR da solução controle e dos tratamentos são as mais representativas e as que sofreram maiores alterações.

Figura 61 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 24 horas do corante PR MX-5B



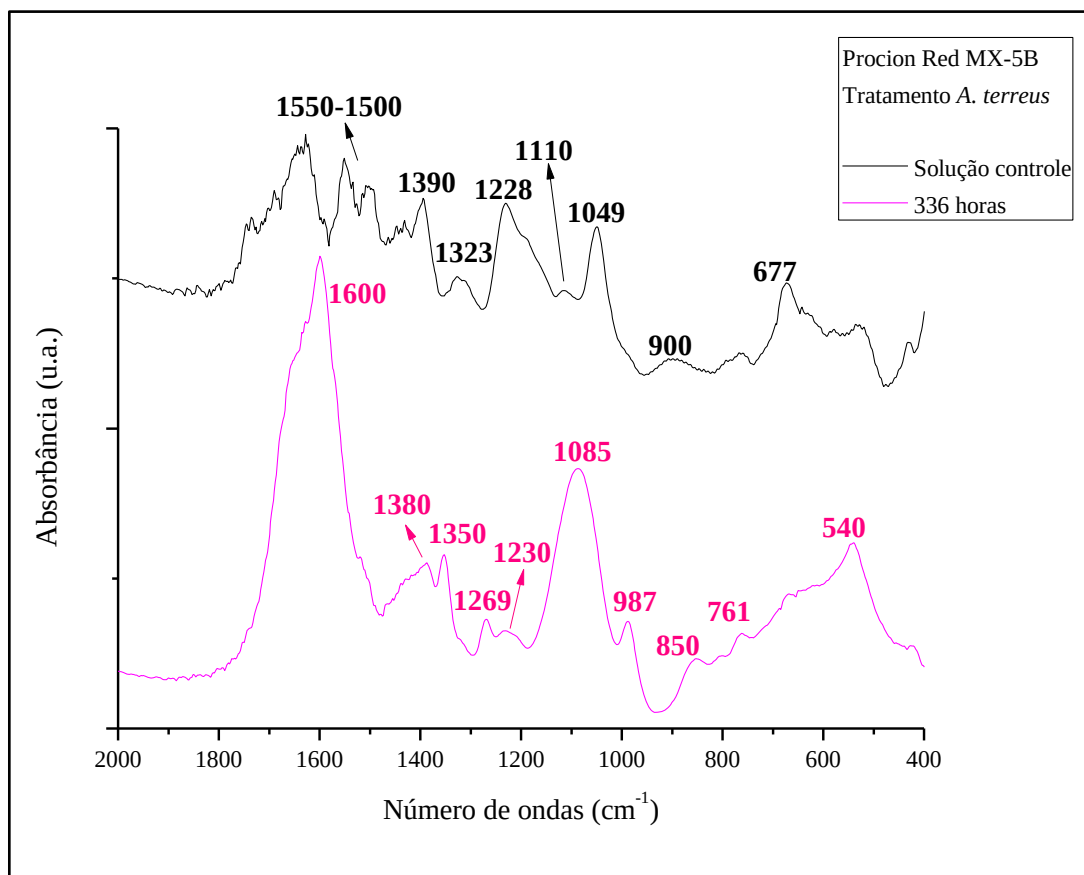
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 62 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 240 horas do corante PR MX-5B



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 63 – Espectros de FTIR das soluções controle e biotratada por 336 horas do corante PR MX-5B



Fonte: Elaborado pela autora.

Na Tabela 14 estão expressas as principais bandas da solução controle do corante PR MX-5B que sofreram alterações durante o tratamento de biodegradação com biomassa peletizada do fungo *A. terreus*.

Tabela 14 – Bandas presentes na solução controle do corante PR MX-5B

Bandas originais da solução controle	Estruturas correspondentes
3446 cm^{-1}	Estiramento da ligação O-H (SOARES, 1998; JOHNSSEN et al., 2003), aminas primárias e secundárias Estiramento da ligação N-H (ARJUNAN et al., 2004; FRANCISCON et al., 2009; AYED et al., 2010; TELKE et al., 2010)
2926 cm^{-1}	Região característica de anéis aromáticos (MANE et al., 2008), aminas

	aromáticas primárias, deformações angulares de N-H (SILVERSTEIN et al., 1994; AYED et al., 2010)
1550-1500 cm^{-1}	Região característica de agrupamentos azo (-N=N-) (DYER, 1969; SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007; GUP et al. 2007; KALME et al., 2007; PACHHADE et al., 2009); Deformação angular de NH_2 (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007); vibrações da ligação C=N (WHARFE et al., 2010)
1431 cm^{-1}	Agrupamentos azo (SILVERSTEIN et al., 1994); estiramento de C=C e grupos sulfônicos (DYER, 1969; ARJUNAN et al., 2004))
1390 cm^{-1}	Grupos sulfônicos (BARBOSA, 2007); aminas (WHARFE et al., 2010); deformação da ligação -OH (ABBAS et al., 2008; DHANVE et al., 2009; CO_2 residual (SILVERSTEIN et al., 1994)
1325, 1323, 1320 cm^{-1}	Amino benzeno (SILVERSTEIN et al., 1994); estiramento de C-N (BARBOSA, 2007)
1232, 1230, 1228 cm^{-1}	Vibrações de grupos sulfônicos ; Vibrações da ligação C-O (JADHAV et al., 2008; PACHHADE et al., 2009; OLUKANNI et al., 2010)
1114 cm^{-1}	Região característica de aminas (IYIM et al., 2008; JUÁREZ-HERNANDES et al., 2008; FANCHIANG; TSENG, 2009)
1049 cm^{-1}	Deformação angular de -CH; grupos fenólicos e grupos sulfônicos (SILVERSTEIN et al., 1994; OLUKANNI et al., 2010)
900, 898 cm^{-1}	Presença de cloro (DYER, 1969; BARBOSA, 2007); Grupos sulfônicos (PACHHADE et al., 2009)
767 cm^{-1}	Presença de grupos benzênicos (DYER, 1969; SILVERSTEIN et al., 1994); deformação angular de =C-H de anéis aromáticos (SILVERSTEIN et al., 1994)
677, 673, 671 cm^{-1}	Vibração de C=C de anel aromático (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007); vibração da ligação -C-N (TELKE et al., 2010)

Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando os espectros de FTIR de todos os tratamentos é possível observar que o aumento da intensidade das bandas na região de 1650 a 1580 cm^{-1} é proporcional ao aumento do tempo de tratamento. Essa é uma região que indica deformações angulares do grupo NH_2 de amins primárias (BARBOSA, 2007), o que mostra a presença desses metabólitos no meio reacional. A redução da ligação azo fica evidente devido às significativas alterações que ocorreram na região entre 1550 a 1500 cm^{-1} , que é típica desse tipo de ligação.

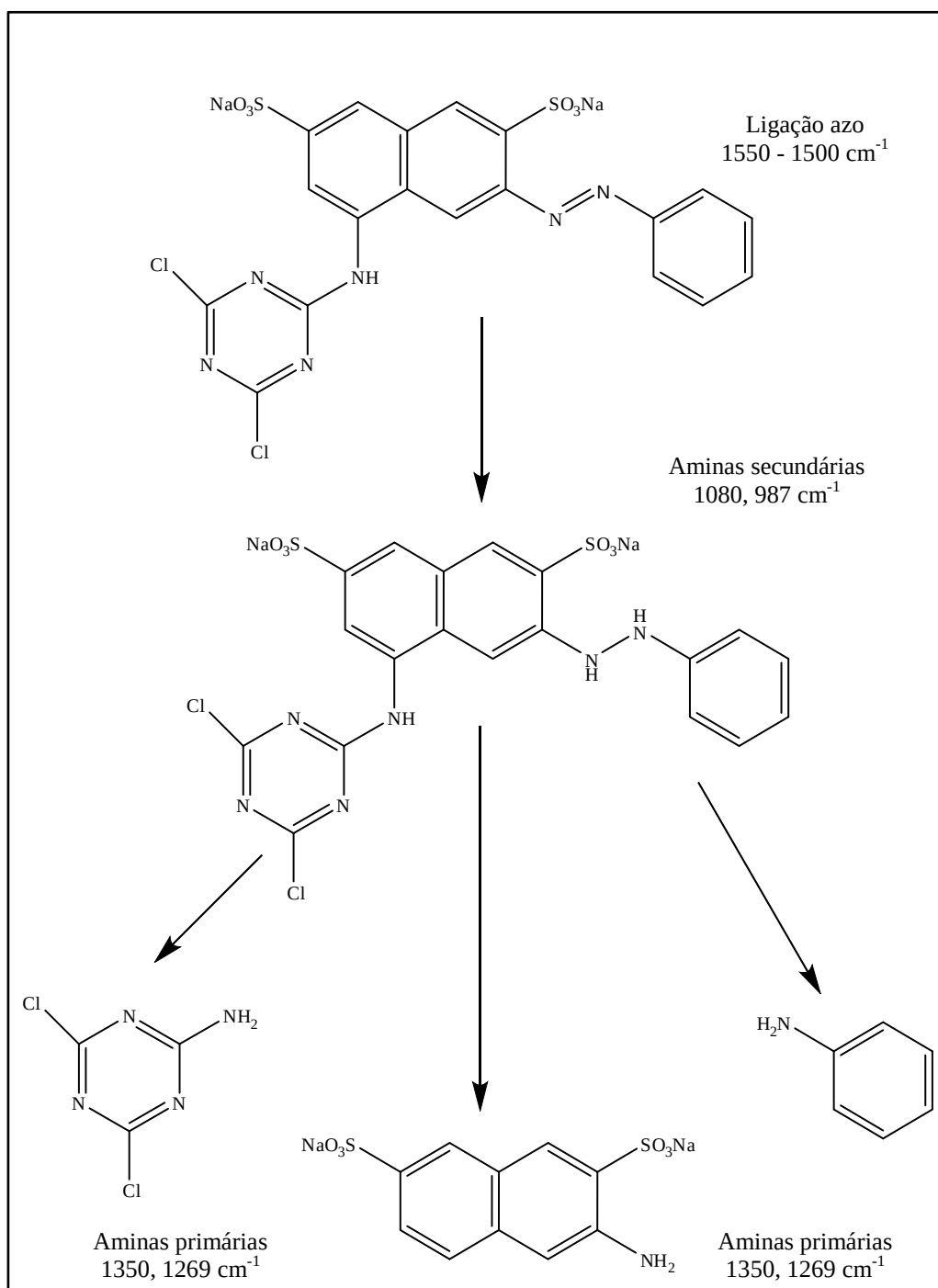
No tratamento de 24 horas é possível verificar grande aumento da intensidade da banda em 1382 cm^{-1} . Essa é uma região característica de grupos sulfônicos e amins secundárias (SILVERSTEIN et al, 1994; BARBOSA, 2007). No tratamento de 336 horas também foi possível verificar a presença das bandas 1350 e 1269 cm^{-1} que correspondem a vibração de NH_2 de amins aromáticas primárias (BARBOSA, 2007).

