

FELIPE DIAS PACHECO VIEIRA

DESCOLORAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS POR CIANOBACTÉRIAS

Monografia apresentada à Comissão do Trabalho de Formatura do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental do Instituto de Geociências e Ciências Exatas – UNESP, Campus de Rio Claro (SP), como parte das exigências para o cumprimento da disciplina Trabalho de Formatura no ano letivo de 2007.

Orientadora: Maria Margarita Torres Moreno

Co-orientadora: Marli de Fátima Fiore

Rio Claro (SP)
2007

FELIPE DIAS PACHECO VIEIRA

DESCOLORAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS POR
CIANOBACTÉRIAS

ORIENTADOR: MARIA MARGARITA TORRES MORENO

CO-ORIENTADOR: MARLI DE FÁTIMA FIORE

*Monografia apresentada à Comissão do Trabalho de
Formatura do Curso de Graduação em Engenharia
Ambiental do Instituto de Geociências e Ciências Exatas
– UNESP, Campus de Rio Claro (SP), como parte das
exigências para o cumprimento da disciplina Trabalho de
Formatura no ano letivo de 2007.*

Rio Claro (SP)
2007

589.9 Vieira, Felipe Dias Pacheco
V658d Descoloração e degradação de corantes têxteis por
cianobactérias / Felipe Dias Pacheco Vieira. – Rio Claro:
[s.n.], 2007
50 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão (bacharelado – Engenharia
Ambiental) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro
Orientador: Maria Margarita Torres Moreno
Co-orientador: Marli de Fátima Fiore

1. Bacteriologia. 2. Espectrofotômetro.
3. Biorremediação. I. Título

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

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para conseguir alcançar este momento.

Aos meus familiares por todo o apoio e carinho que demonstraram por mim.

A todos os moradores da República Milharal, pelo companheirismo e amizade.

Aos amigos de turma, que passaram por todas as adversidades encontradas nesses cinco anos de curso, que assim como eu estão começando a trilhar um novo caminho em suas vidas.

A todos os amigos de laboratório, que me ajudaram chegar até aqui.

Agradeço a minha namorada por toda ajuda e incentivo.

As minhas orientadoras, Estela, Marli e Margarita, que são grandes responsáveis por esse trabalho ter ocorrido.

A todos os meus professores na graduação, que me estimularam cada um à sua maneira, a concretizar mais essa etapa em minha vida.

“Se um dia tudo lhe parecer perdido, lembre-se de que você nasceu sem nada, e que tudo que conseguiu foi através de esforços e os esforços nunca se perdem, somente dignificam as pessoas”

(Charles Chaplin)

Dedico esta monografia a todos os responsáveis por ela ter acontecido.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial das cianobactérias isoladas de diferentes ambientes em descolorir onze diferentes tipos de corantes têxteis. Para preparo de inóculos foram utilizados 50 ml de meio BG-11 para as cianobactérias *Leptolyngbia* CENA103, *Leptolyngbia* CENA104 e *Phormidium autumnale* UTEX1580 e meio SWBG-11 para *Phormidium* sp., *Leptolyngbya* sp. e *Synechococcus* sp. Tubos de ensaio contendo 10 ml de meio líquido e 0,02% de cada corante (remazol, índigo blue, azul indantreno RCL, azul drimaren CL-R, azul dispersol C-2R, vermelho drimaren CL-5B, vermelho dispersol C-4G, vermelho indantreno FBB, amarelo drimaren CL-R, amarelo palanil 3G e amarelo indantreno 5GF) foram inoculados com as cianobactérias. Foram utilizadas leituras em espectrofotômetro para verificar a absorbância máxima de cada corante e a porcentagem de descoloração e também cromatografia em camada delgada (CCD). Os resultados mostraram que todas as cianobactérias testadas foram capazes de descolorir mais que 50% de algum corante. O presente estudo confirmou a capacidade das cianobactérias em descolorir e possivelmente degradar corantes têxteis estruturalmente diferentes, sugerindo a possibilidade de sua aplicação em estudos de biorremediação. Esses dados são promissores, e posteriormente poderá ser estudado os produtos de degradação destes corantes e sua toxicidade.

Palavras chaves: cianobactérias, descoloração, corantes têxteis, CCD.

Abstract

The objective of the present work was to investigate the potential of cyanobacteria isolated from different environments in decolorizing eleven different types of textile dyes. For inoculum preparation 50 ml of BG-11 medium were used for the cyanobacteria *Leptolyngbia* CENA103, *Leptolyngbia* CENA104 and *Phormidium autumnale* UTEX1580 and 50 ml of SWBG-11 medium for *Phormidium* sp., *Leptolyngbya* sp. and *Synechococcus* sp. Test tubes containing 10 ml of liquid medium and 0.02% of each dye (remazol, indigo blue, indanthrene blue RCL, drimaren blue CL-R, dispersol blue C-2R, drimaren red CL-5B, dispersol red C-4G, indanthrene red FBB, drimaren yellow CL-R, palanil yellow 3G and indanthrene yellow 5GF) were inoculated with cyanobacteria. A spectrophotometer was used to verify the maximum absorbance of each dye and the percentage of decolorization and also thin layer chromatography (TLC). The results showed that all the tested cyanobacteria were capable to remove more than 50% of some dyes. The present study confirmed the capacity of cyanobacteria in decolorize and possibly degrade structurally different textile dyes, suggesting the possibility of their application in bioremediation studies. The data are promising, and will lead to further studies of dye degradation and its toxicity.

Key words: cyanobacteria, decolorization, textile dyes, TLC.

SUMÁRIO

	Páginas
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
3. REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1. Características gerais de cianobactérias	3
3.2. Corantes	4
3.3. Tipos de corantes	6
3.4. Biodegradação de corantes	8
4. METODOLOGIA E ETAPAS DE TRABALHO	10
4.1. Cianobactérias utilizadas	10
4.2. Corantes utilizados	13
4.3. Análise de microcistinas pelo ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA)	17
4.4. Teste com corantes	17
4.5. Absorbância máxima de cada corante	19
4.6. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	19
4.7. Teste com o Índigo BANN 30 (em solução aquosa 30%)	20
4.8. Teste com o corante Remazol Brilliant Blue R – RBBR	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.1. Cultivo de cianobactérias	21
5.2. Corantes	22
5.3. Análise de microcistinas	22
5.4. Absorbância máxima de cada corante	23
5.5. Teste com corantes	23
5.6. Espectro máximo de absorbância para os corantes e a redução após vinte e seis dias	32
5.7. Cromatografia em Camada Delgada	38
5.8. Teste com o Índigo BANN 30 (em solução aquosa 30%)	42
5.9. Teste com o corante Remazol Brilliant Blue R – RBBR	42
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

LISTA DE TABELAS

Páginas

Tabela 1. Linhagens de cianobactérias utilizadas neste estudo	11
Tabela 2. Meio de cultura BG-11 usado no cultivo das cianobactérias	12
Tabela 3. Meio de cultura SWBG-11 usado no cultivo das cianobactérias	13
Tabela 4. Varredura em UV (400 a 900 nm) para obtenção da absorbância máxima de cada corante	23
Tabela 5. Rfs do sobrenadante da CENA 135 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm	39
Tabela 6. Rfs do sobrenadante da CENA 134 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm	40
Tabela 7. Rfs do sobrenadante da CENA 136 observados visualmente	40
Tabela 8. Rfs do sobrenadante da CENA 104 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm	40
Tabela 9. Rfs do sobrenadante da CENA 103 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm	41
Tabela 10. Rfs do sobrenadante da UTEX 1580 observados visualmente e sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm	41

LISTA DE FIGURAS

Páginas

Figura 1. Exemplo de uma estrutura química característica de um grupo cromóforo de um azocorante	6
Figura 2. Estrutura química da molécula de remazol	14
Figura 3. Estrutura química da molécula de índigo	14
Figura 4. Estrutura química da molécula de azul indantreno	15
Figura 5. Estrutura química da molécula de azul drimaren	15
Figura 6. Estrutura química da molécula de vermelho drimaren	16
Figura 7. Estrutura química da molécula de vermelho dispersol	16
Figura 8. Estrutura química da molécula de vermelho indantreno	17
Figura 9. Estrutura química da molécula de amarelo palanil	17
Figura 10. Meio de cultura líquido, com os corantes e as cianobactérias	18
Figura 11. Meio de cultura sólido, com os corantes e as cianobactérias	19
Figura 12. Cultivo de cianobactérias em meio líquido	21
Figura 13. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 104 para todos os corantes testados	24
Figura 14. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 103 para todos os corantes testados	24
Figura 15. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de <i>Phormidium autumnale</i> UTEX 1580 para todos os corantes testados	25
Figura 16. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de <i>Phormidium</i> sp CENA 135 para todos os corantes testados	25
Figura 17. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 134 para todos os corantes testados	26
Figura 18. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de <i>Synechococcus</i> sp. CENA 136 para todos os corantes testados	26
Figura 19. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 134	27
Figura 20. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (SWBG-11 sem inóculo + corante); B) <i>Phormidium</i> sp. CENA 135	28
Figura 21. Descoloração de amarelo indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Phormidium</i> sp. CENA 135	28

Figura 22. Descoloração de amarelo indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 134	28
Figura 23. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 134	29
Figura 24. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Phormidium</i> sp. CENA 135	29
Figura 25. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 103	29
Figura 26. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Phormidium</i> sp. UTEX 1580	30
Figura 27. Descoloração de vermelho indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Phormidium</i> sp. UTEX 1580	30
Figura 28. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 104	30
Figura 29. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Phormidium</i> sp. UTEX 1580	31
Figura 30. Descoloração de amarelo indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) <i>Phormidium</i> sp. UTEX 1580	31
Figura 31. Controle de fotodegradação do corante índigo ao final de 26 dias	32
Figura 32. Espectro máximo de absorbância do corante remazol	32
Figura 33. Espectro máximo de absorbância do corante índigo	33
Figura 34. Espectro máximo de absorbância do corante azul indantreno	33
Figura 35. Espectro máximo de absorbância do corante azul drimaren	34
Figura 36. Espectro máximo de absorbância do corante azul dispersol	34
Figura 37. Espectro máximo de absorbância do corante vermelho drimaren	35
Figura 38. Espectro máximo de absorbância do corante vermelho dispersol	35
Figura 39. Espectro máximo de absorbância do corante vermelho indantreno	36
Figura 40. Espectro máximo de absorbância do corante amarelo drimaren	36
Figura 41. Espectro máximo de absorbância do corante amarelo palanil	37
Figura 42. Espectro máximo de absorbância do corante amarelo indantreno	37
Figura 43. CCD do sobrenadante de <i>Synechococcus</i> sp. CENA 136 inoculada com o corante vermelho dispersol	38
Figura 44. CCD do sobrenadante de <i>Phormidium autumnale</i> UTEX 1580 inoculada com o corante azul dispersol	39
Figura 45. Descoloração do índigo ao longo dos vinte seis dias	42

Figura 46. <i>P. autumnale</i> UTEX 1580 em meio BG-11 líquido com Remazol 0,02%	43
Figura 47. <i>Phormidium autumnale</i> em meio BG-11 sólido com 0,005% de Remazol	43
Figura 48. <i>Phormidium autumnale</i> em meio BG-11 sólido com 0,01% de Remazol	43
Figura 49. <i>Phormidium autumnale</i> em meio BG-11 sólido com 0,02% de Remazol	44
Figura 50. <i>Phormidium autumnale</i> em meio BG-11 sólido com 0,04% de Remazol	44

SIGLAS

- 1. RBBR** → Remazol Brilliant Blue R
- 2. ETE** → Estação de Tratamento de Esgoto
- 3. UV** → Ultravioleta
- 4. CCD** → Cromatografia em Camada Delgada
- 5. ELISA** → Ensaio Imunossorvente Ligado à Enzima

1. INTRODUÇÃO

As cianobactérias têm um amplo e variado impacto dentro dos ecossistemas naturais e podem atuar causando efeitos benéficos e nocivos à saúde dos seres humanos e animais. Alguns desses organismos oxigênicos fotoautotrófos são importantes produtores primários de nitrogênio combinado (HASELKORN; BUIKEMA, 1992) e algumas espécies possuem alto valor nutricional (DILLON et al., 1995). Algumas também são de importância econômica (PATTERSON, 1996). Os representantes desse grupo têm distribuição abrangente nos ecossistemas naturais, desenvolvem-se em ambientes dulcícolas, marinhos e terrestres. Algumas espécies colonizam locais de condições extremas como regiões árticas, fontes termais e de pouca ou nenhuma iluminação (CASTENHOLZ, 1976; DOR; DAMIN, 1996; SKULBERG, 1995; WHITTON; POTTS, 2000). A diversidade das cianobactérias é também refletida pela ampla variedade de aspectos estruturais e funcionais de sua morfologia celular e por variações em suas estratégias metabólicas (CARR; WHITTON, 1973; RIPPKA, 1988; CASTENHOLZ; WATERBURY, 1989).

A diversidade metabólica e estrutural das cianobactérias reflete-se não apenas na habilidade de sobrevivência em tamanha variedade de ambientes, como também de sintetizar diferentes substâncias bioquimicamente ativas que podem funcionar como inibidores enzimáticos, herbicidas, antimicóticos, inibidores de apetite, antimaláricos e imunossupressores (MOORE, 1996; NAMIKOSHI; RINEHART, 1996; BURJA et al., 2001; ETCHEGARAY et al., 2004).

Como foi relatado em diversos trabalhos, as cianobactérias possuem uma grande habilidade de remover metais pesados do meio, como o cádmio (MATSUNAGA et al., 1999; MOHAMED, 2001), o manganês (MOHAMED, 2001), o cromo (KHATTAR et al., 1999) e o níquel (ASTHANA et al., 1995). Além de substâncias como o fenantreno (NARRO et al., 1992a), o naftaleno (NARRO et al., 1992b) e o herbicida lindane (KURITZ; WOLK, 1995).

Mesmo com sua vasta distribuição no ambiente, e com alguns estudos mostrando a habilidade destes microrganismos removerem metais pesados do meio, o papel das cianobactérias na degradação de compostos recalcitrantes e corantes, ainda é escasso.

Devido à sua própria natureza, os corantes são altamente detectáveis a olho nu, sendo visíveis em alguns casos mesmo em concentrações tão baixas quanto 1 ppm (1 mg/L). Esta característica apresenta vantagens e desvantagens, pois uma pequena quantidade lançada em efluentes aquáticos pode causar uma acentuada mudança de coloração dos rios, mas pode também ser facilmente detectada pelo público e autoridades que controlam os assuntos ambientais. Deste modo, métodos para remoção da cor das águas de rejeito têm recebido

enorme atenção (ANLIKER, 1978). De um modo geral, a efetividade da remoção da cor pode ser avaliada por um padrão espectrofotometricamente permitido, definido na literatura (COOPER, 1993), o qual pode ser usado para controlar a diluição do corante nas águas dos rios. Assim, através da comparação direta entre absorbância da amostra de um efluente e o padrão de qualidade requerido para coloração em rios, é possível avaliar o grau de contaminação previsto. Entretanto, a níveis não detectáveis em escala espectrofotométrica, o problema é mais sério e envolve aspectos tais como acumulação e bio-disponibilidade.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial das cianobactérias isoladas de diferentes ambientes em descolorir e degradar onze diferentes tipos de corantes têxteis que foram cedidos pela indústria têxtil Toyobo do Brasil Ltda., na forma em que ela os adquire.

Cianobactérias isoladas de manguezal (Ilha do Cardoso – local não poluído), lagoa de estabilização (Cajati-SP) e uma da coleção de culturas UTEX (aquário de peixe) foram selecionadas para verificar sua capacidade na descoloração e degradação destes corantes.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Características gerais de cianobactérias

As cianobactérias compreendem um dos maiores, mais diverso ecologicamente, bem sucedido e importante grupo de bactérias na Terra (WILMOTTE, 1994). Elas constituem um grupo filogeneticamente coerente de microrganismos capaz de realizar fotossíntese com liberação de oxigênio, tendo como modo nutricional dominante o autotrófico (CASTENHOLZ; WATERBURY, 1989). Necessitam apenas de água, dióxido de carbono, substâncias inorgânicas e luz para sua sobrevivência. Sua natureza é tipicamente fotossintética aeróbica, mas algumas espécies são heterotróficos facultativos, crescem no escuro e na presença de certos substratos orgânicos (SMITH, 1983; STAL; MOEZELAAR, 1997). Outras espécies em condições anaeróbicas utilizam o sulfeto como doador de elétrons para a fotossíntese (COHEN et al., 1986).

A habilidade das cianobactérias de realizar fotossíntese com liberação de oxigênio, acumular carbono e fixar nitrogênio, faz com que elas desempenhem importante papel no ciclo desses elementos (CARR; WHITTON, 1973; FOGG et al., 1973). Esses organismos também têm significância evolutiva em relação às plantas, pois é cada vez mais aceita a teoria de que um antepassado deles deu origem, por endossimbiose, aos cloroplastos das plantas (RAVEN; ALLEN, 2003). Outra importante contribuição é o seu papel ecológico, fundamental como produtores primários e, portanto, como base de cadeia alimentar nos ecossistemas (CARR; WHITTON, 1973; FOGG et al., 1973).

As cianobactérias apresentam uma grande variedade de formas e arranjos, podem apresentar-se como cocos unicelulares, bacilos, podem ser filamentosas e filamentosas ramificadas multicelulares (WHITTON; POTTS, 2000). Não possuem flagelos, mas as espécies filamentosas geralmente possuem movimento deslizante e podem migrar através de superfícies úmidas. O tamanho das diversas espécies de cianobactérias varia entre 1 a 100 μm (HOICZYK; BAUMEISTER, 1995). Elas podem estar presentes no meio em vida livre, na forma de florações planctônicas ou densas turfas, ou ainda em conjunto com outros tipos de organismos como fungos, algas e outras bactérias formando os líquens e mantos microbianos (STAL, 1995; OLIVER; GANF, 2000; STENROOS et al., 2006).

As cianobactérias têm uma longa história evolutiva na face da Terra. Evidências paleontológicas, geológicas e geoquímicas isotópicas indicam que esses organismos já existiam a aproximadamente 3500 milhões de anos (SCHOPF, 1996). Esses microrganismos foram provavelmente os primeiros produtores primários de matéria orgânica a liberarem oxigênio elementar na atmosfera primitiva. A longa história evolutiva das cianobactérias é

tida como a razão de sua abundante ocorrência nos mais diversos tipos de habitat modernos (SCHOPF, 1994).

Elas habitam todos os tipos de ecossistemas bem iluminados, normalmente em pH neutro-alcálico, mas algumas espécies são capazes de sobreviver em condições ambientais estressantes como areia e rocha de desertos, águas termais (“hot springs”), lagos do Ártico e Antártida e ambientes eutrofizados resultante da ação antrópica (CASTENHOLZ, 1976; DOR; DANIN, 1996; SKULBERG, 1996; WHITTON; POTTS, 2000).

Atualmente, tem-se destacado a característica tóxica que algumas espécies de cianobactérias possuem, principalmente em decorrência de acidentes com intoxicação de humanos (AZEVEDO, 1996). Todavia, os benefícios desses organismos vão desde o próprio papel ecológico que o grupo desempenha, até possibilidades de aplicação biotecnológica devido ao potencial para uso em biorremediação, biodegradação, construção de biosensores e para desenvolvimento de produtos farmacológicos (SKULBERG, 1995; KREITLOW; MUNDT; LINDEQUIST, 1999; CHAY; SURIF; HENG, 2005; SHASHIREKHA; PANDI; SWAMY, 2005).

A possível utilização das cianobactérias na degradação de compostos xenobióticos (substâncias químicas produzidas pelo homem, que após cumprirem sua função, invariavelmente, são descartadas no ambiente alterando o equilíbrio dos ecossistemas e pondo em risco à saúde humana) vem sendo estudada, principalmente na descontaminação de águas. Por ser um organismo fotossintético não necessita de adição de fonte de carbono, sendo uma cultura de fácil manutenção. Além disso, nas Estações de Tratamento de Esgotos já tem sido utilizada no tratamento terciário para remover nitrogênio e fósforo, e poderia ser usada para remover poluentes e metais (HIROOKA et al., 2003).

3.2. Corantes

Até a metade do século XIX, todos os corantes eram derivados de folhas, ramos, raízes, frutos ou flores de várias plantas e de substâncias extraídas de animal. Embora a indústria de corantes têxteis tenha se originado na Europa desde o século XVI, o primeiro corante sintético foi descoberto apenas em 1856 na Inglaterra. Com a intensa inovação tecnológica ao redor de 1915, a Alemanha manteve o monopólio sobre a produção de corante sintético até a Segunda Guerra Mundial. Hoje a indústria de corantes dos Estados Unidos é a maior fonte exportadora destes produtos, colocando no mercado aproximadamente 2000 tipos diferentes de corantes sintéticos (GUARATINI e ZANONI, 2000).

Existem cerca de 8.000 produtos químicos utilizados como corantes e cerca de 100.000 produtos comerciais. Estima-se que 7×10^5 toneladas de corantes são produzidas anualmente

no mundo (BANAT et al., 1996). O Brasil produz 60% das substâncias que consome e também exporta cerca de 4.000 toneladas. A demanda maior é por corantes ácidos e reativos, resultante da grande produção de couro e algodão no país (GUARATINI e ZANONI, 2000; DELLAMATRICE, 2005).

Os corantes constituem uma parte essencial para a civilização, pois fazem parte da composição de muitos produtos utilizados por ela, mas podem causar poluições ambientais, visuais (alterando os ciclos biológicos); além de serem recalcitrantes, carcinogênicos ou mutagênicos.

Em sentido amplo, o termo corante designa toda e qualquer substância que dá cor, tingem, pinta. Em química, corante denomina apenas as substâncias de caráter aromático, capazes de colorir irreversivelmente um suporte têxtil (ROSOLEN, 2004).

Os corantes são divididos em dois grandes grupos: os orgânicos e os inorgânicos, sendo que esses por sua vez são subdivididos em compostos sintéticos e naturais.

Atualmente mais de 90% dos corantes empregados são sintéticos. A maior parte dos corantes fabricados vai para a indústria têxtil; mas as indústrias de artefatos de couro ou de papel, indústrias alimentícias, de cosméticos, tintas e plásticos também são usuários importantes.

Dentre os resíduos industriais, os corantes provenientes das indústrias têxteis são os mais difíceis de serem tratados (YUSHU et al., 2001). Isto ocorre porque os corantes possuem origem sintética e estrutura aromática complexa, o que faz dos mesmos, produtos estáveis e de difícil biodegradação (FEWSON, 1998; SESHADRI et al., 1994).

As moléculas dos corantes utilizados pelas indústrias têxteis são constituídas por um grupo cromóforo, que é uma estrutura aromática que absorve radiação visível. Existem aproximadamente 12 classes de grupos cromóforos (dentre elas estão a antraquinona, o nitro e o azo), sendo que destes, o mais utilizado corresponde à família dos azocorantes (MORAIS, 1999, KUNZ *et al*, 2002). Sendo assim a molécula do corante utilizado para o tingimento da fibra têxtil pode ser dividida em duas partes principais, o grupo cromóforo e a estrutura responsável pela fixação à fibra. Existem atualmente vários tipos de corantes classificados segundo sua fixação, como, por exemplo, ácidos, diretos, básicos, de enxofre e reativos, sendo este último o mais utilizado em nível mundial (KUNZ et al, 2002).

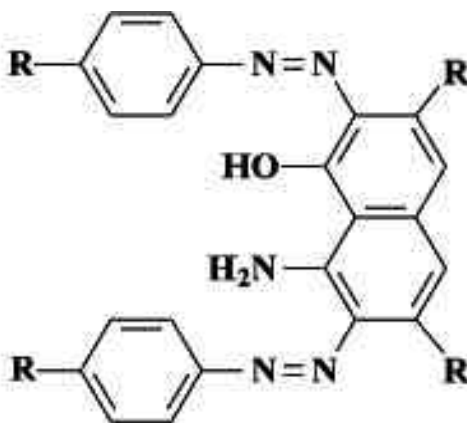


Figura 1. Exemplo de uma estrutura química característica de um grupo cromóforo de um azocorante (LIMA, 2004; KUNZ et al., 2002).

3.3. Tipos de corantes

Os corantes podem ser classificados de acordo com sua estrutura química (antraquinona, azo, etc.), os quais incluem os reativos, ácidos, básicos, dispersos, azóicos, diretos, de cuba, de enxofre, pré-metallizados, branqueadores, entre outros. Os radicais fenil e naftil dos corantes são substituídos por grupos funcionais: amino ($-NH_2$); cloro ($-Cl$); hidróxi ($-OH$), nitro ($-NO_2$) e sais de sódio do ácido sulfônico ($-SO_3Na$).

Corantes Diretos - Este grupo de corantes caracteriza-se como compostos solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose (algodão, viscose, etc.) através de interações de Van der Waals. Esta classe de corantes é constituída principalmente por corantes contendo mais de um grupo azo (diazó, triazo e etc.) ou pré-transformados em complexos metálicos. A grande vantagem desta classe de corantes é o alto grau de exaustão durante a aplicação e conseqüente diminuição do conteúdo do corante nas águas de rejeito.

Corantes Azóicos - são compostos coloridos, insolúveis em água, que são realmente sintetizados sobre a fibra durante o processo de tingimento.

Corantes Ácidos - O termo corante ácido corresponde a um grande grupo de corantes aniônicos portadores de um a três grupos sulfônicos. Estes grupos substituintes ionizáveis tornam o corante solúvel em água. Estes corantes caracterizam-se por substâncias com estrutura química baseada em compostos azo, antraquinona, triarilmetano, azina, xanteno, ketonimina, nitro e nitroso, que fornecem uma ampla faixa de coloração e grau de fixação.

Corantes à Cuba - É uma grande e importante classe de corantes baseada nos índigos, tioindigóides e antraquinóides. Eles são aplicados praticamente insolúveis em água, porém durante o processo de tintura eles são reduzidos com ditionito, em solução alcalina, transformando-se em um composto solúvel (forma leuco). Posteriormente, a subsequente oxidação pelo ar, peróxido de hidrogênio, etc., regenera a forma original do corante sobre a fibra. Neste tipo de corante, o grupo carbonila pode estar situado no grupo etilênico ou em subunidades alicíclicas, onde $n = 1$: índigo, $n = 2$: antraquinona, $n = 4$: pirantrona, etc. A maior aplicação deste tipo de corante tem sido a tintura de algodão, embora devido às suas excelentes propriedades de fixação, têm sido utilizados também em outros materiais. Entretanto, como a produção química de hidrossulfito de sódio pode causar problemas ecológicos, o custo desta classe de corantes tem sido bastante alto.

Corantes de Enxofre - É uma classe de corantes que após a aplicação se caracterizam por formar compostos macromoleculares com pontes de polissulfetos ($-S_n-$), os quais são altamente insolúveis em água. Em princípio são aplicados após pré-redução em banho de ditionito de sódio que lhes confere a forma solúvel, são reoxidados subsequenteiramente sobre a fibra pelo contato com ar. Estes corantes usualmente apresentam resíduos altamente tóxicos.

Corante Dispersivo - Constitui uma classe de corantes insolúveis em água. Esta classe de corantes tem sido utilizada principalmente para tinturas de fibras sintéticas, tais como: fibras de celulose, nylon, polyester e poliacrilonitrila.

Corantes Pré-Metalizados - Os corantes são caracterizados pela presença de um grupo hidroxila ou carboxila na posição orto em relação ao cromóforo azo, permitindo a formação de complexos com íons metálicos. Exemplos mais comuns deste grupo são os complexos estáveis de cromo: corante (1:1) ou (1:2). A desvantagem ecológica deste tipo de corante está associada ao alto conteúdo de metal (cromo) nas águas de rejeito.

Corantes Branqueadores - As fibras têxteis no estado bruto por serem compostas primariamente de materiais orgânicos, apresentam como característica uma aparência amarelada por absorver luz particularmente na faixa de baixo comprimento de onda. A diminuição dessa tonalidade tem sido diminuída na indústria ou na lavanderia pela oxidação da fibra com alvejantes químicos ou utilizando os corantes brancos também denominados de branqueadores ópticos ou mesmo branqueadores fluorescentes. Estes corantes apresentam grupos carboxílicos, azometino ($-N=CH-$) ou etilênicos ($-CH=CH-$) aliados a sistemas

benzênicos, naftalênicos, pirênicos e anéis aromáticos que proporcionam reflexão por fluorescência na região de 430 a 440 nm quando excitados por luz ultravioleta.

3.4. Biodegradação de corantes

Os tipos de tratamentos de resíduos de corantes são:

- Físicos: sedimentação, filtração/gradeamento, tratamento térmico, destilação, adsorção e resfriamento.
- Químicos: neutralização, troca iônica, oxidação, redução e catálise.
- Físico-químicos: coagulação/floculação, extração por solventes, incineração, osmose e eletrólise.
- Biológicos: tratamento aeróbio, lodo ativado, filtro biológico, digestão anaeróbia e tratamento com fungos.

Efluentes provenientes da indústria de corante ou de processos envolvendo tingimento têxtil, não tratados convenientemente, antes de serem lançados em águas naturais, capazes de atingir reservatórios e estações de tratamento de água é a preocupação ecológica mais emergente (GUARATINI e ZANONI, 2000).

Do ponto de vista ambiental, a remoção da cor do banho de lavagem é um dos grandes problemas do setor têxtil. Estima-se que cerca de 15% da produção mundial de corantes é perdida para o meio ambiente durante a síntese, processamento ou aplicação desses corantes. Isso é alarmante, se for considerado que isso representa um lançamento de cerca de 1,20 toneladas por dia desta classe de compostos para o meio ambiente. A principal fonte desta perda corresponde à incompleta fixação dos corantes (10-20%), durante a etapa de tingimento das fibras têxteis (GUARATINI e ZANONI, 2000).

O desenvolvimento de tecnologia adequada para tratamento de efluentes têxteis tem sido objeto de grande interesse nos últimos tempos devido ao aumento na conscientização e rigidez das regras ambientais. As principais técnicas disponíveis na literatura para descoloração das águas de rejeito envolvem principalmente processos de adsorção, precipitação, degradação química, eletroquímica e fotoquímica, biodegradação e outros (GUARATINI e ZANONI, 2000).

Uma área muito promissora para o tratamento destes efluentes tem se baseado nos métodos de biodegradação. Entretanto, corantes sintéticos são em sua maioria xenobióticos, ou seja, os sistemas naturais de microrganismos em rios e lagos não contêm enzimas específicas para a degradação deste tipo de composto sob condições aeróbicas, além de que sob condições anaeróbicas a degradação do corante se processa muito lentamente. No entanto, a possibilidade de desenvolvimento de culturas de microrganismos, após longo período de

adaptação, tem mostrado a capacidade de mineralização de alguns tipos de corantes (GUARATINI e ZANONI, 2000).

Vários são os processos biológicos que vêm sendo estudados para o tratamento dos resíduos da indústria têxtil visando à descoloração. Entre os microrganismos implicados com a descoloração de corantes têxteis estão as bactérias, fungos, algas e mais recentemente os consórcios de culturas de bactérias (BANAT et al., 1996).

De acordo com Dellamatrice (2005), Jinqi e Houtian (1992) estudaram a degradação de 30 corantes do grupo azo pelas algas verdes *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella vulgaris* e pela cianobactéria *Oscillatoria tenuis* e encontraram porcentagens de descoloração variando de 7 a 100% para *Chlorella vulgaris*, sendo que 14 dos corantes testados tiveram degradação acima de 50%. A descoloração foi correlacionada com a estrutura química do composto, sendo que grupos amina ou hidroxila neutralizam a ação inibitória dos grupos sulfonados e apresentaram maiores taxas de degradação, enquanto a presença de grupos metil, metoxi, nitro ou sulfonados inibiram a degradação.

Segundo Dellamatrice (2005), Kalavathi; Uma e Subramanian (2001) verificaram descoloração de 64 a 75% do pigmento melanoidina, presente em resíduos de destilarias, pela cianobactéria *Oscillatoria boryana*, entretanto em altas concentrações do pigmento houve inibição do crescimento das cianobactérias pela interferência na penetração da luz.