Nos espectros dos tratamentos de 240 e 336 horas surgiram duas novas bandas, 1080 e 987 cm^{-1} que correspondem respectivamente a ligação C-N de amins primárias e secundárias (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007) e vibrações de deformação das ligações do sistema S=O de grupos sulfonados, além de vibrações da ligação C-O (PACHHADE et al. 2009).

As alterações na região de 850 a 800 cm^{-1} presente em todos os tratamentos correspondem à presença de cloro, anéis aromáticos e amins primárias (BARBOSA, 2007; POLUNIN et al., 2008). As bandas que também sofreram aumento de intensidade na região de 545 cm^{-1} são características da presença de anéis aromáticos e de grupos sulfônicos (RIBEIRO; SOUZA, 2007; TELKE et al., 2010).

Todas as alterações estruturais evidenciadas nas modificações dos espectros de FTIR indicam que as moléculas do corante PR MX-5B realmente foram degradadas pelo fungo *A. terreus* e que essa degradação levou a formação de diferentes metabólitos secundários, como por exemplo, amins. Na Figura 64 é possível observar um esquema hipotético da quebra das moléculas e seus metabólitos.

Figura 64 – Possível rota de degradação do corante PR MX-5B após tratamento com o fungo *A. terreus*



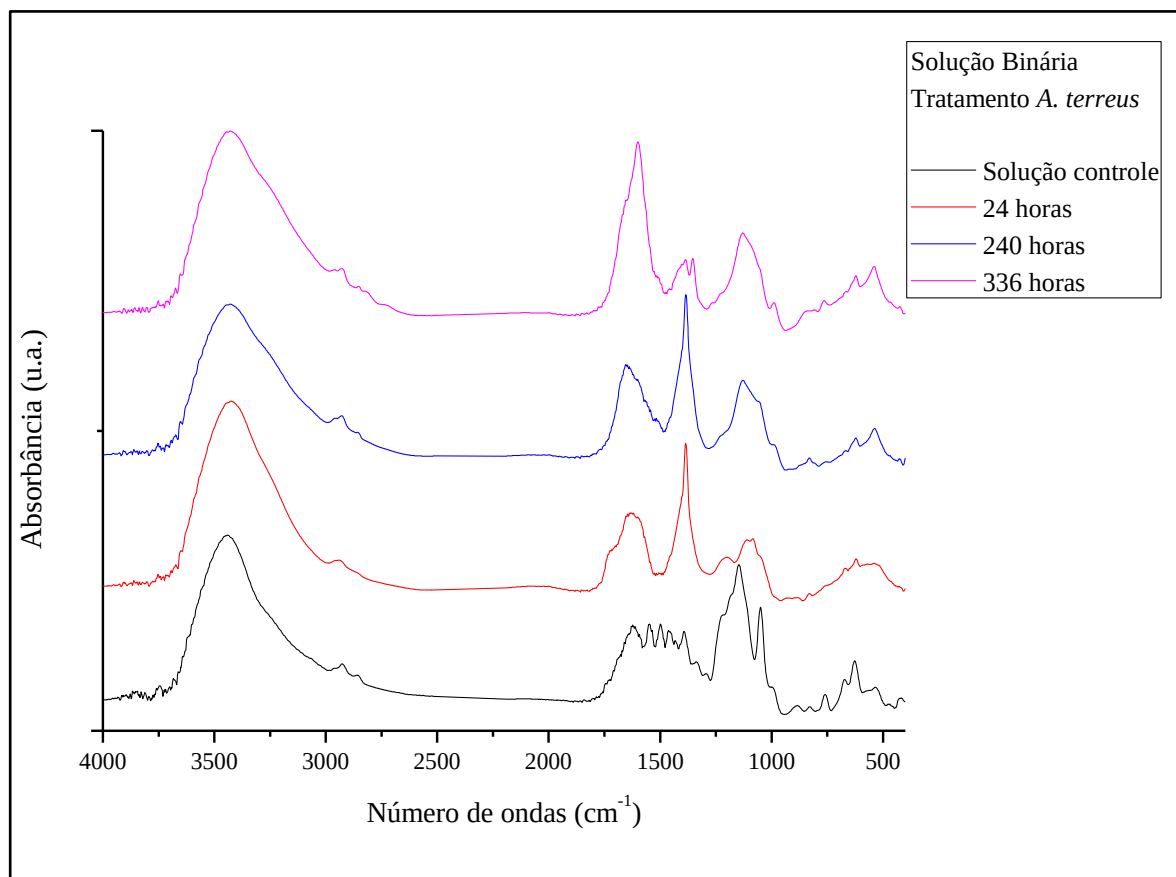
Fonte: Elaborado pela autora.

Solução binária

No tratamento da solução binária foi possível identificar bandas que apareceram nos espectros de FTIR dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples antes e após os tratamentos com o fungo *A. terreus*. Para essa solução não foi possível determinar um caminho de degradação das moléculas, devido as possíveis interações que ocorreram entre as moléculas originais dos corantes e seus metabólitos após o processo de biodegradação.

Na Figura 65 é possível observar os espectros de FTIR da solução binária antes e após os tratamentos microbiológicos. As leituras das soluções foram realizadas na forma de pastilhas de KBr, na proporção de 1 mg de amostra (solução binária antes e após os tratamentos em peso seco) para 149 mg de KBr.

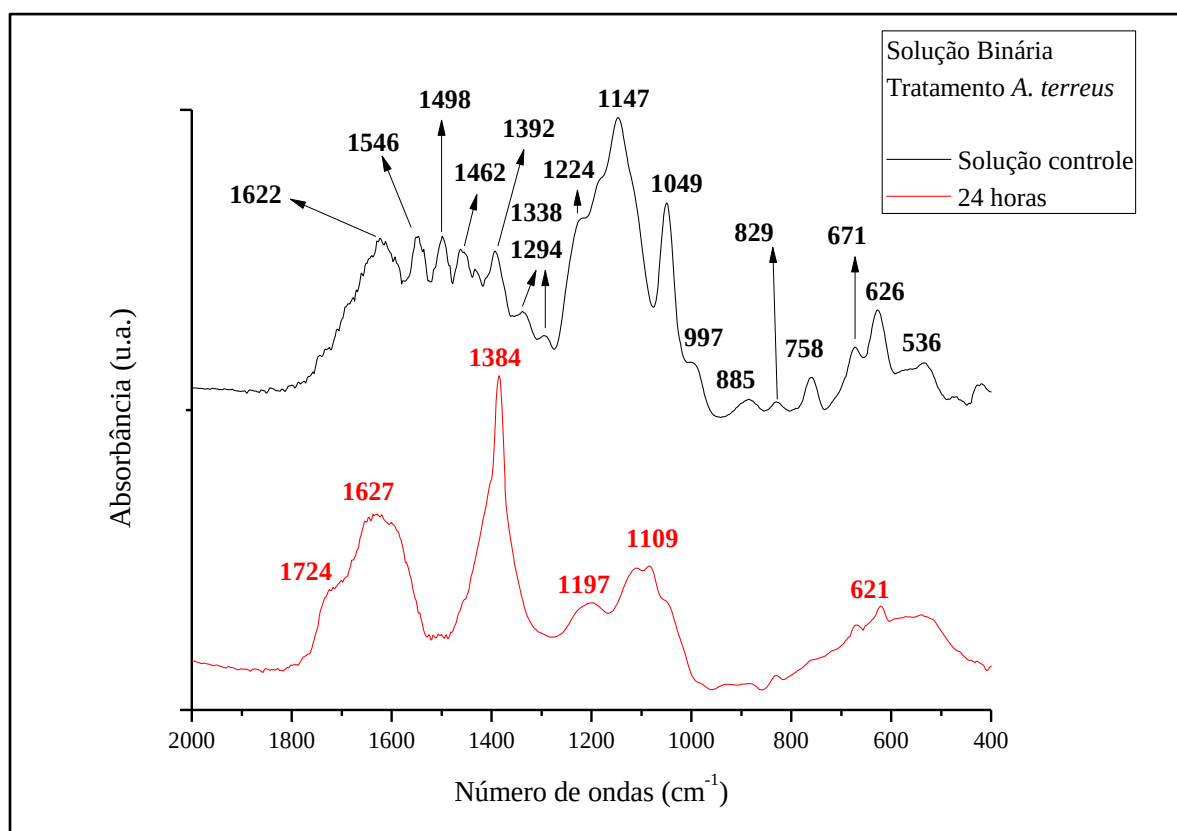
Figura 65 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus* na forma peletizada



Fonte: Elaborado pela autora.

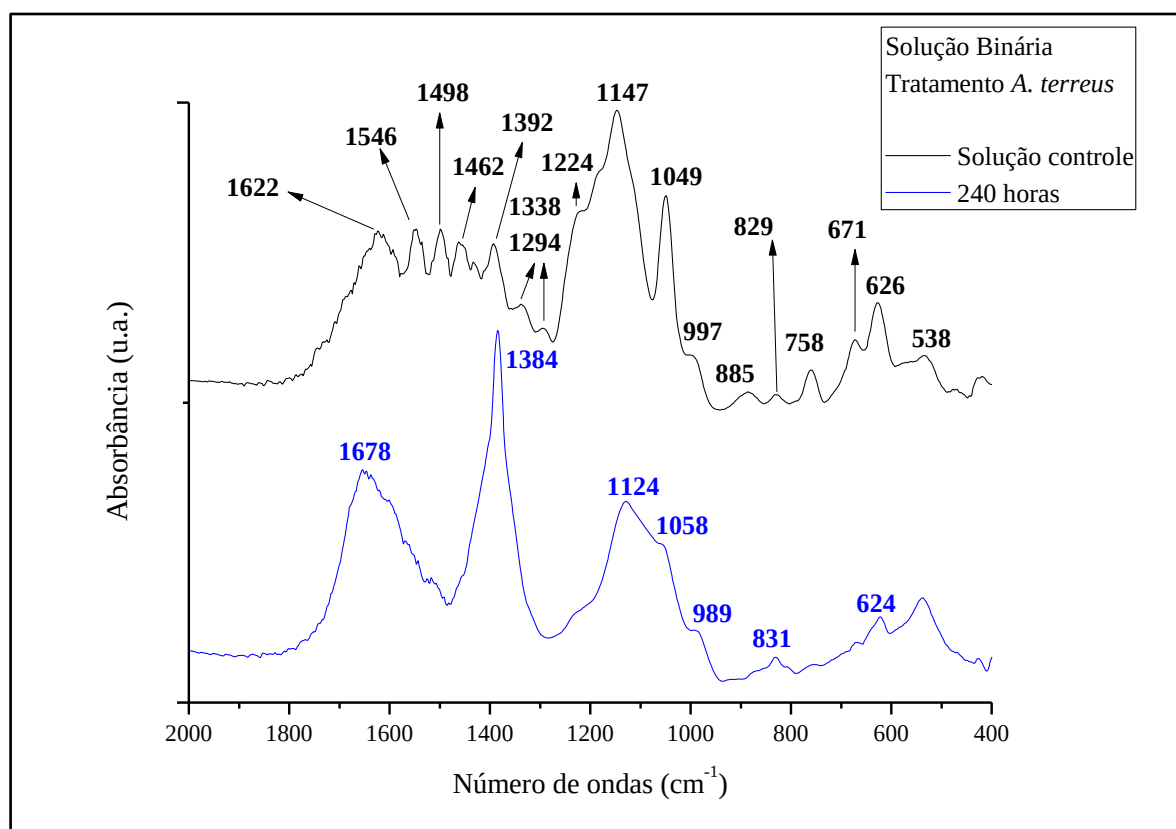
Ao observar os espectros de FTIR é possível verificar que as maiores alterações espectrais após o tratamento ocorreu na região espectral de 2000 a 400 cm^{-1} , seguindo o mesmo padrão de alterações dos corantes em soluções simples. Portanto para facilitar as análises dos espectros as Figuras 66, 67 e 68 correspondem aos espectros de FTIR para os tratamentos de 24, 240 e 336 horas respectivamente, na região de 2000 a 400 cm^{-1} .

Figura 66 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 24 horas de tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus* na forma peletizada



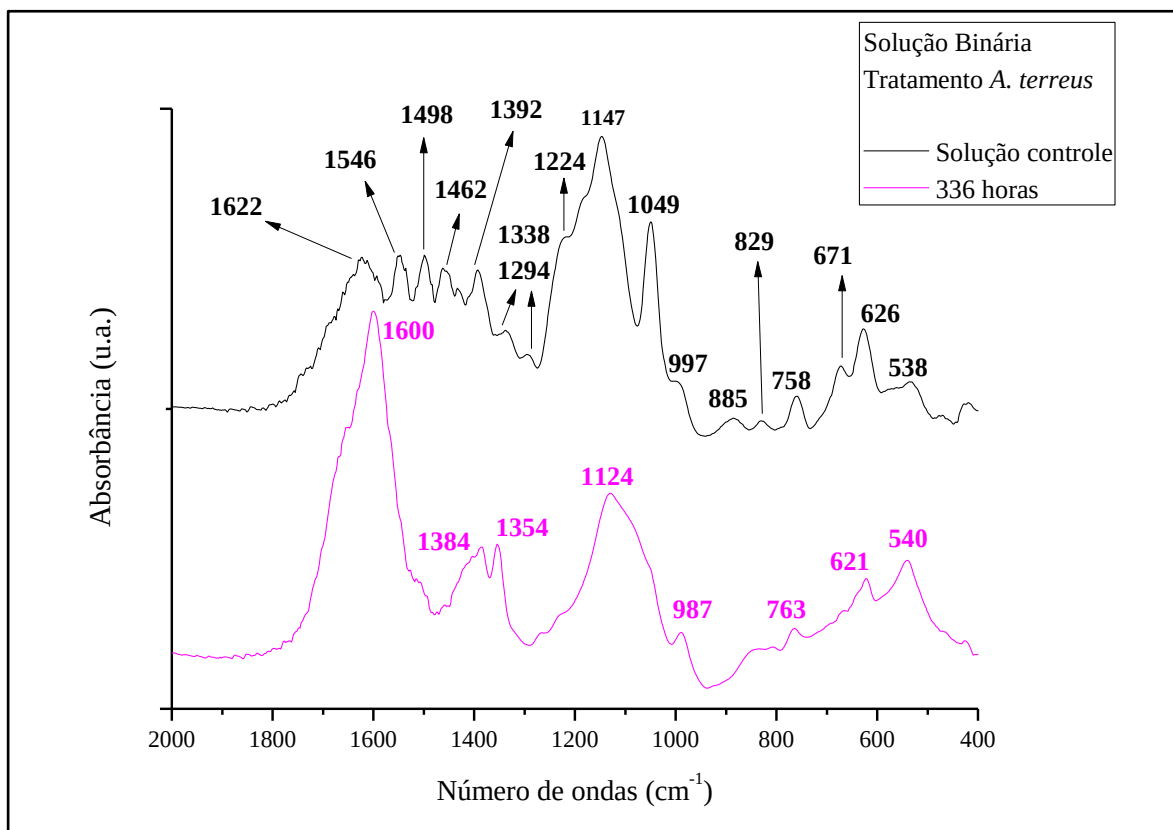
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 67 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 240 horas de tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus* na forma peletizada



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 68 – Espectros de FTIR da solução binária composta pelos corantes AB 161 e PR MX-5B, antes e após 336 horas de tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus* na forma peletizada



Fonte: Elaborado pela autora.

A Tabela 15 contém as principais bandas da solução binária controle que sofreram alterações durante o tratamento de biodegradação com biomassa peletizada do fungo *A. terreus*.

Tabela 15 – Bandas presentes na solução controle composta pelos corantes AB 161 e PR MX 5B associados em solução binária

Bandas originais da solução controle	Estruturas correspondentes
3446 cm ⁻¹	Estiramento da ligação O-H (SOARES, 1998; JOHNSEN et al., 2003), aminas primárias e secundárias Estiramento da ligação N-H (ARJUNAN et al., 2004; FRANCISCON et al., 2009; AYED et al., 2010; TELKE et al., 2010)

2926 cm ⁻¹	Região característica de anéis aromáticos (MANE et al., 2008), aminas aromáticas primárias, deformações angulares de N-H (SILVERSTEIN et al., 1994; AYED et al., 2010)
1622; 1550-1500; 1462 cm ⁻¹	Região característica de agrupamentos azo (-N=N-) (DYER, 1969; SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007; GUP et al. 2007; KALME et al., 2007; PACHHADE et al., 2009); Deformação angular de NH ₂ (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007); vibrações da ligação C-N (WHARFE et al., 2010)
1392 cm ⁻¹	Grupos sulfônicos (BARBOSA, 2007); aminas (WHARFE et al., 2010); deformação da ligação -OH (ABBAS et al., 2008; DHANVE et al., 2009; CO ₂ residual (SILVERSTEIN et al., 1994)
1338 cm ⁻¹	Estiramento de C-N de aminas aromáticas secundárias (BARBOSA, 2007)
1280 cm ⁻¹	Aminas aromáticas (SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007); estiramento de S=O (SILVERSTEIN et al., 1994; DAVIDSON, 2003)
1224 cm ⁻¹	Vibrações de grupos sulfônicos ; Vibrações da ligação C-O (JADHAV et al., 2008; PACHHADE et al., 2009; OLUKANNI et al., 2010)
1147 cm ⁻¹	Região característica de compostos sulfônicos (-S=O) (DYER, 1969)
1049 cm ⁻¹	Deformação angular de -CH; grupos fenólicos e grupos sulfônicos (SILVERSTEIN et al., 1994; OLUKANNI et al., 2010)
885 cm ⁻¹	Deformação da ligação -CH de anel aromático (BARBOSA, 2007; POLUNIN et al., 2008; EL-KABANY et al., 2011)
829 cm ⁻¹	Aminas primárias (BARBOSA, 2007)
758 cm ⁻¹	Presença de grupos benzênicos (DYER, 1969; SILVERSTEIN et al., 1994); deformação angular de =C-H de anéis aromáticos (SILVERSTEIN et al., 1994)
671 cm ⁻¹	Vibração de C=C de anel aromático (SILVERSTEIN et al., 1994;

	BARBOSA, 2007); vibração da ligação –C-N (TELKE et al., 2010)
626 cm ⁻¹	Deformação angular de –OH (BARBOSA, 2007); vibração de grupos sulfônicos (IYIN et al., 2008)
536 cm ⁻¹	Vibração da ligação -C=C- do anel aromático (RIBEIRO; SOUZA, 2007)

Fonte: Elaborado pela autora.