Em 2001, Shah; Garg e Madamwar também observaram descoloração de corantes por cianobactérias. Eles testaram três corantes (Acid Red, Acid Red 119 e Direct Black 155) com a cianobactéria *Phormidium valderianum*, e diagnosticaram que nos três corantes houve uma descoloração superior a 90%. Além disso, foi observado que a eficiência aumentou com pH acima de 11, indicando que esta cianobactéria pode ser utilizada em efluentes de características alcalinas, como os têxteis.

4. METODOLOGIA E ETAPAS DE TRABALHO

4.1. Cianobactérias utilizadas

No presente trabalho foram utilizadas seis cianobactérias, isoladas de diferentes ambientes (Tabela 1). As cianobactérias foram mantidas em meio de cultura líquido BG-11 (Tabela 2, ALLEN, 1968) e SWBG-11 (Tabela 3, CASTENHOLZ, 1988), sob iluminação fluorescente constante de $40 \mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}.s^{-1}$ e temperatura controlada de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Tabela 1. Linhagens de cianobactérias utilizadas neste estudo.

Ordem	Linhagem	Origem	Meio de cultivo
<i>Chroococcales</i>	<i>Synechococcus</i> sp. CENA136	Manguezal, não poluído, na Ilha do Cardoso - SP	SWBG-11
<i>Oscillatoriales</i>	<i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 134	Manguezal, não poluído, na Ilha do Cardoso - SP	SWBG-11
	<i>Phormidium</i> sp. CENA 135	Manguezal, não poluído, na Ilha do Cardoso - SP	SWBG-11
	<i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 103	Lagoa de estabilização de uma ETE em Cajati – SP	BG-11
	<i>Leptolyngbya</i> sp. CENA 104	Lagoa de estabilização de uma ETE em Cajati – SP	BG-11
	<i>Phormidium autumnale</i> UTEX 1580	Aquário de peixe	BG-11

Tabela 2. Meio de cultura BG-11 utilizado no cultivo das cianobactérias (ALLEN, 1968).

Componentes	Estoque (g/L)	Usar por litro	Concentração final (g/L)
1. NaNO ₃	150	10 ml	1,5
2. K ₂ HPO ₄	40	1 ml	0,04
3. MgSO ₄ .7H ₂ O	75	1 ml	0,075
5. CaCl ₂ .2H ₂ O	36	1 ml	0,036
5. Ácido Cítrico	6	1 ml	0,006
6. Citrato de Amônio Férrico	6	1 ml	0,006
7. Na ₂ EDTA	1	1 ml	0,001
8. Micronutrientes	-	1 ml	-
9. Carbonato de Sódio	20	1 ml	0,02

Completar o volume com H₂O deionizada para 1000 ml.

Autoclavar.

pH após autoclavagem e esfriamento: 7,4

Notas: se fizer aeração com CO₂, deve-se adicionar 1 M HEPES, pH 8,0 numa concentração final de 10 a 20 mM (ou seja, 10 a 20 ml/L).

Para meio sólido adicionar noble agar numa concentração final de 1%.

Solução de Micronutrientes:

H₃BO₃ ----- 2,86 g/L

MnCl₂.4H₂O ----- 1,81 g/L

ZnSO₄.7H₂O ----- 0,222 g/L

Na₂Mo₄.2H₂O ----- 0,39 g/L

CuSO₄.5H₂O ----- 0,079 g/L

Co(NO₃)₂.6H₂O ----- 0,049g/L

Tabela 3. Meio de cultura SWBG-11 utilizado no cultivo das cianobactérias (CASTENHOLZ, 1988).

Componentes	Estoque (mM)	Usar por Litro	Concentração Final (g/L)
NaCl	427	12,5 g	12,5
MgCl ₂ .6H ₂ O	9,8	1 g	1
KCl	6,7	0,25 g	0,25
NaNO ₃	8,8	10 ml	1,5
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,09	1 ml	0,04
MgSO ₄ .7H ₂ O	14,2	1 ml	0,075
CaCl ₂ .2H ₂ O	3,4	1 ml	0,036
Ácido Cítrico	0,015	1 ml	0,006
Citrato de Amônio Férrico	0,015	1 ml	0,006
Na ₂ EDTA	--	1 ml	0,001
Na ₂ CO ₃	0,19	1 ml	0,02
Traço Metálico (A ₅ + Co)	--	1 ml	--

Completar com água deionizada para 1000ml

Autoclavar.

pH após autoclavagem e esfriamento: 7,4

Solução de Traço Metálico (A₅ + Co)

H₃BO₃ ----- 2,86 g/L

MnCl₂.4H₂O ----- 1,81 g/L

ZnSO₄.7H₂O ----- 0,222 g/L

NaMoO₄.2H₂O ----- 0,39 g/L

CuSO₄.5H₂O ----- 0,079 g/L

Co(NO₃)₂.6H₂O ----- 0,0494 g/L

4.2. Corantes utilizados

Foram utilizados dez corantes técnicos: o Índigo BANN 30 (em solução aquosa 30%); o Amarelo Palanil 3G; o Amarelo Drimaren CL-R; o Amarelo Indantreno 5GF; o Vermelho Drimaren CL-5B; o Vermelho Indantreno FBB; o Vermelho Dispersol C-4G; o Azul Dispersol C-2R; o Azul Drimaren CL-R e o Azul Indantreno RCL, todos cedidos pela indústria têxtil Toyobo do Brasil Ltda. na forma em que ela os adquire.

Foi utilizado também o corante polimérico Remazol Brilliant Blue R - RBBR (C.I. 61200; Reactive Blue 19, Sigma R-8001), que também é um corante utilizado na indústria têxtil.

Nas figuras (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9) abaixo segue algumas propriedades dos corantes utilizados neste estudo.

Remazol



A massa molecular do remazol é 564,56 Da e sua fórmula é $C_{22}H_{16}N_2O_{10}S_3$

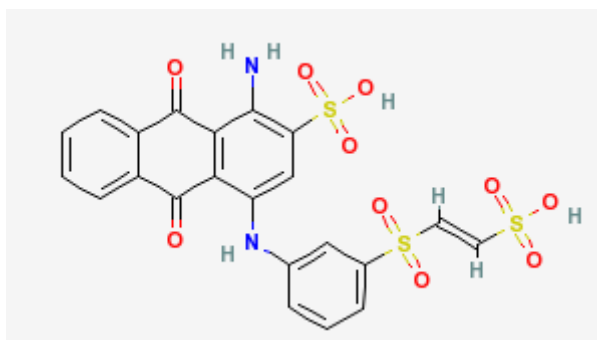


Figura 2. Estrutura química da molécula de remazol.

Índigo



A massa molecular do índigo é 262,26 Da e sua fórmula é $C_{16}H_{10}N_2O_2$

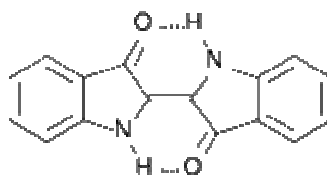


Figura 3. Estrutura química da molécula de índigo.

Azul indantreno



A massa molecular do azul indantreno é 442,42 Da e sua fórmula é $C_{28}H_{14}N_2O_4$.

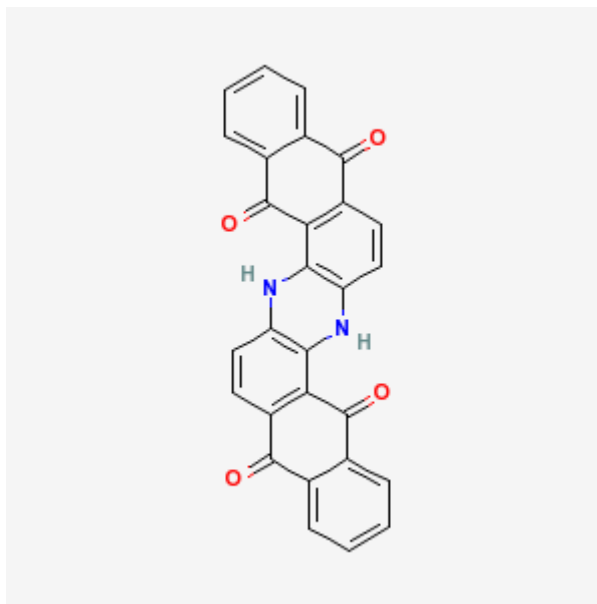


Figura 4. Estrutura química da molécula de azul indantreno.

Azul drimaren



A massa molecular do azul drimaren é 631,49 Da e sua fórmula é $C_{19}H_{14}ClCuN_7O_8S_2$

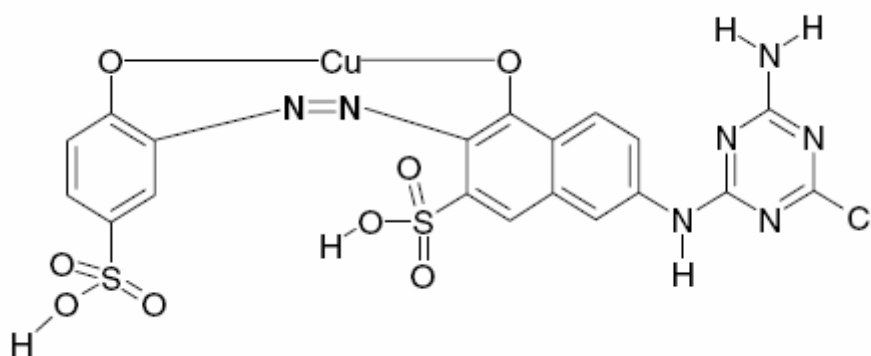


Figura 5. Estrutura química da molécula de azul drimaren.

Vermelho Drimaren

A massa molecular do vermelho drimaren é 400,38 Da e sua fórmula é $C_{20}H_{13}N_2NaO_4S$

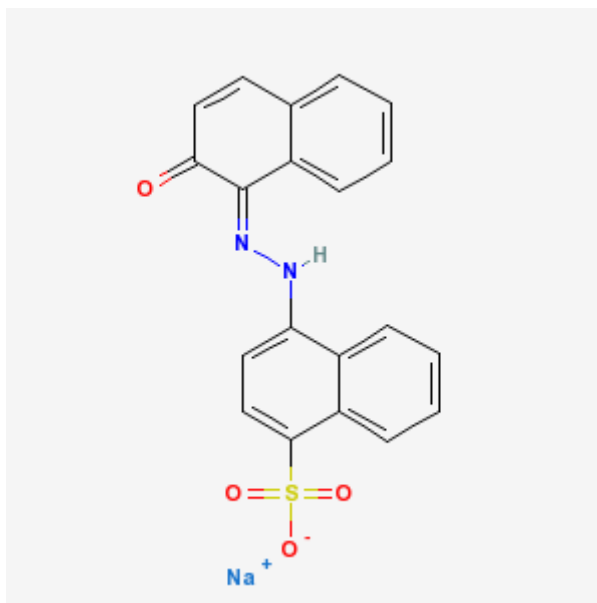


Figura 6. Estrutura química da molécula de vermelho drimaren.

Vermelho Dispersol



A massa molecular do vermelho dispersol é 314,33 Da e sua fórmula é $C_{16}H_{18}N_4O_3$.

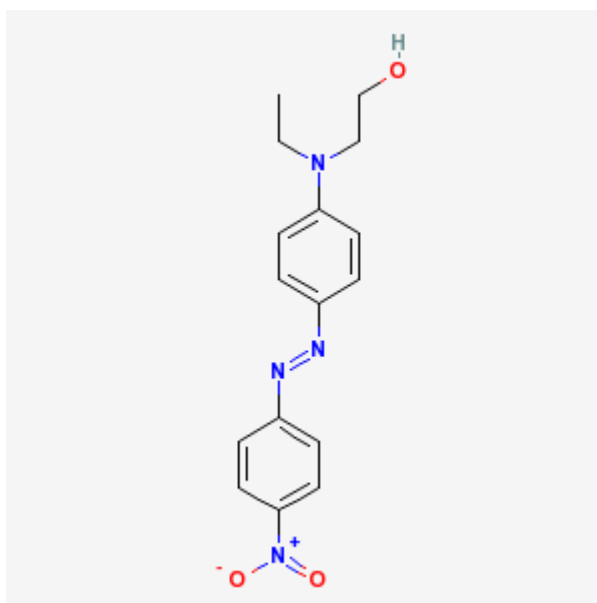


Figura 7. Estrutura química da molécula de vermelho dispersol.

Vermelho Indantreno

A massa molecular do vermelho indantreno é 470,43 Da e sua fórmula é $C_{29}H_{14}N_2O_5$.

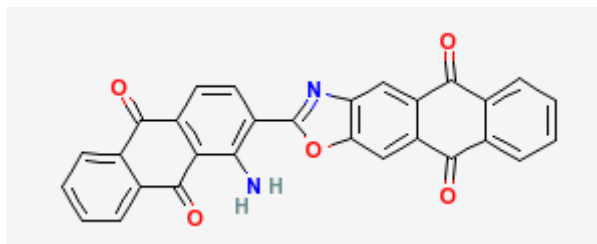


Figura 8. Estrutura química da molécula de vermelho indantreno.

Amarelo Palanil

A massa molecular do amarelo palanil é 368,18 Da e sua fórmula é $C_{18}H_{10}BrNO_3$.

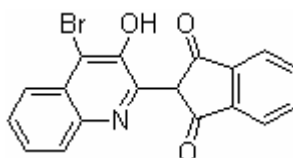


Figura 9. Estrutura química da molécula de amarelo palanil.

4.3. Análise de microcistinas pelo ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA)

Este teste foi realizado para verificar quais linhagens eram produtoras de microcistina, o que inviabilizaria os testes de descoloração de corantes, no caso da célula se romper e liberar a toxina ao ambiente. O teste foi realizado da seguinte maneira: 2 ml de cultura de cianobactérias foram fervidos por 1 minuto em microondas. A solução foi centrifugada por 5 minutos a 10.000 rpm (rotações por minuto). Coletou-se o sobrenadante e este foi utilizado na análise de microcistinas de acordo com as recomendações do fabricante.

4.4. Teste com corantes

Nesse teste foram designadas “letras” para representar as cianobactérias e “algarismos” para representar os corantes.

A → *Phormidium* sp. CENA 135

B → *Leptolyngbya* sp. CENA 134

C → *Synechococcus* sp. CENA 136

D → *Leptolyngbya* sp. CENA 104

E → *Leptolyngbya* sp. CENA 103

F → *Phormidium autumnale* UTEX 1580

- 1** → Remazol Brilliant Blue R
- 2** → Índigo BANN 30 (em solução aquosa 30%)
- 3** → Azul Indantreno RCL
- 4** → Azul Drimaren CL-R
- 5** → Azul Dispersol C-2R
- 6** → Vermelho Drimaren CL-5B
- 7** → Vermelho Dispersol C-4G
- 8** → Vermelho Indantreno FBB
- 9** → Amarelo Drimaren CL-R
- 10** → Amarelo Palanil 3G
- 11** → Amarelo Indantreno 5GF

Os inóculos foram obtidos a partir de uma cultura de 50 ml de meio de cultivo após 15 dias de crescimento. Tubos de ensaio contendo 10 ml de meio líquido e 0,02% de cada corante (remazol, índigo, azul indantreno RCL, azul drimaren CL-R, azul dispersol C-2R, vermelho drimaren CL-5B, vermelho dispersol C-4G, vermelho indantreno FBB, amarelo drimaren CL-R, amarelo palanil 3G e amarelo indantreno 5GF) foram inoculados com as respectivas cianobactérias. Os tubos inoculados e controles (meio de cultivo + corante, sem inóculo) foram incubados em luminosidade contínua ($40 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a 23°C (Figura 2). O mesmo experimento foi realizado em meio de cultura sólido (figura 11) (contendo 18 g/L de Agar) contendo corante. O procedimento de inoculação foi o mesmo descrito acima. Para investigação da descoloração e degradação dos corantes, foram utilizadas leituras em espectrofotômetro UV-Visível (período de 1, 7 e 26 dias), de acordo com a absorbância máxima de cada corante, e também Cromatografia em Camada Delgada (no dia 26), para avaliação analítica qualitativa das soluções.



Figura 10. Meio de cultura líquido, com os corantes e as cianobactérias.



Figura 11. Meio de cultura sólido, com os corantes e as cianobactérias.