Em todos os tratamentos ocorreram intensas alterações nas regiões 1622, 1550-1500 e 1462 cm⁻¹ que são características principalmente de agrupamentos azo e deformação angular de NH₂ (DYER, 1969; SILVERSTEIN et al., 1994; BARBOSA, 2007; GUP et al. 2007; KALME et al., 2007; PACHHADE et al., 2009). Mostrando que provavelmente as enzimas produzidas pelo fungo foram capazes de alterar essas ligações, e que elas possivelmente foram quebradas levando a formação de aminas. Algumas bandas presentes nos espectros de FTIR dos tratamentos apareceram de forma mais intensa e correspondem principalmente a vibrações da ligação NH₂ de aminas. Essas bandas podem ser visualizadas na região de 1109 cm⁻¹ no tratamento de 24 horas, 1678 cm⁻¹ com 240 horas e 1600 no espectro de 336 horas (BARBOSA, 2007; PACHHADE et al., 2009; OLUKANNI et al., 2010).

Nos três intervalos de tempo analisados surgiram bandas nas regiões de 1384, 1354, 624 e 621 cm⁻¹ que indicam presença de grupos sulfônicos. Nos dois corantes há presença de radicais sulfonados e a ação enzimática sobre as moléculas pode ter levado a clivagem das ligações que envolvem esses grupos, liberando-os no meio reacional, o que gerou aumento da intensidade dos sinais dessas bandas. Sendo esse mais um resultado que indica degradação molecular dos corantes que estavam presentes na solução.

As alterações ocorridas nos grupos benzênicos dos corantes ficam evidentes com o aumento de intensidade das bandas na região 1600, 1197, 989, 987, 831, 763, 540 e 538 que apareceram nos espectros dos tratamentos e correspondem entre outras coisas, a vibrações de estiramento da ligação C-H do anel aromático.

Todas as alterações visualizadas nos espectros de FTIR dos tratamentos dos corantes em solução simples e solução binária indicam que o fungo *A. terreus* possui enzimas que são capazes de degradar esses tipos de moléculas, portanto ele pode ser empregado no tratamento desses resíduos industriais. O que é muito importante visto que o descarte incorreto dessas substâncias geram grandes impactos negativos aos corpos aquáticos. Contudo, foi possível

visualizar que em nenhum dos tratamentos ocorreu a mineralização dos corantes, o que já era previsto devido às condições no qual o teste foi realizado. Sendo que a completa mineralização geralmente ocorre na presença de consórcios microbianos. Mas os resultados obtidos nesse estudo são relevantes na busca por novas tecnologias para o tratamento de azo corantes têxteis.

5.10. Toxicidade após biodegradação

Após o processo de biodegradação dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária, pelo fungo *A. terreus* na forma peletizada, foram realizados novos testes de toxicidade com *A. salina* e *L. sativa* para observar a variação de toxicidade das soluções após o tratamento microbiológico. Os resultados obtidos serão discutidos a seguir:

Artemia salina

Os resultados obtidos com o teste de toxicidade das soluções dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária após o processo de biodegradação com o fungo *A. terreus*, utilizando o microcrustáceo *A. salina* como organismo-teste estão expressos nas Tabelas 16, 17 e 18.

Tabela 16 – Mortalidade das larvas de *A. salina* após 48 horas de exposição à solução controle do corante AB 161 (solução simples com concentração de 200 µg/mL), e soluções tratadas por 24, 240 e 336 horas com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	% descoloração das soluções	Mortalidade Réplica 1	Mortalidade Réplica 2	Média mortalidade
Solução controle	0,0	0	0	0
24	75,3	3	1	2
240	80,7	3	3	3
336	84,0	0	0	0

Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 17 – Mortalidade das larvas de *A. salina* após 48 horas de exposição à solução controle do corante PR MX-5B (solução simples com concentração de 200 µg/mL), e soluções tratadas por 24, 240 e 336 horas com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	% de descoloração das soluções	Mortalidade Réplica 1	Mortalidade Réplica 2	Média mortalidade
Solução controle	0,0	0	0	0
24	60,6	5	3	4
240	68,0	10	9	10
336	98,0	10	10	10

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 18 – Mortalidade das larvas de *A. salina* após 48 horas de exposição à solução controle dos corantes AB 161 e PR MX-5B (solução binária com concentração de 200 µg/mL de cada um dos corantes), e soluções tratadas por 24, 240 e 336 horas com 3 mg/mL de biomassa peletizada do fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	% descoloração total das soluções	Mortalidade Réplica 1	Mortalidade Réplica 2	Média mortalidade
Solução controle	0,0	0	0	0
24	62,3	1	3	2
240	92,4	10	10	10
336	92,7	10	10	10

Fonte: Elaborado pela autora.

Analisando os resultados foi possível verificar que nas três soluções testadas ocorreu em menor ou maior intensidade o aumento da toxicidade após o tratamento microbiológico, indicando que no processo de descoloração das soluções ocorreu biodegradação incompleta das moléculas dos corantes, o que resultou na formação de metabólitos que elevaram a toxicidade das soluções. As análises dos espectros de FTIR confirmaram a presença desses

metabólitos, onde foi possível visualizar em todos os tratamentos a ocorrência de bandas características de grupos aminos.

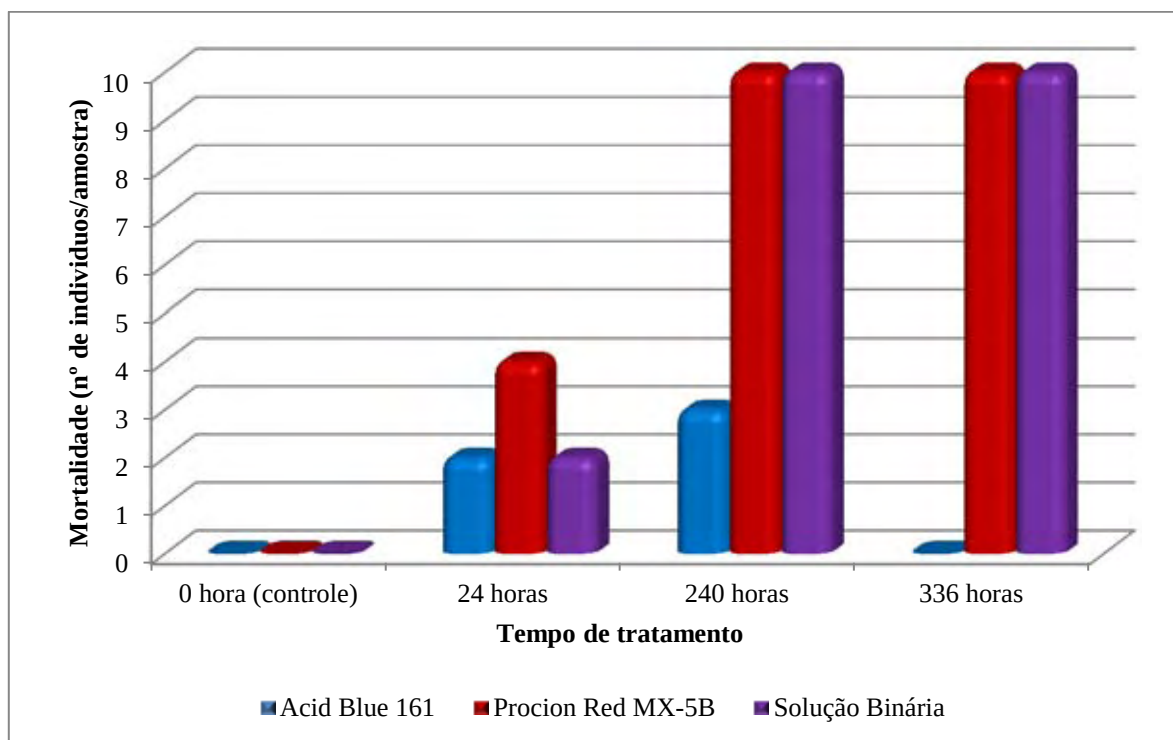
Avaliando o tratamento do corante AB 161 em solução simples foi possível observar ligeira elevação da mortalidade das larvas de *A. salina* nos tratamentos de 24 e 240 horas. Indicando que durante esse período possivelmente as enzimas produzidas pelo micro-organismo conseguiu realizar a quebra das moléculas do corante, levando a formação de metabólitos nocivos para as larvas. A partir de 336 horas de tratamento a solução voltou a não apresentar toxicidade. O que leva a concluir que os metabólitos tóxicos para as larvas de *A. salina* foram degradados pelo fungo *A. terreus*. As análises dos espectros de FTIR do tratamento de 336 horas apontaram a presença de compostos contendo aminas, contudo para as larvas de *A. salina* esses metabólitos não se apresentaram nocivos.