4.5. Absorbância máxima de cada corante

Inicialmente foram coletados 800 μL dos controles (meio de cultivo + corante, sem inóculo) e colocados em uma cubeta de acrílico, para ser realizada a varredura nos limites de comprimento de onda entre 400 nm a 900 nm. Depois de encontrado o pico máximo da varredura, ou seja, onde o corante pode ser observado em determinado comprimento de onda, foi feita a leitura da absorbância máxima de cada corante, para posteriormente serem realizadas as leituras nos dias 7 e 26 de cultivo, para a determinação da descoloração.

As varreduras no espectrofotômetro UV-Visível foram realizadas com o programa UV WinLab (Winlab Bio).

4.6. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A CCD foi realizada para avaliação analítica qualitativa dos componentes do meio de cultura + corante, contendo a cianobactéria, utilizando-se cromatoplasas de sílica GF₂₅₄ em suporte de alumínio, da MERCK.

Foram testados diferentes solventes para eluição dos compostos. Está descrito a seguir os eluentes utilizados e suas proporções:

- álcool propílico, acetato de etila e água (12:1:6).
- benzeno, etanol e clorofórmio (94:4:1)

Os sobrenadantes das soluções foram aplicados nas cromatoplasas na quantidade 10 μL , tendo sido aplicado o controle (meio de cultura + corante, sem inóculo) como referência.

As bandas foram identificadas sob luz ultravioleta no comprimento de onda de 254 nm e 366 nm, ou visivelmente, dependendo do corante. O cálculo dos R_fs (fator de retenção) foi realizado segundo a seguinte equação:

$$R_f = \frac{\text{Distância do centro da banda à linha de partida}}{\text{Distância da frente do eluente à linha de partida}}$$

4.7. Teste com o Índigo BANN 30 (em solução aquosa 30%)

Inicialmente foram preparados 300 ml de meio de cultivo BG-11 com uma concentração de 0,02% do índigo. Em seguida foram coletados filamentos da *Phormidium autumnale* UTEX 1580, já crescidas, de duas placas de petri, e adicionados à solução de BG-11 com o índigo. Após isso foram coletados 800 µL da solução e adicionados em uma cubeta de acrílico para a leitura da absorbância máxima, para posteriormente serem realizadas as leituras nos dias 5, 8, 12, 14, 16, 19 e 26 de cultivo, para a determinação da descoloração.

4.8. Teste com o corante Remazol Brilliant Blue R – RBBR

O corante utilizado para observar se as cianobactérias conseguiriam degradar, foi o RBBR (corante polimérico; C.I. 61200; Reactive Blue 19; Sigma R – 8001). Para isso foram utilizados dois erlenmeyers de 250 ml da seguinte maneira:

A) 100 ml de meio BG-11 + *P. autumnale* UTEX 1580 + RBBR (0,05%)

B) 100 ml de meio BG-11 + *P. autumnale* UTEX 1580 após 15 dias de crescimento + RBBR (0,02%)

As duas soluções após serem inoculadas com *P. autumnale* UTEX 1580 e RBBR foram acondicionadas em uma sala de crescimento, a 23°C sob constante iluminação (40 µmol fótons m⁻² s⁻¹) a 100 rpm.

A primeira solução foi elaborada para analisar se a cianobactéria estava conseguindo degradar o RBBR (0,05%). Baseando-se em Dellamatrice (2005), na segunda solução as cianobactérias ficaram se desenvolvendo no meio durante 15 dias, e depois disso foi adicionado o RBBR (0,02%) para observar se a cianobactéria poderia obter um resultado melhor na degradação.

Outro teste realizado com este corante foi em meio BG-11 sólido, este, por sua vez, buscou analisar até qual concentração de RBBR a cianobactéria *P. autumnale* UTEX 1580 conseguiria se desenvolver, para isto foram preparadas quatro placas de petri com meio BG-11, sendo que a primeira continha uma concentração de 0,005% de Remazol, a segunda 0,01%, a terceira 0,02% e a quarta 0,04% do corante.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Cultivo de cianobactérias

As cianobactérias foram cultivadas em presença de luz e em sala climatizada. As linhagens apresentaram um ótimo crescimento durante os quinze dias de cultivo, como apresentado na figura 12.

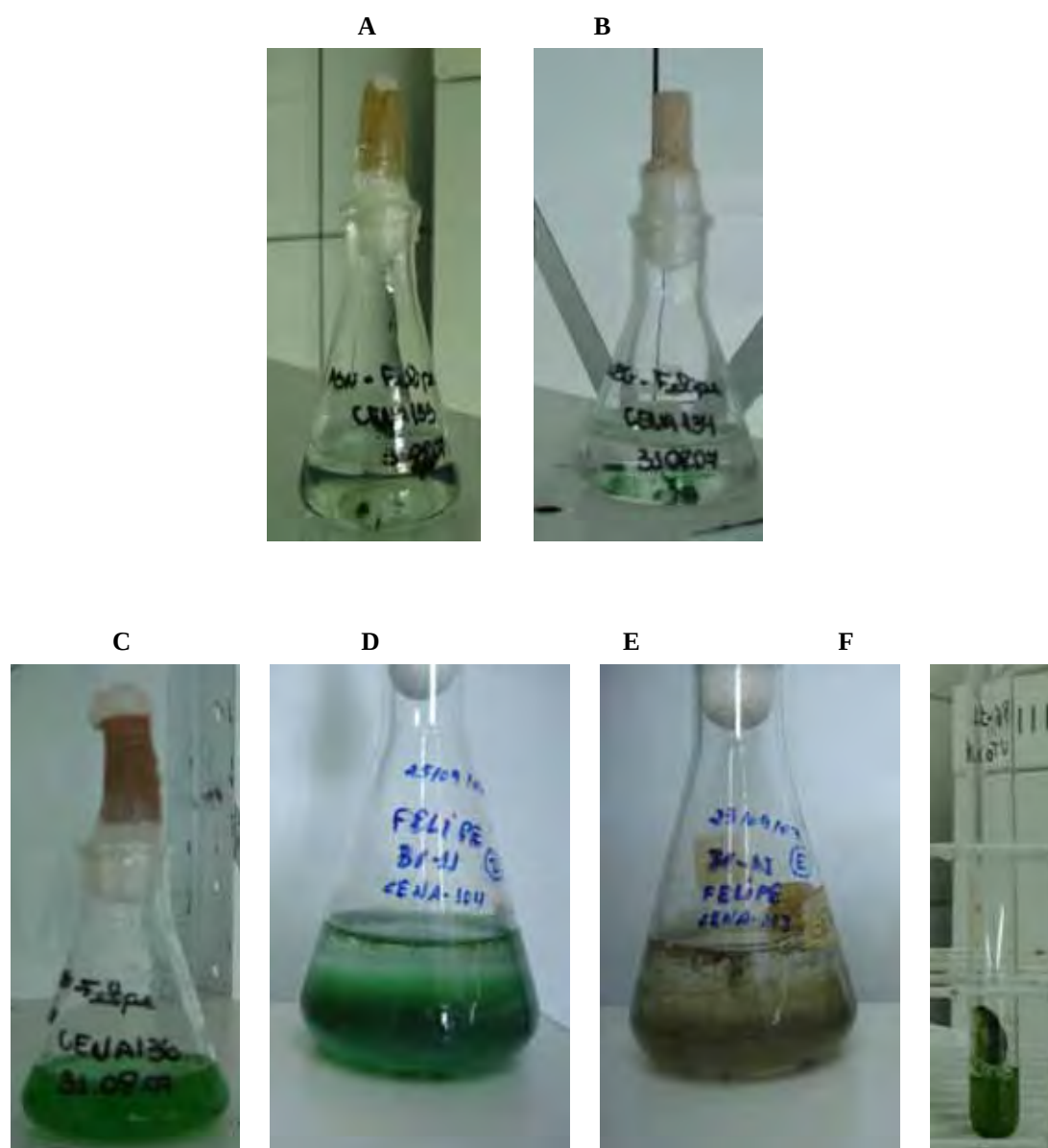


Figura 12. Cultivo de cianobactérias em meio líquido. A) *Phormidium* sp. CENA 135; B) *Leptolyngbya* sp. CENA 134; C) *Synechococcus* sp. CENA 136; D) *Leptolyngbya* sp. CENA 104; E) *Leptolyngbya* sp. CENA 103; F) *Phormidium autumnale* UTEX 1580.

5.2. Corantes

Como sabemos, os corantes são muito empregados no nosso país, sendo na maioria das vezes utilizados nas indústrias têxteis, onde por sua vez, caso não haja um efetivo tratamento, podem causar grandes transtornos às autoridades ambientais, pois eles são de fácil visualização em qualquer manancial contaminado. No entanto, dependendo do tipo de corante e do modo de aplicação requerido, a etapa final da tintura pode contribuir significativamente no lançamento de rejeitos de diversas substâncias químicas com composição variável (corante, umectante, antiespumante, eletrólitos, dispersantes, etc.) utilizadas nas etapas de montagem e fixação. Estes quando não tratados convenientemente, são a preocupação ecológica mais emergente. A abundância de normas e regulamentações desenvolvidas ao longo dos anos para controle de rejeitos coloridos tem criado um grande impacto na indústria de corantes e seus correlatos. Relativamente, encontra-se na literatura muito pouca informação sobre o impacto desses rejeitos na qualidade da água e em ecossistemas aquáticos.

5.3. Análise de microcistinas

Segundo protocolo da Beacon Analytical Systems Inc. (2004), o teste ELISA comercializado em kit por esta empresa é um teste imunológico laboratorial para a quantificação de microcistinas em água, utilizando anticorpos policlonais que se ligam as microcistinas e ao conjugado microcistina-enzima. A microcistina na amostra compete com o conjugado microcistina-enzima por número limitado de sítios de ligação de anticorpos. Coloca-se na placa do kit anticorpos IgG de coelho para a captura dos anticorpos (de coelho) anti-microcistina adicionados. Uma vez que o mesmo número de sítios de ligação de anticorpos esteja disponível em cada poço e cada poço receba o mesmo número de moléculas do conjugado microcistina-enzima, uma amostra contendo baixa concentração de microcistina permite que o anticorpo se ligue a muitas moléculas do conjugado microcistina-enzima, resultando em coloração escura. Inversamente, uma concentração elevada de microcistina permite que poucas moléculas do conjugado microcistina-enzima se liguem aos anticorpos, resultando numa coloração clara, isto é, a cor é inversamente proporcional à concentração de microcistina.

A análise para observar se as cianobactérias produziam microcistinas foi realizada pelo ensaio imunológico ELISA (conforme descrito nos métodos).

Todas as cianobactérias testadas apresentaram resultados negativos, ou seja, não produziram microcistinas. Portanto, estas cianobactérias foram selecionadas para os testes com todos os corantes.

5.4. Absorbância máxima de cada corante

Para análise de descoloração de cada corante, foi realizada uma varredura em UV no comprimento de onda de 400 a 900 nm. A Tabela 4 apresenta os valores de absorbância máxima de cada corante, onde o referido comprimento de onda relativo a cada um foi utilizado para análise de descoloração.

Tabela 4. Varredura em UV-Visível (400 a 900 nm) para obtenção da absorbância máxima de cada corante.

Corante	Varredura em UV-Visível – 400 a 900 nm	
	SWBG-11 (nm)	BG-11 (nm)
1	595	595
2	708	698
3	600	600
4	600	600
5	600	600
6	550	550
7	549	515
8	514	523
9	430	462
10	477	477
11	473	473

5.5. Teste com corantes

Logo ao sétimo dia de experimento foi possível diagnosticar com as leituras em espectrofotômetro, de acordo com a absorbância máxima de cada corante, que algumas cianobactérias conseguiram descolorir alguns corantes em mais de 15%. As figuras a seguir (13, 14, 15, 16, 17 e 18) mostram os resultados encontrados (no sétimo e no vigésimo sexto dia de experimento) nas culturas com meio BG-11 e com meio SWBG-11.

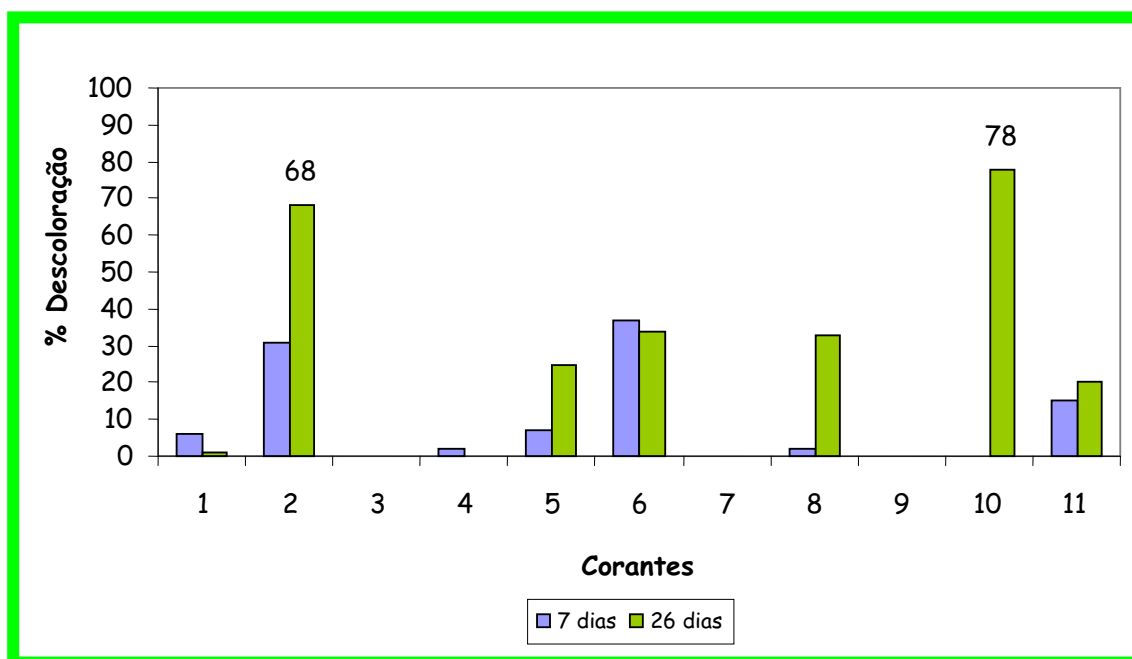


Figura 13. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de *Leptolyngbya* sp. CENA 104 para todos os corantes testados. 1) remazol; 2) índigo; 3) azul indantreno; 4) azul drimaren; 5) azul dispersol; 6) vermelho drimaren; 7) vermelho dispersol; 8) vermelho indantreno; 9) amarelo drimaren; 10) amarelo palanil; 11) amarelo indantreno.

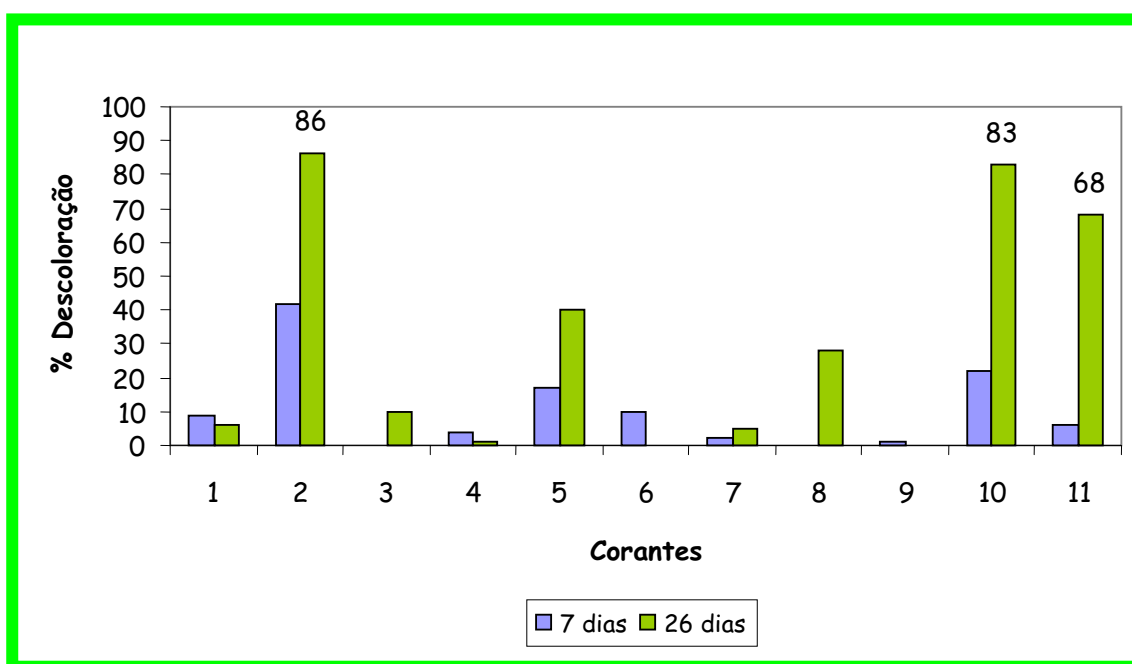


Figura 14. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de *Leptolyngbya* sp. CENA 103 para todos os corantes testados. 1) remazol; 2) índigo; 3) azul indantreno; 4) azul drimaren; 5) azul dispersol; 6) vermelho drimaren; 7) vermelho dispersol; 8) vermelho indantreno; 9) amarelo drimaren; 10) amarelo palanil; 11) amarelo indantreno.