Nos tratamentos da solução simples do corante PR MX-5B ocorreu alta taxa de descoloração das soluções testadas, 98% em 336 horas de tratamento. Mas para esse corante a biodegradação das moléculas gerou metabólitos altamente tóxicos para as larvas de *A. salina*. Nas primeiras 24 horas de tratamento a mortalidade média subiu de 0 para 40%, e nos tratamentos seguintes (240 e 336 horas) a mortalidade foi de 100%. Portanto, embora a descoloração das soluções pelo fungo *A. terreus* tenha sido alta, do ponto de vista toxicológico o tratamento não foi eficiente, pois elevou a toxicidade das soluções de 0 para 100% de mortalidade das larvas.

Os resultados obtidos para solução binária mostraram dados semelhantes aos obtidos para o corante PR MX-5B em solução simples, onde ao final das 336 horas de tratamento a mortalidade das larvas de *A. salina* também foi de 100%. Assim como em solução simples, a maior taxa de remoção em solução binária foi a do corante PR MX-5B. Nessa solução esse corante foi totalmente removido, restando na solução somente o corante AB 161 e metabólitos formados durante as etapas de biodegradação. E foram esses metabólitos os responsáveis por causar um aumento de 100% de mortalidade das larvas de *A. salina*.

A Figura 69 representa uma análise comparativa dos resultados de mortalidade das larvas de *A. salina* após exposição às soluções testadas antes e após os tratamentos microbiológicos com o fungo *A. terreus*, onde é possível visualizar de forma mais clara as variações de toxicidade das soluções após diferentes períodos de contato com a biomassa fúngica.

Figura 69 – Variação de mortalidade das larvas de *A. salina*, após exposição de 48 horas às soluções dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo *A. terreus*



Fonte: Elaborado pela autora.

Lactuca sativa

Os resultados obtidos com o teste de toxicidade das soluções dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária após o processo de biodegradação com o fungo *A. terreus*, utilizando sementes de *L. sativa* como organismo-teste estão expressos nas Tabelas 19, 20 e 21.

Tabela 19 – Tratamento da solução simples do corante AB 161. Comprimento (cm) das raízes de *L. sativa*, média de crescimento das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes expostas à solução controle e soluções resultantes de 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	% descoloração das soluções	Crescimento Réplica 1 (cm)	Crescimento Réplica 2 (cm)	Média de crescimento (cm)	Inibição (%)
Controle Água destilada	-	1,78	1,57	1,68	-
Controle solução de corante	0,0	1,56	1,49	1,53	9,2
24	75,3	0,82	0,49	0,66	61,0
240	80,7	0,42	0,31	0,37	78,3
336	84,0	0,82	0,89	0,86	49,1

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 20 – Tratamento da solução simples do corante PR MX-5B. Comprimento (cm) das raízes de *L. sativa*, média de crescimento das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes expostas à solução controle e soluções resultantes de 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	% de descoloração das soluções	Crescimento Réplica 1 (cm)	Crescimento Réplica 2 (cm)	Média de crescimento (cm)	Inibição (%)
Controle Água destilada	-	1,78	1,57	1,68	-
Controle solução de corante	0,0	1,55	1,63	1,60	4,8
24	60,6	1,13	1,32	1,23	26,8
240	68,0	0,92	1,0	0,96	42,9
336	98,0	0,91	0,82	0,87	48,2

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 21 – Tratamento dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução binária. Comprimento (cm) das raízes de *L. sativa*, média de crescimento das réplicas e % de inibição do crescimento das raízes expostas à solução controle e soluções resultantes de 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo *A. terreus*

Tempo de tratamento (horas)	% descoloração total das soluções	Crescimento Réplica 1 (cm)	Crescimento Réplica 2 (cm)	Média de crescimento (cm)	Inibição (%)
Controle Água destilada		1,78	1,57	1,68	-
Controle solução de corante	0,0	1,45	1,34	1,40	17,0
24	62,3	1,19	0,86	1,03	39,0
240	92,4	0,32	0,46	0,39	76,8
336	92,7	0,31	0,26	0,29	83,0

Fonte: Elaborado pela autora.

Assim como ocorreu no teste de toxicidade com as larvas de *A. salina*, o teste com *L. sativa* apresentou aumento da toxicidade das soluções após o tratamento microbiológico com o fungo *A. terreus*.

Para o corante AB 161 em solução simples nos tratamentos de 24 e 240 horas ocorreu aumento de 51,8 e 69% de inibição do crescimento das radículas das plântulas de *L. sativa*. No tratamento de 336 horas houve redução da toxicidade, aproximadamente 30% em relação ao tratamento de 240 horas. Mas em relação à inibição inicial o tempo final de tratamento apresentou aumento de 40%. Esses resultados indicam que a biodegradação das moléculas do corante levou a formação de metabólitos que foram significativamente tóxicos para o desenvolvimento das sementes de *L. sativa*. E na presença das soluções tratadas e não tratadas desse corante, as sementes de *L. sativa* apresentaram-se mais sensíveis que as larvas de *A. salina* em relação a toxicidade do meio. O fato da toxicidade começar a reduzir a partir de 336 horas indica que possivelmente se o tratamento de biodegradação fosse mantido por mais tempo, poderia ocorrer total redução da toxicidade dessas soluções.

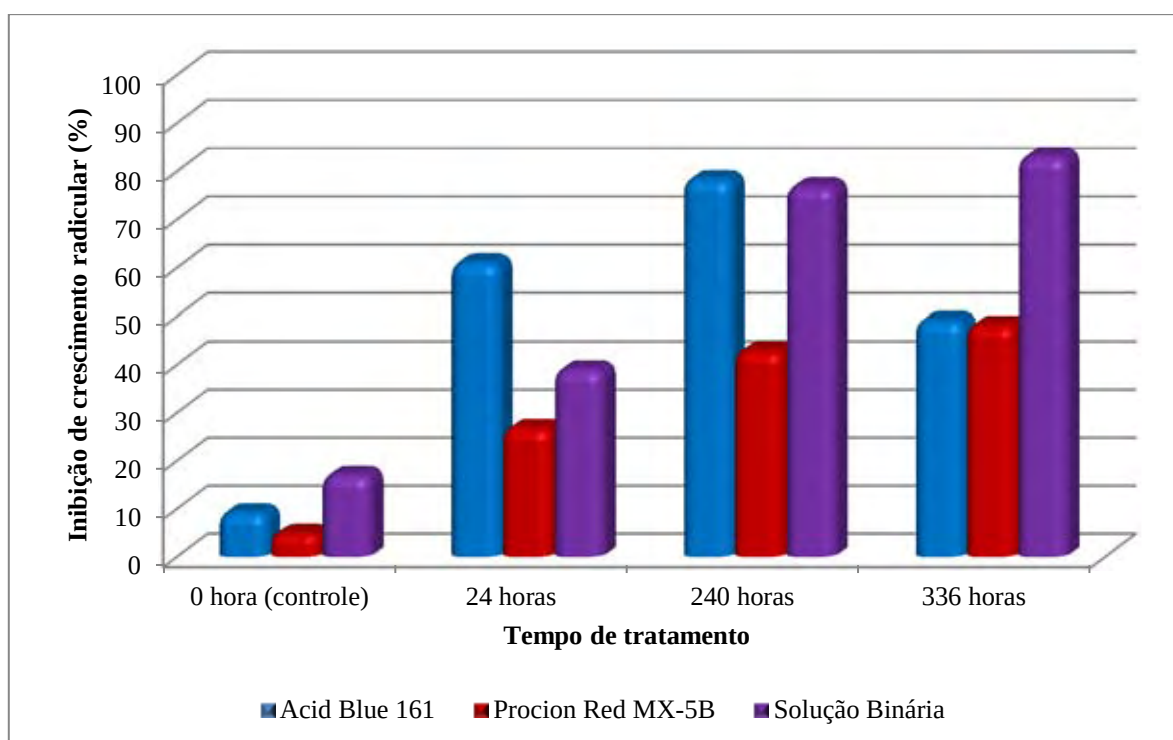
Nas soluções simples do corante PR MX-5B também ocorreu aumento da toxicidade das soluções após o tratamento de biodegradação. No tratamento de 336 horas a porcentagem

de inibição de crescimento das radículas das plântulas de *L. sativa* teve aumento de 43,4% em relação a porcentagem de inibição inicial. Nesse tratamento as larvas de *A. salina* foram mais sensíveis do que as sementes de *L. sativa*, a presença dos metabólitos formados durante a degradação das moléculas do corante.

O tratamento microbiológico da solução binária também levou ao aumento da inibição do crescimento das radículas das plântulas de *L. sativa*. A porcentagem de inibição de crescimento das radículas subiu de 17 (toxicidade solução binária controle) para 83% ao final das 336 horas de tratamento.

A Figura 70 representa a porcentagem de inibição de crescimento radicular das plântulas de *L. sativa* dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária, antes e após os tratamentos microbiológicos com biomassa peletizada do fungo *A. terreus*.

Figura 70 – Variação da porcentagem de inibição radicular das plântulas de *L. sativa*, após exposição de 72 horas às soluções dos corantes AB 161 e PR MX-5B em solução simples e solução binária antes e após 24, 240 e 336 horas de tratamento com o fungo *A. terreus*



Fonte: Elaborado pela autora.

Portanto de uma forma geral em todos os tratamentos ocorreu alta taxa de descoloração das soluções após diferentes períodos de contato com a biomassa peletizada do fungo *A. terreus*, mas esse processo de biodegradação/biossorção que foi eficiente na remoção das moléculas elevou o grau de toxicidade das soluções testadas. Esses resultados evidenciam do ponto de vista toxicológico, o quão perigoso é o descarte incorreto desses compostos. Pois nos corpos aquáticos essas moléculas também são biodegradadas o que pode levar a formação de metabólitos intermediários altamente tóxicos para os organismos ali presentes.