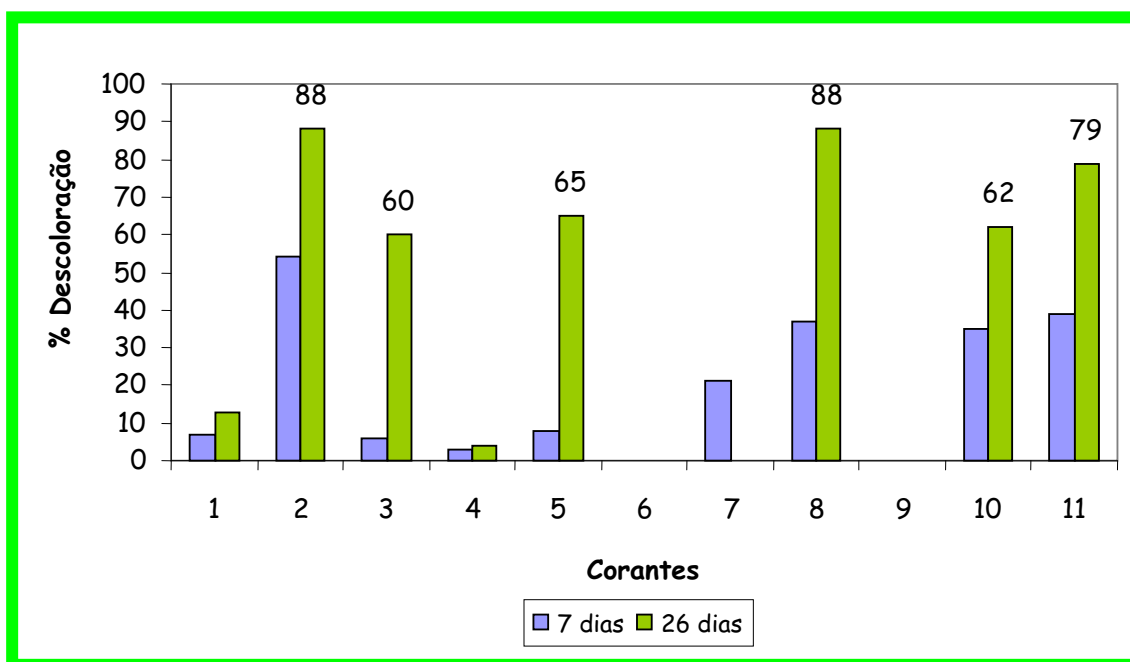


Figura 15. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de *Phormidium autumnale* UTEX 1580 para todos os corantes testados. 1) remazol; 2) índigo; 3) azul indantreno; 4) azul drimaren; 5) azul dispersol; 6) vermelho drimaren; 7) vermelho dispersol; 8) vermelho indantreno; 9) amarelo drimaren; 10) amarelo palanil; 11) amarelo indantreno.

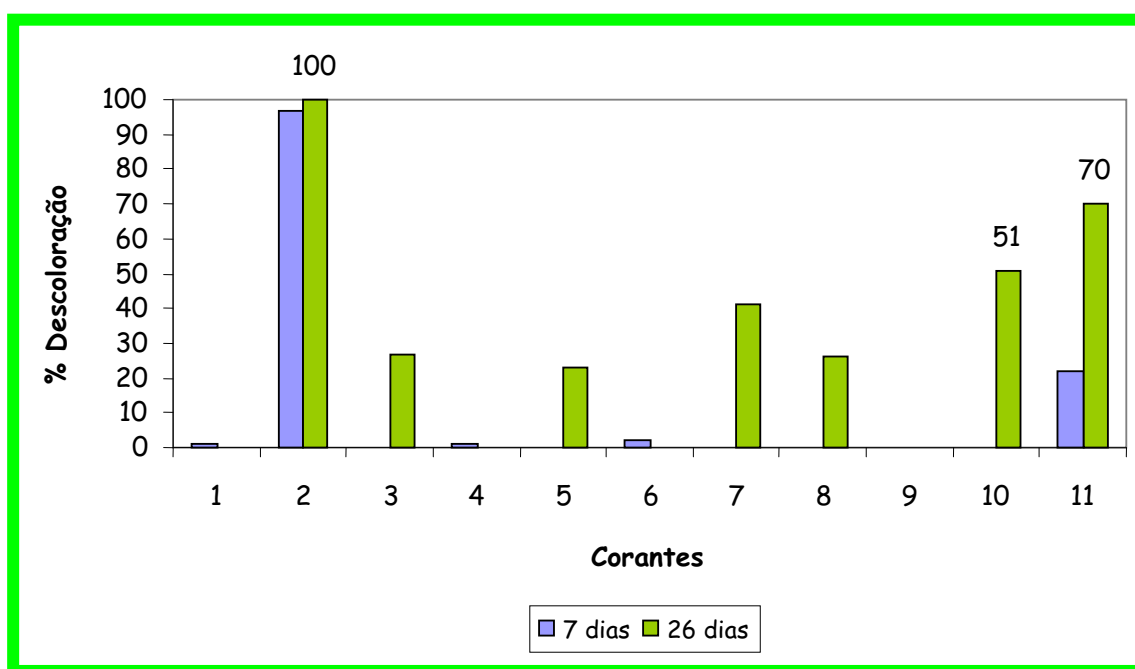


Figura 16. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de *Phormidium* sp CENA 135 para todos os corantes testados. 1) remazol; 2) índigo; 3) azul indantreno; 4) azul drimaren; 5) azul dispersol; 6) vermelho drimaren; 7) vermelho dispersol; 8) vermelho indantreno; 9) amarelo drimaren; 10) amarelo palanil; 11) amarelo indantreno.

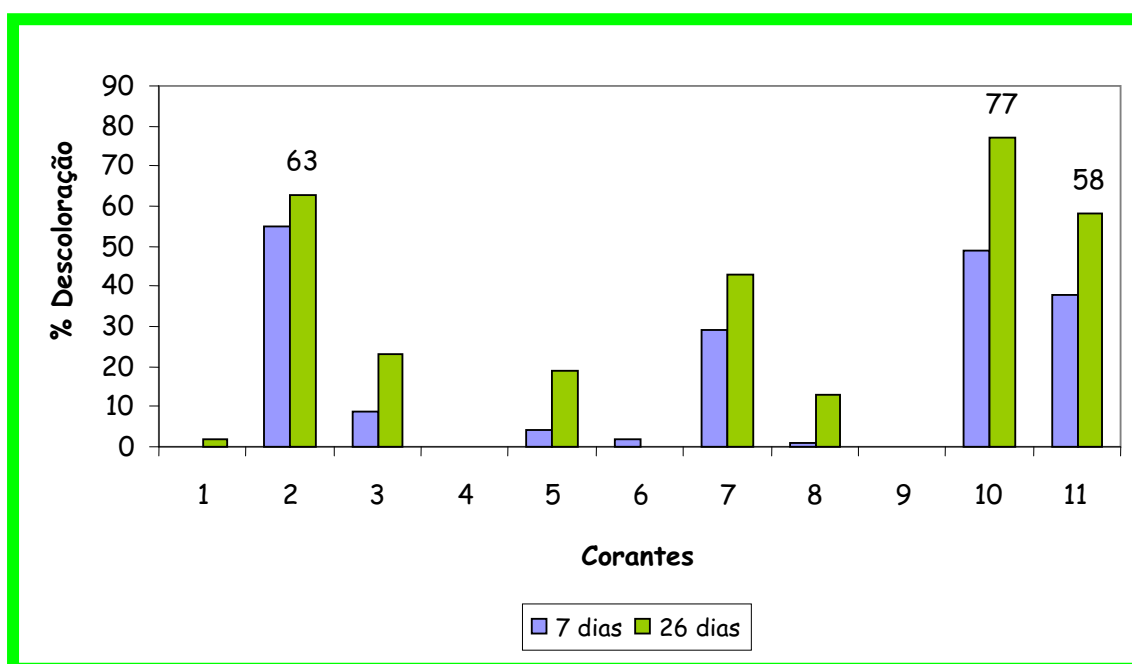


Figura 17. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de *Leptolyngbya* sp. CENA 134 para todos os corantes testados. 1) remazol; 2) índigo; 3) azul indantreno; 4) azul drimaren; 5) azul dispersol; 6) vermelho drimaren; 7) vermelho dispersol; 8) vermelho indantreno; 9) amarelo drimaren; 10) amarelo palanil; 11) amarelo indantreno.

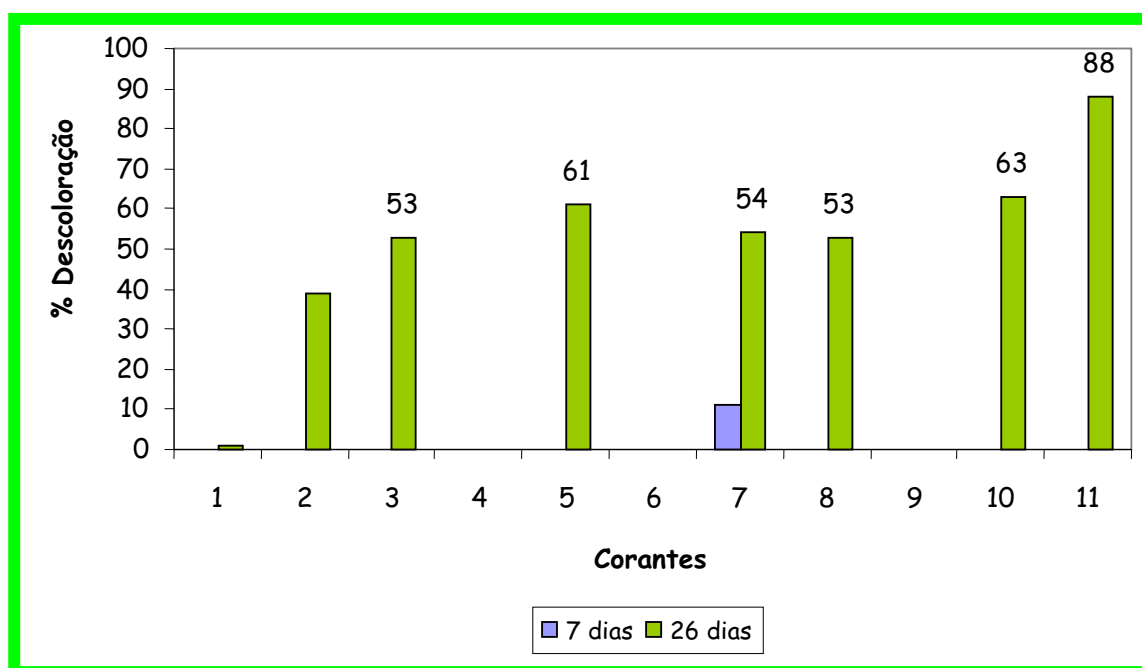


Figura 18. Porcentagem de descoloração em 7 e 26 dias de cultivo de *Synechococcus* sp. CENA 136 para todos os corantes testados. 1) remazol; 2) índigo; 3) azul indantreno; 4) azul drimaren; 5) azul dispersol; 6) vermelho drimaren; 7) vermelho dispersol; 8) vermelho indantreno; 9) amarelo drimaren; 10) amarelo palanil; 11) amarelo indantreno.

Apesar dos resultados obtidos pela cianobactéria *Synechococcus* sp. CENA 136 terem sido relativamente bons, não podem ser considerados quantitativos, pois esta cianobactéria é unicelular, e para fazer a última leitura de absorbância foi necessário centrifugar as soluções (9000 rpm; 2 minutos; 4°C), onde ocorreu a precipitação de alguns corantes junto com as células, ocasionando a diminuição dos valores de absorbância dos mesmos na hora da leitura em UV-Visível. O resultado do corante 7 foi interessante porque ele não foi precipitado junto com a cianobactéria no momento da centrifugação.

As figuras (13, 14, 15, 16, 17 e 18) acima apresentam a porcentagem de descoloração de todos os corantes inoculados com as cianobactérias. A *Leptolyngbya* sp. CENA 104 foi capaz de descolorir os corantes índigo (68%) e amarelo palanil (78%); a *Leptolyngbya* sp. CENA 103 descoloriu 3 corantes, o índigo (86%), o amarelo palanil (83%) e o amarelo indantreno (68%); a *Phormidium autumnale* UTEX 1580 removeu 6 corantes, o índigo (88%), o azul indantreno (60%); azul dispersol (65%); vermelho indantreno (88%); o amarelo palanil (62%) e o amarelo indantreno (79%); a *Phormidium* sp CENA 135 foi capaz de descolorir 3 corantes, o índigo (100%), o amarelo palanil (51%) e o amarelo indantreno (70%); já a *Leptolyngbya* sp. CENA 134 removeu 3 corantes, o índigo (63%); o amarelo palanil (77%) e o amarelo indantreno (58%); e a *Synechococcus* sp. CENA 136 descoloriu o vermelho dispersol em 54%.

Nas soluções que apresentaram descoloração maior que 50%, é possível se notar a diferença na coloração, como mostram as figuras (19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 e 30) a seguir:



Figura 19. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (meio de cultivo sem inoculo + corante); B) *Leptolyngbya* sp. CENA 134.



Figura 20. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (SWBG-11 sem inóculo + corante); B) *Phormidium* sp. CENA 135.



Figura 21. Descoloração de amarelo indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Phormidium* sp. CENA 135.



Figura 22. Descoloração de amarelo indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Leptolyngbya* sp. CENA 134.



Figura 23. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Leptolyngbya* sp. CENA 134.



Figura 24. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Phormidium* sp. CENA 135.



Figura 25. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Leptolyngbya* sp. CENA 103.



Figura 26. Descoloração de índigo. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Phormidium autumnale* UTEX 1580.



Figura 27. Descoloração de vermelho indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Phormidium autumnale* UTEX 1580.



Figura 28. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Leptolyngbya* sp. CENA 104.



Figura 29. Descoloração de amarelo palanil. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Phormidium autumnale* UTEX 1580.



Figura 30. Descoloração de amarelo indantreno. A) Controle (meio de cultivo sem inóculo + corante); B) *Phormidium autumnale* UTEX 1580.

Para comprovar que a descoloração de 100% do corante índigo BANN 30 (solução aquosa 30%) pela cianobactéria *Phormidium* sp. CENA 135 não teve interferência da luz, foi feita uma solução do meio SWBG-11 com o corante, que ficou exposta à luz no mesmo intervalo de tempo em que o corante ficou com a cianobactéria. A figura 31 mostra o final do experimento, onde não houve nenhuma descoloração.

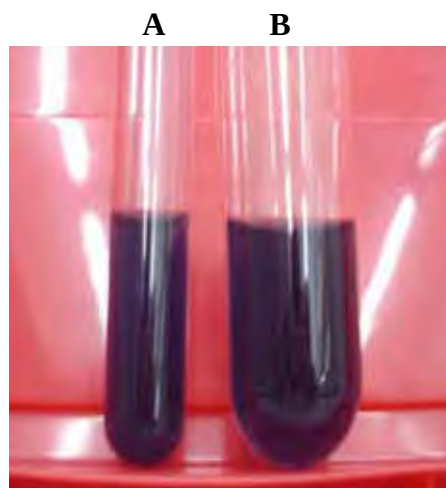


Figura 31. Controle de fotodegradação do corante índigo ao final de 26 dias.