Palácio et al. (2009) verificaram a descoloração de efluente têxtil através do processo de eletrocoagulação utilizando eletrodos de ferro. Foram analisados diferentes intervalos de tempo durante o tratamento que foi conduzido por 90 minutos, sendo que após 15 minutos a descoloração do efluente já era de aproximadamente 100%. A toxicidade desse efluente foi determinada utilizando os organismos-teste *Artemia salina* e *Lactuca sativa*, e os resultados mostraram aumento da toxicidade para os dois organismos de acordo com o aumento do tempo de tratamento. O menor valor de toxicidade foi obtido com as soluções eletrocoaguladas por 5 minutos. A técnica utilizada por esses autores apresentou alta capacidade de descoloração dos efluentes, mas em contrapartida o aumento do tempo de tratamento gerou aumento da toxidade, indicando que do ponto de vista toxicológico o tratamento desse efluente por eletrocoagulação foi ineficiente.

No presente estudo o tratamento de biodegradação das soluções realizado com um único micro-organismo, dificultou o processo de mineralização dos corantes, já que muitos metabólitos formados também podem ser tóxicos para o micro-organismo que está sendo utilizado no tratamento. Mas esse tipo de tratamento é interessante, pois todas as alterações e quebra das moléculas ocorrem de maneira mais lenta, quando comparado a tratamentos que utilizam consórcios microbianos, o que facilita a análise das alterações moleculares e estudos dos metabólitos formados com a degradação dessas moléculas. E esse tipo de estudo é importante para determinar os impactos nocivos que a presença dessas substâncias pode causar nos ambientes aquáticos.

6 CONCLUSÕES

Após análise dos resultados foi possível chegar as seguintes conclusões:

✓ Nos bioensaios de toxicidade com as soluções simples dos corantes as sementes de *L. sativa* foram mais sensíveis à presença do corante AB 161 do que às larvas de *A. salina*. O corante PR MX-5B em solução simples apresentou-se menos tóxico aos dois organismos utilizados como organismos-teste. E a associação dos corantes em solução binária não acarretou em aumento da toxicidade quando comparado às soluções simples;

✓ No primeiro teste de biossortividade das soluções simples e binária realizado com diferentes quantidades de biomassa peletizada dos fungos *A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*, o fungo que apresentou maior capacidade de descoloração das soluções foi o *A. niger* ;

✓ Esse mesmo teste de interação biossortiva mostrou que o aumento gradativo da quantidade de biomassa nos tratamentos, resulta em aumento da taxa de descoloração das soluções. Mas em contrapartida quantidades elevadas de biomassa nos tratamentos, resultam em compactação dessa biomassa, reduzindo a superfície de aderência para as moléculas dos corantes, resultando em redução gradativa da capacidade adsortiva desses substratos;

✓ A aplicação das isotermas de adsorção revelou que a interação biossortiva entre os corantes e as biomassas fúngicas ocorreu de acordo com a isoterma de Freundlich, ou seja, em múltiplas camadas. Nos três diferentes tipos de biomassa fúngica (*A. niger*, *A. terreus* e *R. oligosporus*) utilizadas nos tratamentos, existiam sítios ativos de adsorção específicos para

cada um dos corantes analisados, o que justifica a maior taxa de remoção dos corante quando associados em solução binária;

✓ Por ter apresentado maior capacidade de descoloração das soluções no teste de bioassortividade, o fungo *A. niger* foi escolhido para a realização de um novo teste de bioassorção, onde o intuito foi verificar a variação de toxicidade das soluções antes e após o tratamento microbiológico;

✓ Nesse teste de bioassortividade o fungo *A. niger* foi eficiente na descoloração das soluções, e a remoção das moléculas dos corantes do meio resultou em redução da toxicidade de todas as soluções testadas para *L. sativa*. Para *A. salina* a ausência de toxicidade das soluções se manteve após o tratamento microbiológico. A redução ou a manutenção da toxicidade das soluções após o tratamento microbiológico é um resultado muito importante do ponto de vista toxicológico, indicando que a interação bioassortiva foi eficiente na descoloração das soluções e não levou a formação de metabólitos tóxicos;

✓ O fungo *A. terreus* foi o que apresentou maior capacidade de degradação das moléculas, portanto ele foi o selecionado para a realização do teste de biodegradação das soluções;

✓ O teste de biodegradação das soluções foi analisado por espectrofotometria UV-Vis e análises de FTIR. As duas técnicas foram eficientes para a obtenção dos resultados. As análises UV-Vis permitiram avaliar a taxa de descoloração das soluções, bem como indícios de modificações moleculares. Enquanto que as análises de FTIR permitiram resultados mais detalhados quanto à degradação das moléculas e formação de metabólitos;

✓ Em todos os espectros de FTIR das soluções tratadas por 24, 240 e 336 horas com biomassa peletizada do fungo *A. terreus* foi possível verificar grandes modificações espectrais indicando que as moléculas dos corantes foram degradadas pelo fungo. Nos tratamentos várias bandas correspondentes a presença de grupos amins foram identificadas, indicando que a quebra das moléculas resultou na formação desses metabólitos, que são potencialmente tóxicos aos organismos a eles expostos;

✓ Ao final dos tratamentos foi verificado que a maior taxa de descoloração foi a do corante PR MX-5B tanto em solução simples, quanto em solução binária, chegando a aproximadamente 100% de descoloração após 336 horas de contato com a biomassa do fungo *A. terreus*;

✓ Os testes de toxicidade realizados com as soluções após o tratamento biodegradativo indicaram expressivo aumento de toxicidade das soluções para as sementes de *L. sativa*. Para a solução simples do AB 161 o aumento da toxicidade foi de 40% em relação

ao tempo final de tratamento. Mas em relação ao tempo de 240 horas e o tempo final, ocorreu uma redução de aproximadamente 30%. Isso indica que talvez se o tratamento fosse mantido por um período maior de tempo poderia ocorrer total redução da toxicidade dessa solução. O corante PR MX-5B apresentou 43% de aumento da toxicidade, enquanto a solução binária apresentou a maior alteração elevando a diferença de toxicidade inicial e final para 66%.

✓ Para os testes com *A. salina* o corante AB 161 não apresentou toxicidade inicial, ocorreram algumas variações de toxicidade durante o tratamento, e ao final do tempo de exposição do corante ao micro-organismo a toxicidade da solução também foi nula. Para o corante PR MX-5B em solução simples e para a solução binária ocorreu um aumento de 100 % de mortalidade das larvas ao final dos tratamentos;

Portanto, a partir da análise de todos esses resultados foi possível concluir que os fungos *A. niger* e *A. terreus* possuem potencial de aplicação em tratamentos de corantes. Os organismos *A. salina* e *L. sativa* apresentaram-se como bons organismos-teste e foram sensíveis as alterações de toxicidade das soluções após os tratamentos de bioadsorção e biodegradação. E que do ponto de vista toxicológico ao se utilizar um tratamento microbiológico para corantes, é muito mais interessante realizar a remoção das moléculas do meio através da bioadsorção/adsorção, pois como o período de contato do corante com o micro-organismo é reduzido, essa remoção ocorre sem ocasionar grandes alterações moleculares, ou seja, não há formação de metabólitos com potencialidade tóxica. A biorremediação através da biodegradação teria que ser realizada por um período de tempo maior, para que os metabólitos formados a partir da quebra das moléculas também fossem degradados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, O.; REBUFA, C.; DUPUY, N.; KISTER, J. FTIR – Multivariate curve resolution monitoring of photo-Fenton degradation of phenolic aqueous solutions – Comparison with HPLC as a reference method. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 77, p. 200-209, Colchester, 2008.

ABIQUIM – Associação Brasileira da Indústria Química. Corantes e Pigmentos. Disponível em:<<http://abiquim.org.br/comissao/setorial/corantes-pigmentos/especificidade/historico-aplicacao>>. Acesso em 20 nov. 2012.

ALLEN, S. J.; MCKAY, G. PORTER, J. F. Adsorption isotherm models for basic dye adsorption by peat in single and binary component systems. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 280, p. 322-333, Maryland Heights, 2004.

AL-SABTI, K. Chlorotriazine Reactive Azo Red 120 textile dyes induces micronuclei in fish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 147, p. 149-155, Maryland Heights, 2000.

ARJUNAN, V.; SUBRAMANIAN, S.; MOHAN, S. FTIR and FTR spectral studies of 2-amino-6-bromo-3-formylchromone. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 60, n. 05, p. 995-1000, Amsterdam, 2004.

ASGHER, M.; BHATTI, H. N. Mechanistic and kinetic of biosorption of reactive azo dyes by free, immobilized and chemically *Citrus sinensis* waste biomass. **Ecological Engineering**, v. 36, p. 1660-1665, Amsterdam, 2010.

AYED, L.; CHAIEB, K.; CHEREF, A.; BAKHROUF, A. Biodegradation and decolorization of triphenylmethane dyes by *Staphylococcus epidermidis*. **Desalination**, v. 260, p. 137-146, Amsterdam, 2010.

AYED, L.; MAHDHI, A.; CHEREF, A.; BAKHROUF, A. Decolorization and degradation of azo dye Methyl Red by an isolated *Sphingomonas paucimobilis*. **Desalination**, v. 274, p. 272-277, Amsterdam, 2011.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho na Caracterização de Compostos Orgânicos**, Editora UFV, Viçosa, 2007, 189 p.

BARAHONA, M. V.; SÁNCHEZ-FOTÚAN, S. Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso-OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity. **Environmental Pollution**, v. 104, p. 469-476, Kidlington, 1999.

BEATTIE, K. A.; RESSLER, J.; WIEGAND, C.; KRAUSE, E.; CODD, G. A.; STEINBERG, C. E. W.; PFLUMACHER, S. Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp *Artemia salina*. **Aquatic Toxicology**, v. 62, p. 219-226, Amsterdam, 2003.