5.6. Espectro máximo de absorvância para os corantes e a redução após vinte seis dias

As figuras (32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 e 42) a seguir apresentam a absorvância máxima de cada corante, como também a descoloração de cada um frente à cianobactéria em que foi inoculado.

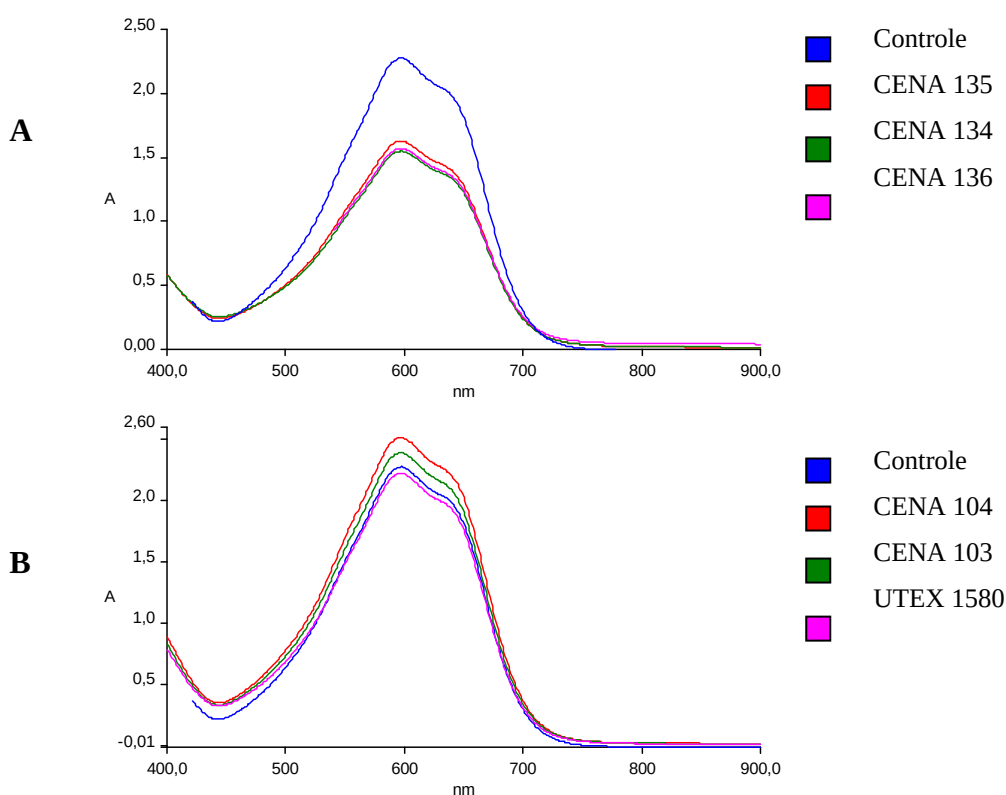


Figura 32. Espectro máximo de absorvância do corante remazol. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

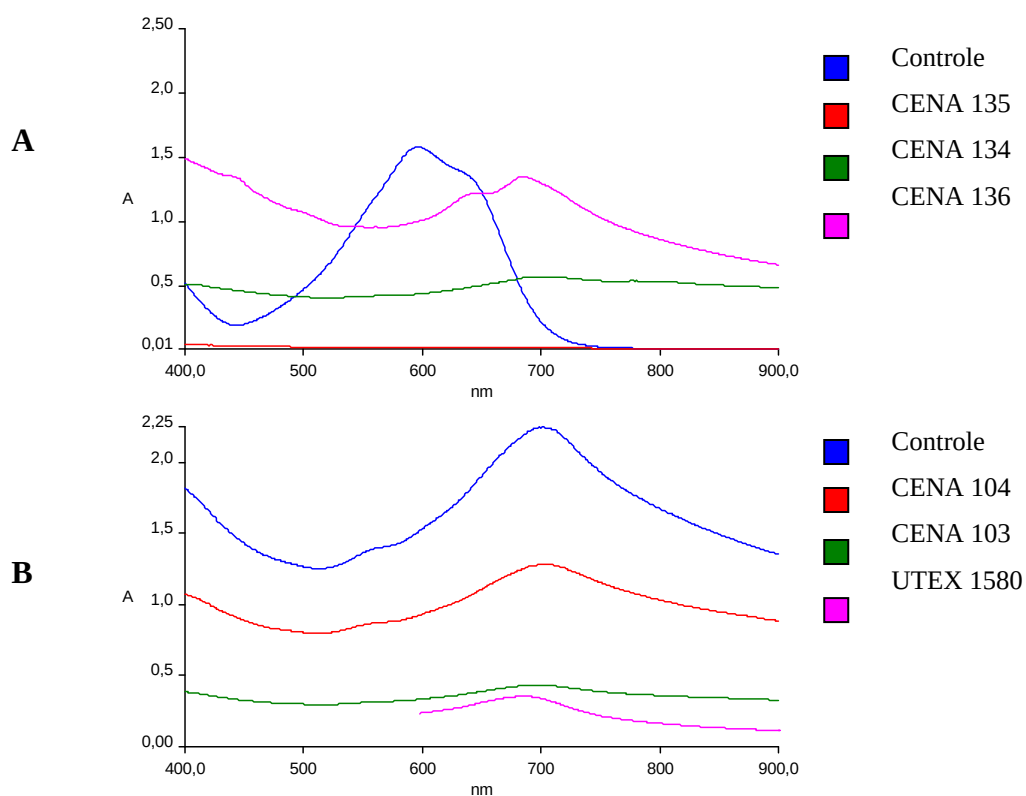


Figura 33. Espectro máximo de absorvância do corante índigo. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

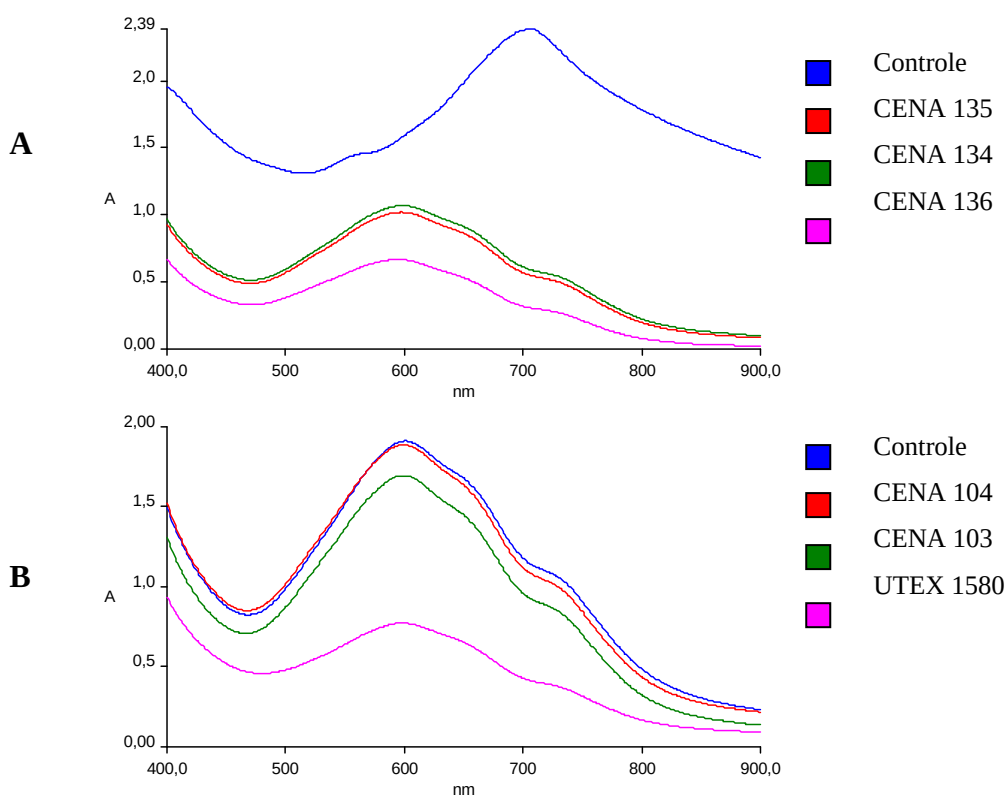


Figura 34. Espectro máximo de absorvância do corante azul indantreno. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

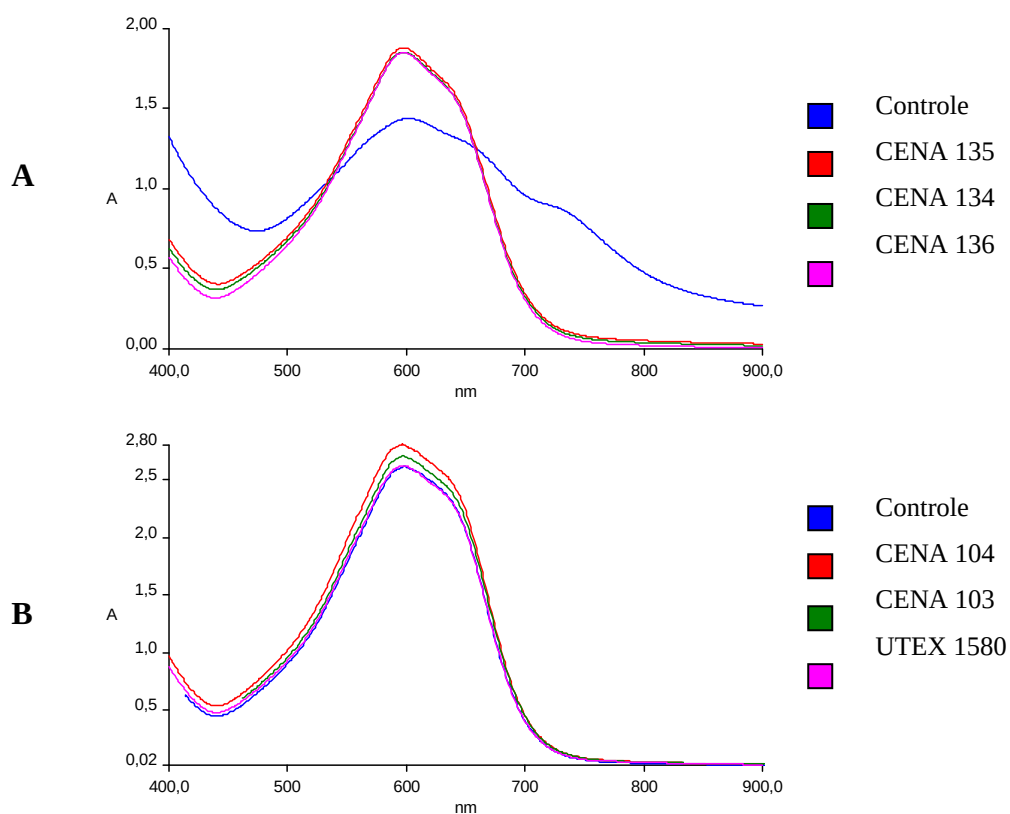


Figura 35. Espectro máximo de absorbância do corante azul drimaren. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

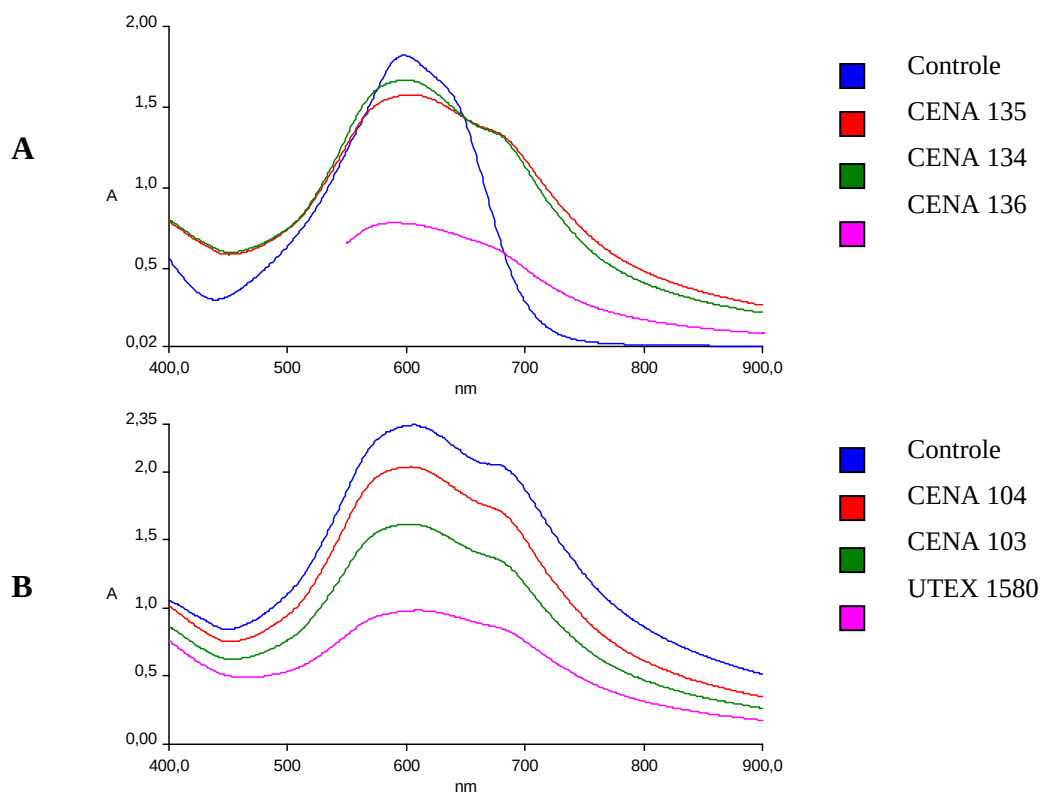


Figura 36. Espectro máximo de absorbância do corante azul dispersol. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

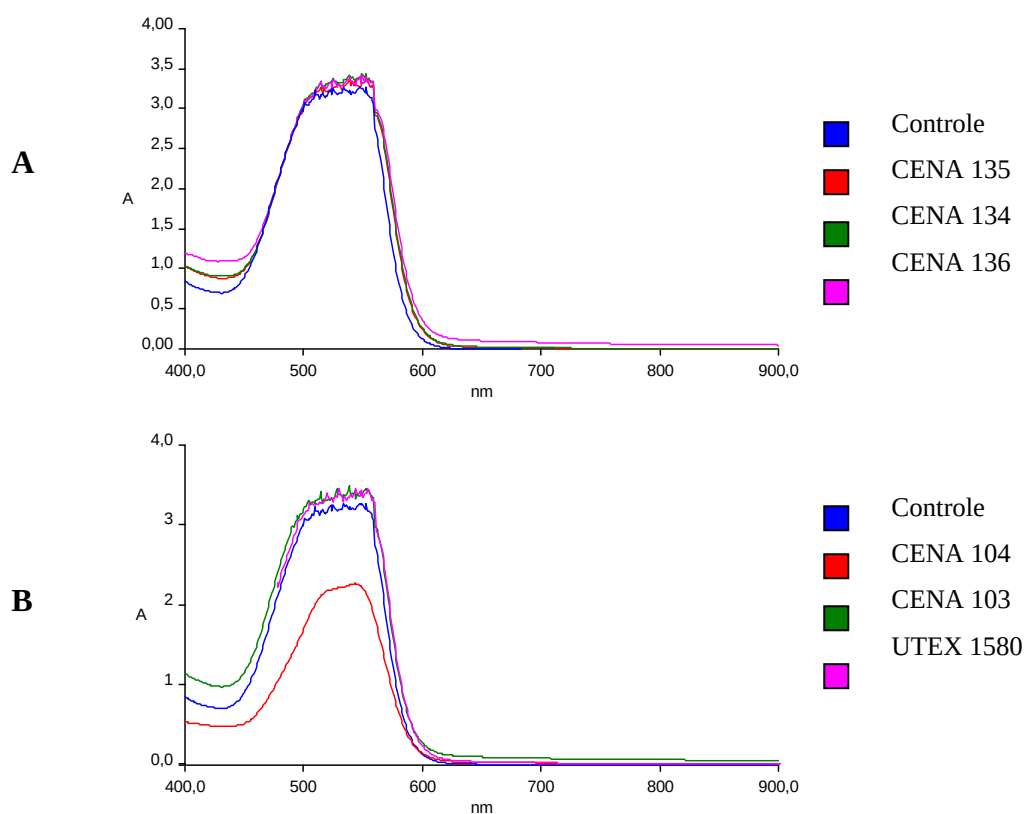


Figura 37. Espectro máximo de absorvância do corante vermelho drimaren. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

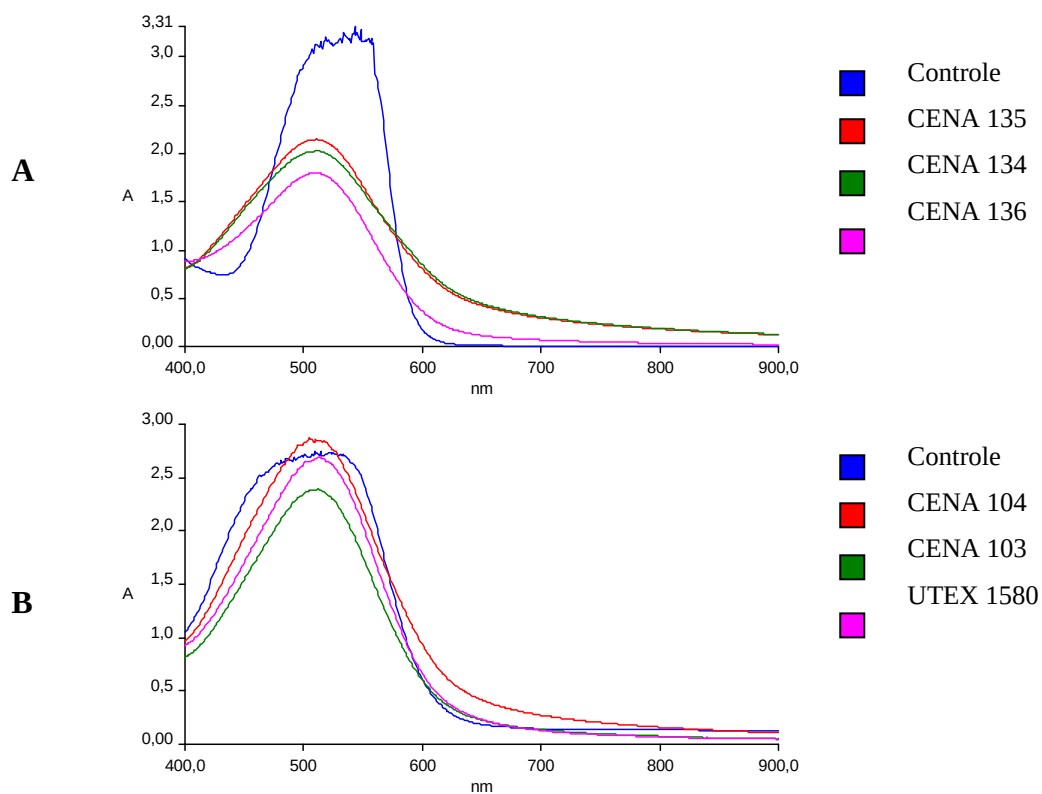


Figura 38. Espectro máximo de absorvância do corante vermelho dispersol. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

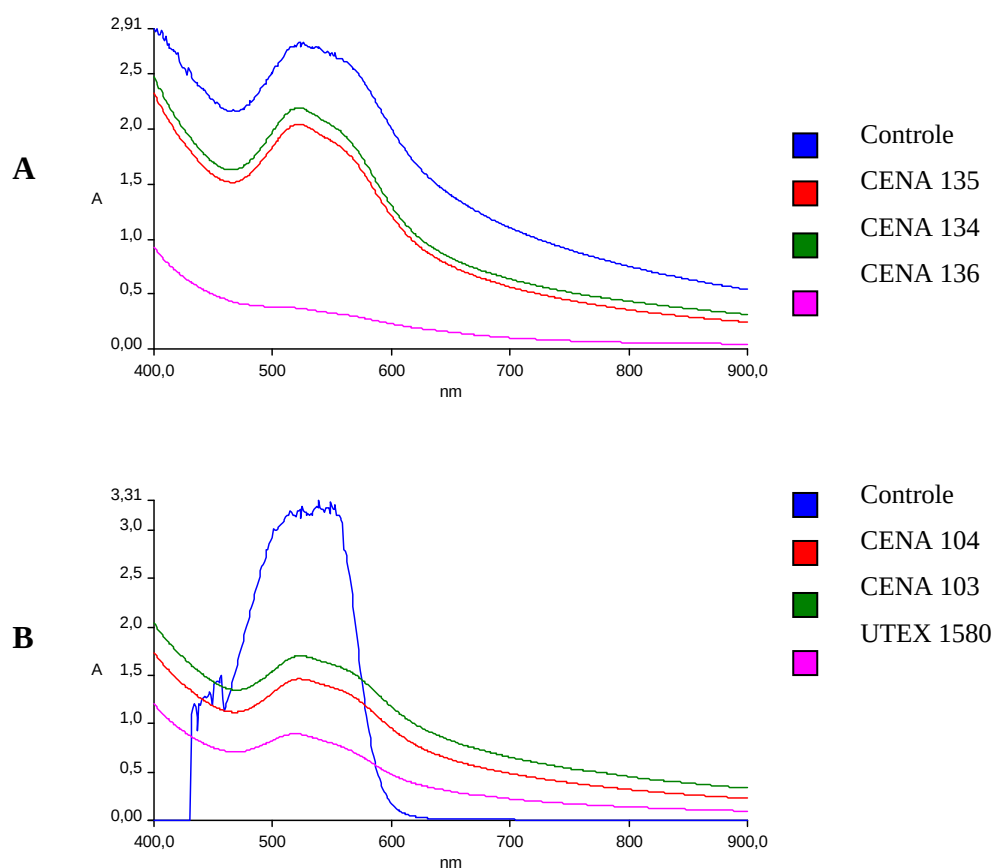


Figura 39. Espectro máximo de absorbância do corante vermelho indantreno. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

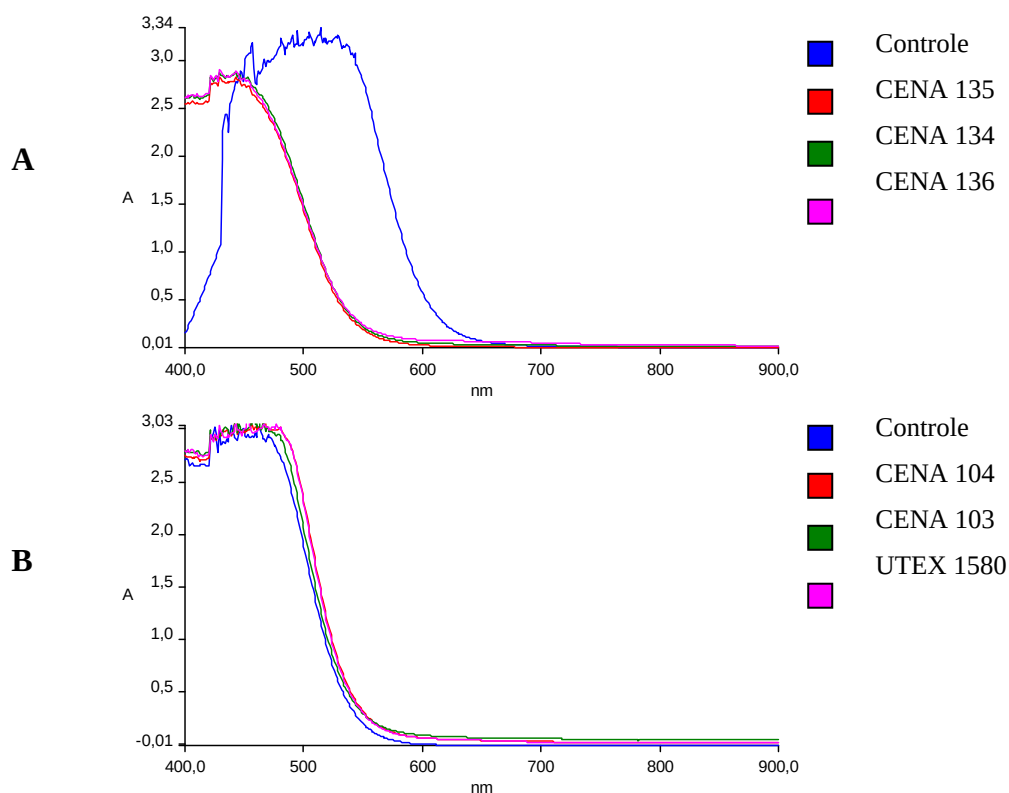


Figura 40. Espectro máximo de absorbância do corante amarelo drimaren. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

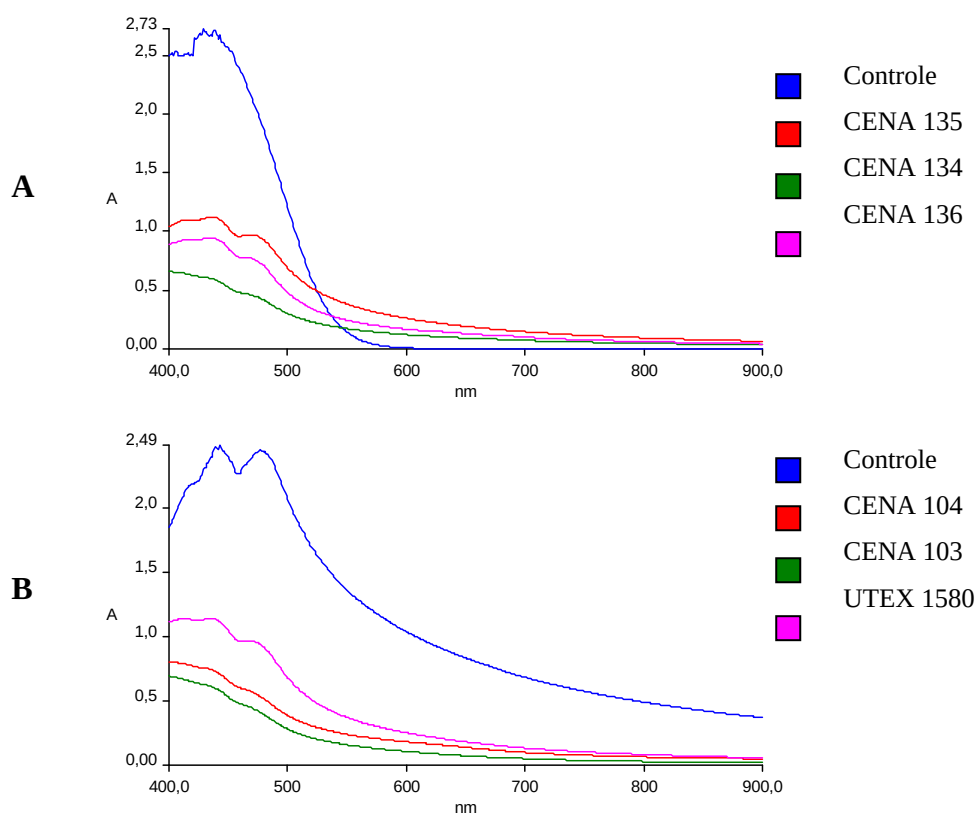


Figura 41. Espectro máximo de absorbância do corante amarelo palanil. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

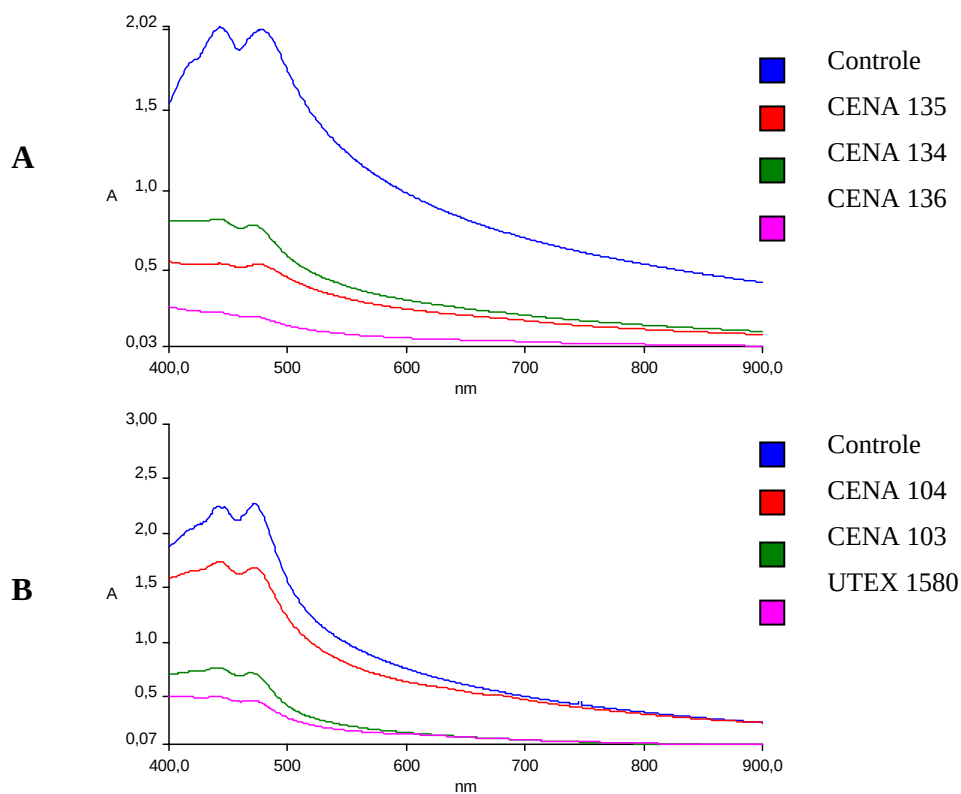


Figura 42. Espectro máximo de absorbância do corante amarelo indantreno. A) Controle em meio de cultivo SWBG-11; B) Controle em meio de cultivo BG-11.

É possível notar uma baixa descoloração do remazol pelas cianobactérias UTEX 1580, CENA 103 e CENA 104, porém esses resultados não foram expressivos. Já para o corante índigo foi possível a remoção de 100% pela CENA 135. O azul indantreno só não foi descolorido eficazmente pela CENA 103 e CENA 104. Já o azul drimaren, o vermelho drimaren e o amarelo drimaren não foram removidos por nenhuma das cianobactérias testadas, com exceção da CENA 104 que removeu 34% do vermelho drimaren. O azul dispersol foi removido em mais de 50% somente pela UTEX 1580. O vermelho dispersol só foi removido em mais de 50% pela CENA 136. O vermelho indantreno só foi removido em mais de 50% pela UTEX 1580. O amarelo palanil foi removido por todas as cianobactérias (exceto pela CENA 136, pois não se pode afirmar que ela foi capaz de descolorir mais do que 50%, por causa dos problemas, já citados acima, de ter feito a centrifugação para tentar separar as células do corante). O amarelo indantreno foi removido pela CENA 103, UTEX 1580, CENA 135 e CENA 134 em mais de 50%.

5.7. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Nas soluções em que as cianobactérias apresentaram uma descoloração superior a 50% foi realizado a CCD, para analisar se ocorreu degradação de alguns compostos ou apenas houve descoloração.

As figuras (43 e 44) abaixo ilustram os corantes que apresentaram bandas na CCD.

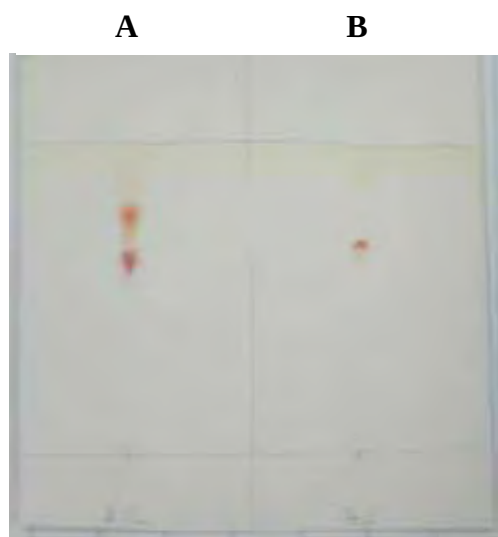


Figura 43. CCD do sobrenadante de *Synechococcus* sp. CENA 136 inoculada com o corante vermelho dispersol. A) Controle (meio de cultivo + corante, sem inóculo); B) Após vinte seis dias do corante na presença da cianobactéria.