BINUPRIYA, A. R.; SATHISHKUMAR, M.; KU, C. S.; YUN, S. I. Biosorption of Procion Red MX-5B by *Bacillus subtilis* and its extracellular polysaccharide: effect of immobilization. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 38, n. 08, p. 775-780, Weinheim, 2010.

BIZUKOJC, E. L.; MIKSCH, K.; JUTSZ, M. A. KALKKA, J. Acute toxicity and genotoxicity of five selected anionic and nonionic surfactants. **Chemosphere**, v. 58, p. 1249-1253, Kidlington, 2005.

BOULET, J.C.; WILLIAMS, P.; DOCO, T. A Fourier transform infrared spectroscopy study of wine polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v.69, p.79–85, Kadlington, 2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA**. Resolução do CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2012.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA**. Resolução do CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 02 abr. 2013.

BURATINI, S. V. Biodegradação. In. ZAGATTO, P.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações**. 2 ed, SãoCarlos: RiMa, p. 89-116, 2008.

CALOW, P. Introduction. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JR, G. L.; CAIRNS JR, C. **Handbook of Ecotoxicology** , London: Blackwell Scientific Publications, 2 ed, p. 1-5, 1993.

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, Kidlington, 2004.

CESAR, A; SILVA, S. L. R.; SANTOS, A. R. Testes de Toxicidade Aquática no Controle da Poluição. 37p. Universidade Santa Cecília - UNISANTA. Santos, São Paulo, Brasil, 1997.

CHIOU, C. T. **Partition and adsorption of organic contaminants in environmental systems**. Hoboken: John Wiley and Sons, 2002. 257 p.

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, Washington, 1978.

CICLO DE VIDA *Artemia salina*. Disponível em: <http://hem.passagen.se/mysmicke23/hynt_Artemia.html>. Acesso em: 10 de abr. 2013.

CLARKE, C. E.; KIELAR, F.; TALBOT, H. M.; JOHNSON, K. L. Oxidative Decolorization of acid azo dyes a Mn oxidative containing waste. **Environmental Science and Technology**, v.44, p. 1116-1122, Dordrecht, 2010.

CORSO, C. R.; MARCANTI, I.; YAMAOKA, E. M. T. Applicability of the equations of Freundlich and Langmuir to the adsorption of azo dye Procion Scarlet on paramorphic colonies of *Neurospora crassa*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 20, p. 623-626, Ribeirão Preto, 1987.

CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 9, p.1061-1085, Amsterdam 2006.

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, São Paulo, 2005.

DAVIDSON, G. Vibrational spectra of some co-ordinated ligands. In: DAVIDSON, G. **Spectroscopic Properties of Inorganic and Organometallic Compounds**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2003, v. 36, p. 307-346.

DEVEOGLU, O.; CAKMAKCI, E.; TASKOPRU, T.; TORGAN, E.; KARADAG, R. Identification by RP-HPLC-DAD, FTIR, TGA and FESEM-EDAX of natural pigments prepared from *Datisca cannabina* L. **Dyes and Pigments**, v. 94, p. 437- 442, Kindligton, 2012.

DHANVE, R. S.; KALYANI, D. C.; PHUGARE, S. S.; JADHAV, J. P. Coordinate action of exiguobacterial oxidoreductive enzymes in biodegradation of reactive yellow 84A dye. **Biodegradation**, v. 20, p. 245-255, Dordrecht, 2009.

DOJCINOVIC, B. P.; ROGLIC, G. M.; OBRADOVIC, B. M.; KURAICA, M. M.; KOSTIC, M. M.; NESIC, J.; MANOJLOVIC, D. D. Decolorization of reactive textile dyes using water falling film dielectric barrier discharge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, p. 763-771, Amsterdam, 2011.

DYER, J. R. **Aplicações da Espectroscopia de Absorção aos Compostos Orgânicos**. São Paulo: Edgard Blucher, 1969. 155 p.

EL-KABBANY, F.; TAHA, S.; HAFEZ, M. IR spectroscopic analysis of polymorphism in $C_{13}H_{14}N_4O$. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 78, p. 981-988, Amsterdam, 2011.

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, Heidelberg, 2010.

FANCHIANG, J. M.; TSENG, D. H. Degradation of anthraquinone dye C.I. Reactive Blue 19 in aqueous solution by ozonation. **Chemosphere**, v. 77, p. 214-221, Kadlington, 2009.

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

FRANCISCON, E.; ZILLE, A.; DIAS, F. G.; RAGAGNIN, C. M.; DURRANT, R. L.; CAVACO-PAULO, A. Biodegradation of textile azo dyes by a facultative *Staphylococcus arlettae* strain VN-11 using a sequential microaerophilic/aerobic process. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v.63, p. 280-288, London, 2009.

FUNDEMA – Fundação Municipal do Meio Ambiente de Joinville. Disponível em: <<http://fundema.joinville.sc.gov.br/noticia/107Fundema+multa+t%C3%A4xtil+por+vazamento+de+produto+no+rio+Cachoeira.html>>. Acesso em 06 dez. 2012.

FURTADO, C. **Formação econômica no Brasil**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 32ª ed, 91p, 2005.

GARCIA, J. C.; SIMIONATO, J. I.; ALMEIDA, V. C.; PALÁCIO, S. M.; ROSSI, F. L.; SCHNEIDER, M. V.; SOUZA, N. E. Evolutive follow-up of the photocatalytic degradation of real textile effluents in TiO₂ and TiO₂/H₂O₂ systems and their toxic effects on *Lactuca sativa* seedlings. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 09, p. 1589-1987, Campinas, 2009.

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, Washington, 1983.

GOLDBERG, S. Adsorption models incorporated into chemical equilibrium models. **Soil Science Society of America Journal**, n. 42, p. 75-95, Madison, 1995.

GOMI, N.; YOSHIDA, S.; MATSUMOTO, K.; OKUDOMI, M.; KONNO, H.; HISABORI, T.; SUGANO, Y. Degradation of the synthetic dye amaranth by the fungus *Bjerkandera adusta* Dec 1: inference of the degradation pathway from an analysis of decolorized products. **Biodegradation**, v. 22, n. 6, p. 1239-1245, Dordrecht, 2011.

GONDIM, A. L. N.; BARBOSA, A. P. A.; PAZ, M. C. F. **Remoção biológica de corantes têxteis através do consórcio bacteriano entre *Pseudomonas aeruginosa* e *Geobacillus stearothermophilus* UCP 986**. In: Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, n. 2, 2007, João Pessoa, PB.

GONZÁLEZ, A. M.; PRESA, M.; LATORRE, M. G.; LURÁ, M. C. Detección de metabolitos fúngicos com actividad tóxica mediante bioensayo sobre *Artemia salina*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 24, p. 59-61, Barcelona, 2007.

GOTTILIEB, 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, São Paulo, 2000.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**, v. 44, p. 1737-1747, Kidlington, 2001.

GUP, R.; GIZIROGLU, E.; KIRKAN, B. Synthesis and spectroscopic properties of new azo dyes and azo-metal complexes derived from barbituric acid and aminoquinoline. **Dyes and Pigments**, v. 73, n. 1, p. 40-46, Kindligton, 2007.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median letal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 07, p. 714-718, London, 1977.

IYIM, T. B.; ACAR, I.; OZGUMUS, S. Removal of Basic Dyes from aqueous solutions with sulfonated phenol-fomaldehyde resin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 109, p. 2774-2780, New York, 2008.

JADHAV, U. U.; DAWKAR, V. V.; GHODAKE, G. S.; GOVINDWAR, S. P. Biodegradation of Direct Red 5B, a textile dye by newly isolated *Comamonas* sp. UVS. **Journal of Hazardous Materials**, v. 158, p. 507-516, Amsterdam, 2008.

JOHNSEN, B. B.; OLAFSEN, K.; STORI, A. Reflection-absorption FT-IR studies of the specific interaction of amines and an epoxy adhesive with GPS treated aluminium surfaces. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 23, p. 155-163, London, 2003.

JUÁREZ-HERNÁNDEZ, J.; ZAVALA-SOTO, M. E.; BIBBINS-MARTÍNEZ, M.; DELGADO-MACUIL, R.; DÍAZ-GODINEZ, G.; ROJAS-LOPES, M. FTIR Spectroscopy applied in Remazol Blue dye oxidation by laccases. **AIP Conference Proceedings**, v. 992, p. 1253-1257, College Park, 2008.

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**, v. 98, p. 1405-1410, Amsterdam, 2007.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, n. 01, p. 78-82, São Paulo, 2002.

KURNIAWAN, A.; SUTIONO, H.; INDRASWATI, N.; ISMADJI, S. Removal of basic dyes in binary system by adsorption using rarasaponin-bentonite: revisited of extended Langmuir model. **Chemical Engineering Journal**, v. 189-190, p. 264-274, Amsterdam, 2012.

LODDER, J. The yeast: a taxonomic study. North Holland Publish Company, 2ed, Amsterdam, 1970, 1385 p.

MA, T.H.; XU, C.; MCCONNELL, H.; RABAGO, E.V.; ARREOLA, G.A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleous assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research**, v. 334, p. 185-195, Amsterdam, 1995.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de sistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, Rio de Janeiro, 2008.

MAGDALENA, C. P. **Adsorção de corante reativo Remazol vermelho RB de solução aquosa usando zeólitas de cinzas de carvão e avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia similis***. 2010. 151f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear – Materiais) – IPEN, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo.

MANAL, M. A.; EL-NAGGAR, S.; EL-AASAR, A.; KHLOOD, I. B. Bioremediation of crystal violet using air bubble bioreactor packed with *Pseudomonas aeruginosa*. **Water Research**, v. 39, p. 5045-5054, London, 2005.

MANE, U. V.; GURAV, P. N.; DESHMUKH, A. M.; GOVINDWAR, S. P. Degradation os textile dye reactive navy – blue Rx (Reactive Blue 59) by an isolated Actinomycete *Streptomyces krainskii* SUK – 5. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 04, n. 02, p. 1-5, Kuala Lumpur, 2008.

MARCANTI-CONTATO, I.; CORSO, C. R.; OLIVEIRA, J. E. Induction of physical paramorfogenesis in *Aspergillus* sp. **Revista de Microbiologia**, v. 28, p. 65-67, Rio de Janeiro, 1997.

MARTINS, M. A. M.; LIMA, N.; SILVESTRE, A. J. D.; QUEIROZ, M. J. Comparative studies of fungal degradation of single or mixed bioaccessible reactive azo dyes. **Chemosphere**, v. 52, p. 967-973, Kidlington, 2003.

MCLAUGHLIN, J. L.; COLMAN-SAIZARBITORIA, T.; ANDERSON, J. E. Tres bioensayos simples para quimicos de productos naturales. **Revista de la Sociedad Venezolana de Química**, v. 18, p. 13-18, Caracas, 1995.

MÉNDEZ-PAZ, D.; ONIL, F.; LEMA, J. M. Anaerobic treatment of azo dye Acid Orange 7 under batch conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, p. 264-272, Amsterdam, 2005.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp : a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 45, p. 31-34, Victoria Island, 1982.

MYCOBANK, International Mycological Association. Disponível em: <<http://www.mycobank.org>>. Acesso em nov. 2012.

MOORE, W. J. **Físico-Química**. Rio de Janeiro: Universidade de São Paulo, 1968. 1001p.

MURUGESAN, K.; DHAMIJA, A.; NAM, I.; KIM, Y.; CHANG, Y. Decolourization of reactive black 5 by lacase: Optimization by response surface methodology. **Dyes and Pigments**, v. 75, p. 176-184, Kidlington, 2007.

NIETO, I. J. R.; SALAMA, A. M.; CATAÑO, J. E. CHEGWIN, C. Determinación de la toxicidade de *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Paxillus involutus* sobre *Artemia salina*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 25, p. 186-187, Barcelona, 2008.

NUNES, B. S.; CARVALHO, F. D.; GUILHERMINO, L. M.; STAPPEN, G. V. Use the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 453-462, Kidlington, 2006.

OLUKANNI, O. D.; OSUNTOKI, A. A.; KALYANI, D. C. GBENLE, G. O. GOVINDWAR, S. P. Decolorization and biodegradation of Reactive Blue 13 by *Proteous mirabilis* LAG. **Journal of Hazardous Materials**, v. 184, p. 290-298, Amsterdam, 2010.

PACHHADE, K.; SANDHYA, S.; SWAMINATHAN, K. Ozonation of reactive dye, Procion Red MX-5B catalyzed by metal ions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, p. 313-318, Amsterdam, 2009.

PALÁCIO, S. M.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; OLIVEIRA, C. C.; BORBA, F. H.; SILVA JR, F. G. Toxicity assessment from electro-coagulation treated-textile

dye wastewaters by bioassays. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, p. 330-337, Amsterdam, 2009.

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

PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, I. G.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395-400, Jena, 2001.

PASZCZYNSKI, A.; CRAWFORD, R. L. Potential for bioremediation of xenobiotic compounds by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Biotechnology Progress**, v. 11, n. 04, p. 368-379, Hoboken, 1995.

PATEL, H.; VASHI, R. T. Adsorption of Crystal Violet dye onto tamarind seed powder. **E-journal of Chemistry**, v. 7, n. 3, p. 975-984, Adirampattinam, 2010.

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, São Paulo, 2005.

PLATTE, E. B.; AMIGO, A. A.; OLIVEIRA, F. F.; RIBEIRO, G. F. Avaliações da toxicidade e biodegradabilidade do fluorene R2 (fluoresceína). **Comunicação Técnica**. Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo A. Miguez Mello, Petrobrás, Rio de Janeiro, 2002.

POLUNIN, K. E.; SOKOLOVA, N. P.; GORBUNOV, A. M.; BULGAKOVA, R. A.; POLUNINA, I. A. FTIR Spectroscopic studies of interactions of stilbenes with silicon dioxide. **Protection of Metals**, New York, v. 44, n. 4, p. 352-357, Moscow, 2008.

RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. **Mutagênese Ambiental**. 1 ed. Brasil: ULBRA, 2003, 355 p.

RIBEIRO, C. M. R.; SOUZA, N. A. Esquema geral para elucidação de substâncias orgânicas usando métodos espectroscópico e espectrométrico. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 1026-1031, São Paulo, 2007.

ROBINSON, T.; McMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with proposed alternative. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 246-255, Amsterdam, 2001.

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.

ROOSTAEI, N.; TEZEL, F. H. Removal of phenol from aqueous solution by adsorption. **Journal of Environmental Management**, v. 70, p. 157-164, London, 2004.

SALEM, V. Corantes na indústria têxtil, uma abordagem ecológica. **Química Têxtil**, v. 28, p. 16-21, São Paulo, 1995.

SÁNCHEZ-FORTÚN; S.; BARAHONA, M. V.; Toxicity and characterization of cholinesterase-inhibition induced by diisopropyl fluorophosphate in *Artemia salina* larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 775-780, Maryland Heights, 2009.

SANDHYA, S. Biodegradation of azo dyes under anaerobic condition: role of azoreductase. **Biodegradation of azo dyes, The handbook of Environmental Chemistry**, v.09, p. 39-57, Nicosia, 2010.

SANDHU, 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, Amsterdam, 1991.

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, New York, 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 nov, 2012.

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

SIVASAMY, A.; SUNDARABAL, N. Biosorption of na azo dye by *Aspergillus niger* and *Trichoderma* sp. fungal biomasses. **Current Microbiology**, v. 61, n.01, Secaucus, 2010.

SO, C. M.; CHENG, M. Y.; YU, J. C.; WONG, P. K. Degradation of azo dye Procion Red MX-5B by photocatalytic oxidation. **Chemosphere**, v. 46, p. 905-912, Kidlington, 2002.

SOARES, J. L. **Remoção de corantes têxteis por adsorção em carvão mineral ativado com alto teor de cinzas**. 1998. 83 f. Tese (Mestrado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1998.

SOBRERO, M. S.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. In: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. **Ensayos Toxicológicos para la evaluacion de**

substancias químicas em agua y suelo. 1 ed, Instituto Nacional de Ecologia, Semarnat, México, p. 55-68, 2008.

SOLÍS, M.; SOLÍS, A.; PEREZ, H. I.; MANJARREZ, N.; FLORES, M. Microbial decolourization of azo dyes: a review. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 1723-1748, London, 2012.

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, Rio de Janeiro, 2006.

SOUZA, S. M. A. G. U.; FORGIARINI, E.; SOUZA, A. A. U. Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP). **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, p. 1073-1078, Amsterdam, 2007.

STAMBOLOVA, I.; SHIPOCHKA, M.; BLASKOV, V.; LOUKANOV, A.; VASSILEV, S. Sprayed nanostructured TiO₂ films for efficient photocatalytic degradation of textile azo dye. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.117, p. 19-26, Lausanne, 2012.

TELKE, A. A.; KADAM, A. A.; JAGTAP, S. S.; JADHAV, J. P.; GOVINDWAR, S. P. Biochemical characterization and potential for textile dye degradation of blue laccase from *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 15, n. 4, p. 696-703, Secaucus, 2010.

TOLEDO, R. A. S., Tecnologia da Reciclagem. **Química Têxtil**, p.8-14, São Paulo,2004.

UMBUZEIRO, G.A.; ROUBICEK, D.A.; RECH, C.M.; SATO, M.I.Z.; CLAXTON, L.D. Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the *Salmonella* assay and different water extraction procedures. **Chemosphere**, v. 54, p. 1589-1597, Kidlington, 2004.

VASQUES, A. R. **Caracterização e aplicação de adsorventes para remoção de corantes de efluentes têxteis em batelada e colunas de leito fixo**. 2008. 153 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico da Universidade de Santa Catarina, Florianópolis.

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

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

VOGEL, H. J. A convenient growth medium for *Neurospora* (Medium N). **Microbial Genetics Bulletin**, Columbus, v. 13, p. 42-43, 1956.

WANG, W.; FREEMARK, K. The use of the plants for environmental monitoring and assessment. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 30, p. 289-301, Maryland Heights, 1995.

WANG, L.; YAN, J.; HARDY, W.; MOSLEY, C.; WANG, S.; YU, H. Light-induced mutagenicity in *Salmonella* TA102 and genotoxicity/cytotoxicity in human T-cells by 3,3'-dichlorobenzidine: a chemical used in the manufacture of dyes and pigments and in tattoo inks. **Toxicology**, v. 207, p. 411-418, Amsterdam, 2005.

WHARFE, E. S.; JARVIS, R. M.; WINDER, C. L.; WHITELEY, A. S.; GOODACRE, R. Fourier transform infrared spectroscopy as a metabolite fingerprinting tool for monitoring the phenotypic changes in complex bacterial communities capable of degrading phenol. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 12, p. 3253-3263, Chichester, 2010.

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, v.22, p. 161-187, New York, 2003.

YI, H.; MENG, Z. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. **Mutation Research**, v. 537, p. 109-114, Amsterdam, 2003.

ZAGATTO, 2008. Ecotoxicologia. In. ZAGATTO, P.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações**. 2 ed, São Carlos: RiMa, p. 1-13, 2008.