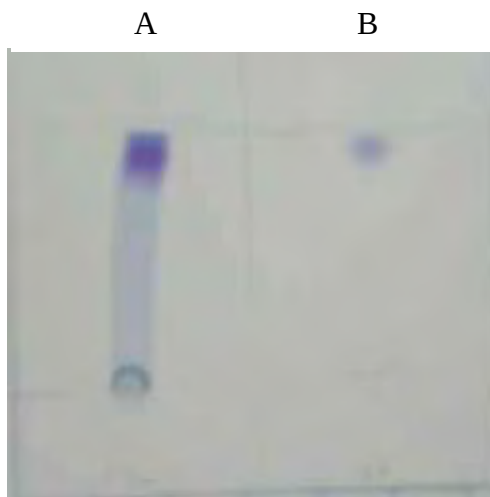


Figura 44. CCD do sobrenadante de *Phormidium autumnale* UTEX 1580 inoculada com o corante azul dispersol. A) Controle (meio de cultivo + corante, sem inóculo); B) Após vinte seis dias do corante na presença da cianobactéria.

As bandas foram visíveis sob lâmpada UV no comprimento de onda a 366 nm. As bandas dos respectivos sobrenadantes foram visualizadas e suas distâncias de migração calculadas (Tabela 5 a 10). Para as soluções onde ocorreu descoloração superior a 50%.

Tabela 5. Rfs do sobrenadante da CENA 135 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm.

Corantes	Rf 1
Controle 2	0,21
2	0,21
Controle 10	0,51
10	0,51
Controle 11	0,75
11	0,75

Tabela 6. Rfs do sobrenadante da CENA 134 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm.

Corantes	Rf 1
Controle 2	0,21
2	0,21
Controle 10	0,51
10	0,51
Controle 11	0,75
11	0,79

Tabela 7. Rfs do sobrenadante da CENA 136 observados visualmente.

Corantes	Rf 1	Rf 2	Rf 3
Controle 7	0,62	0,75	0,89
7	0,62	0,89	

Tabela 8. Rfs do sobrenadante da CENA 104 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm.

Corantes	Rf 1
Controle 2	0,73
2	0,73
Controle 10	0,72
10	0,72

Tabela 9. Rfs do sobrenadante da CENA 103 observados sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm.

Corantes	Rf 1
Controle 2	0,73
2	0,73
Controle 10	0,72
10	0,72
Controle 11	0,81
11	0,81

Tabela 10. Rfs do sobrenadante da UTEX 1580 observados visualmente e sob lâmpada UV com o comprimento de onda 366 nm.

Corantes	Rf 1	Rf 2	Rf 3	Rf 4
Controle 2	0,73			
2	0,73			
Controle 3	0,14	0,58	0,67	0,77
3	0,14			
Controle 5	0,92			
5	0,92			
Controle 8	0,71			
8	0,71			
Controle 10	0,72			
10	0,72			
Controle 11	0,81			
11	0,81			

Os resultados de todas as CCDs mostraram que a intensidade das bandas do sobrenadante de cada cultura foi diferente da dos controles (corante sem inóculo), sendo que nos controles as bandas foram mais visualizadas do que nas amostras descoloridas. Foi

possível observar o desaparecimento de algumas bandas nos sobrenadantes de CENA 136 (1 banda) e UTEX 1580 (3 bandas) que estavam no controle, porém não nas amostras. Estes dados sugerem que o corante tenha sido degradado.

5.8. Teste com o Índigo BANN 30 (em solução aquosa 30%)

A *Phormidium autumnale* UTEX 1580 conseguiu descolorir aproximadamente 70% do corante ao final dos vinte e seis dias. A figura 45 abaixo mostra a descoloração do índigo ao longo dos vinte seis dias.

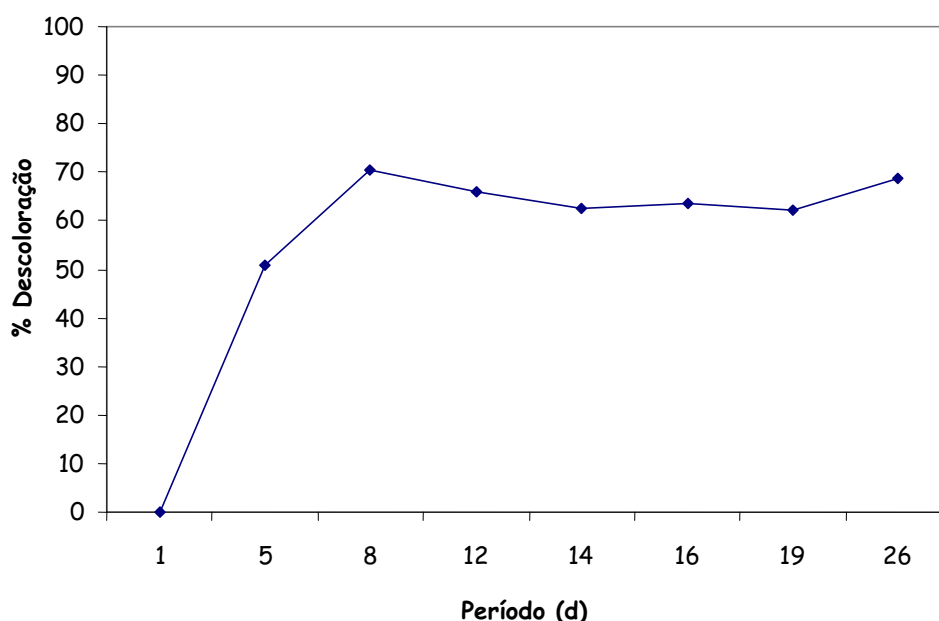


Figura 45. Descoloração do índigo durante o período de vinte seis dias.

5.9. Teste com o corante Remazol Brilliant Blue R – RBBR

Na solução 1 (100 ml de meio BG-11 + cianobactéria + RBBR (0,05%)), foi possível observar depois de alguns dias, que o RBBR (0,05%) inibiu o crescimento da cianobactéria (esta foi retirada da placa de Petri e inoculada no meio BG-11 com a presença do corante).

Na solução 2 (100 ml de meio BG-11 + cianobactéria depois de 15 dias de crescimento + RBBR (0,02%)), foi possível observar, após trinta dias, que a cianobactéria *P. autumnale* conseguiu se desenvolver no meio (ela se fixou na parede do vidro e, além disso, sua biomassa aumentou). Mesmo a cianobactéria tendo se desenvolvido bem, ela não foi capaz de degradar, nem descolorir o corante. A figura 46 abaixo ilustra o crescimento da *P. autumnale* na solução.



Figura 46. *P. autumnale* UTEX 1580 em meio BG-11 líquido com Remazol 0,02%.

O crescimento da cianobactéria *P. autumnale* no meio BG-11 sólido com diferentes concentrações do corante foi relativamente parecido com o desenvolvimento da mesma no meio líquido, pois nas concentrações menores e igual a 0,02% de corante, a cianobactéria conseguiu se desenvolver, já na concentração de 0,04% ela não obteve sucesso. As figuras (47, 48, 49 e 50) abaixo mostram o desenvolvimento da cianobactéria nas diferentes concentrações.



Figura 47. *Phormidium autumnale* em meio BG-11 sólido com 0,005% de Remazol.



Figura 48. *Phormidium autumnale* em meio BG-11 sólido com 0,01% de Remazol.

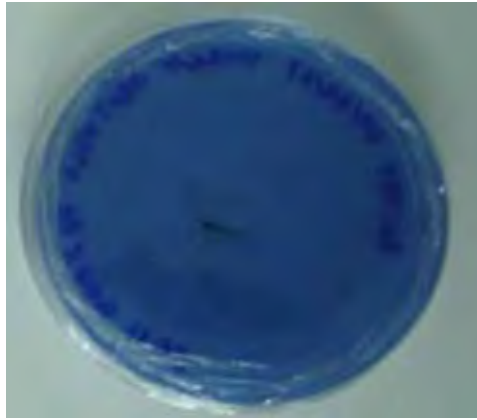


Figura 49. *Phormidium autumnale* em meio BG-11 sólido com 0,02% de Remazol.

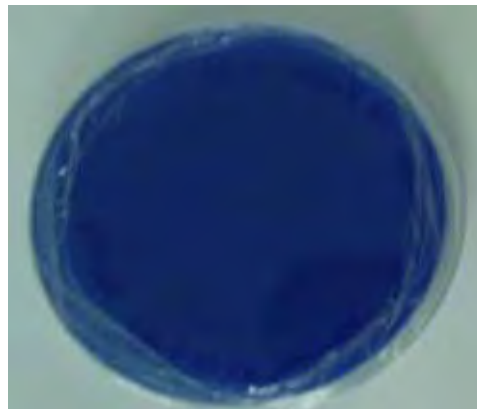


Figura 50. *Phormidium autumnale* em meio BG-11 sólido com 0,04% de Remazol.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho buscou uma solução alternativa para o problema dos efluentes das indústrias têxteis, o tratamento biológico de corantes. Os resultados encontrados são muito interessantes e promissores, podendo vir a serem utilizados em outros estudos, como na biorremediação.

Com base nos resultados apresentados pode-se concluir que:

- As cianobactérias ao serem testadas com corantes têxteis, foram capazes de descolorir em 50% pelo menos um dos corantes. A *Phormidium* sp CENA135, a *Phormidium autumnale* UTEX 1580 e a *Leptolyngbya* sp. CENA103 obtiveram resultados muito expressivos, conseguindo descolorir mais do que 85% de alguns corantes.
- A cianobactéria que obteve o melhor resultado em termos de porcentagem de descoloração foi a *Phormidium* sp. CENA 135, a qual foi capaz de descolorir e remover completamente o corante índigo BANN 30.
- A cianobactéria que apresentou o melhor resultado em relação ao número de corantes descoloridos (descoloração > 50%) foi a *Phormidium autumnale* UTEX 1580. Além disso, esta cianobactéria foi capaz de descolorir em 88% dois corantes: o índigo BANN 30 e o vermelho indantreno.
- No teste com o Remazol Brilliant Blue R – RBBR – a *Phormidium autumnale* UTEX 1580 não conseguiu removê-lo, apenas teve um aumento em sua biomassa.
- Os resultados mostraram que os organismos estudados apresentaram potencial para degradação de corantes têxteis, além de poderem ser utilizados posteriormente em estudos de biorremediação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M.B. Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates. **Journal of Phycology**, v. 4, p. 1-4, 1968.

ASTHANA, R. K.; CHATTERJEE, S.; SINGH, S. P. Investigations on nickel biosorption and its remobilization. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 30, n. 8, p. 729-734, 1995.

BALAN, D. L.; MONTEIRO, R. T. R. Decolorization of textile índigo dye by lignolytic fungi. **Journal of Biotechnology**, Alemanha, v. 89, n. 2-3, p. 141-145, 2001.

BANAT, I. M.; NIGAM, P.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 58, p. 217-227, 1996.

CARR, N. G.; WHITTON, B. A. **The biology of blue-green algae**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1973. 676p.

CASTENHOLZ, R. W. The effect of sulfide on the blue-green algae of hot springs. I. New Zealand and Iceland. **Journal of Phycology**, Baltimore, v. 12, p. 54-68, 1976.

CASTENHOLZ, R.W. Culturing methods for cyanobacteria. In: PACKER, L., GLAZER, A.N. (ed). **Methods in Enzymology**, v. 167, p. 68-95, 1988.

CASTENHOLZ, R. W.; WATERBURY, J. B. Oxygenic photosynthetic bacteria (sect. 19), group I. Cyanobacteria. In: STALEY, J. T.; BRYANT, M. P.; PFENNING, N.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v. 3, p. 1710-1799, 1989.

COHEN, Y.; JORGENSEN, B. B.; REVSBECH, N. P.; POPLAWSKI, R. Adaptation to hydrogen sulfide of oxygenic and anoxygenic photosynthesis among cyanobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 51, p. 398-407, 1986.

DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corante têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Água Residuárias de Americana, SP**. 2005. 136 f. Tese

(Doutorado em Ecologia de Agrossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

DILLON, J. C.; PHUC, A. P.; DUBACQ, J. P. Nutritional value of the alga *Spirulina*. **World Review of Nutrition and Dietetics**, London, v. 77, p. 32-46, 1995.

DOR, I.; DAMIN, A. Cyanobacterial desert crusts in the Dead Sea Valley, Israel. **Archiv fur Hydrobiologie**, Stuttgart, v. 83, p. 197-206, 1996. Supplement 117.

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

FEWSON, C. A. Biodegradation of xenobiotic and other persistent compounds: the causes of recalcitrance. **Trends in Biotechnology**, v. 6, p. 148-153, 1998.

FOGG, G. E.; STEWART, W. D. P.; FAY, P.; WALSBY, A. E. The blue-green algae. **Academic Press**, London, 459p., 1973.

GRAAFF, J. H. H. de. A simple method for the identification of índigo. **Studies in Conservation**, v. 19, p. 54-55, 1974.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000.

HASELKORN, R.; BUIKEMA, W.J. Nitrogen fixation in cyanobacteria. In: STACEY, G.; BURRIS, R. H.; EVANS, H. J. **Biological nitrogen fixation**. New York: Chapman e Hall, 1992. p. 166-190.

HOICZYK, E.; BAUMEISTER, W. Envelope structure of four gliding filamentous cyanobacteria. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 177, p. 2387-2395, 1995.

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

KURITZ, T.; WOLK, C. P. Use of filamentous cyanobacteria for biodegradation of organic pollutants. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 61, n. 1, p. 234-238, 1995.

LIMA, A. L. **Degradação de corantes têxteis por bactérias**. 2004. 38 f. Monografia (requisito da disciplina de estágio supervisionado) – Curso de Ciências Biológicas, Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista, 2004

MARQUEZ, K. N. **Análise morfológica e molecular de cianobactérias isoladas de efluentes de uma mina de urânio desativada com ênfase em *Aphanothece* e sua capacidade de biossorção do ^{226}Ra** . 2006. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

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

NAMIKOSHI, M.; RINEHART, K. L. Biactive compounds produced by cyanobacteria. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v. 17, p. 373-384, 1996.

PARIKH, A.; MADAMWAR, D. Textile dye decolorization using cyanobacteria. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 323-326, 2005.

PATTERSON, G. M. L. Biotechnological applications of cyanobacteria. **Journal of Scientific and Industrial Research**, New Delhi, v. 55, p. 669-684, 1996.

RIPPKA, R. Recognition and identification of cyanobacteria. **Methods in Enzymology**, New York, v. 167, p. 28-76, 1988.

ROSOLEN, L. A. **Biodegradação de efluente têxtil e nove corantes técnicos utilizando fungos basidiomicetos**. 2004. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SCHOPF, J. W. Disparate rates, differing fates: Time and mode of evolution changed from the Precambrian to the Phanerozoic. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 91, p. 6735-6742, 1994.

SCHOPF, J. W. Cyanobacteria: pioneers of the early Earth. **Beihefte zur Nova Hedwigia**, Weinheim, v. 112, p. 13-32, 1996.

SESHADRI, S.; BISHOP, P. L.; AGHA, A. M. Anaerobic/aerobic treatment of selected azo dyes in wastewater. **Waste Management**, v. 15, p. 127-137, 1994.

SILVA, C. S. P. **Caracterização molecular de cianobactérias brasileiras e distribuição de genes de produtos naturais**. 2006. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SKULBERG, A. M. Biophotolysis, hydrogen production and algal culture technology. In: YÜRÜM, Y. (Ed.) Hydrogen energy system. Productio and utilization of hydrogen and future aspects. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, p. 95-110, 1995. (NATO ASI Series E – Applied Sciences, 295).

SMITH, A. J. Modes of cyanobacterial carbon metabolism. **Annales de Microbiologie**, Paris, v. 134B, p. 93-113, 1983.

STAL, L. J.; MOEZELAAR, R. Fermentation in cyanobacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 21, p. 179-211, 1997.

WHITTON, B. A.; POTTS, M. Introduction to the cyanobacteria. In: VOLESKY, B. The ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, p. 1-11, 2000.

WILMOTTE, A. Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria. In: BRYANT, D. A. **The molecular biology of cyanobacteria**. Dordrecht: Kluwer, 1994. p. 1-25.

YUSHU, F.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. **Bioresource Technology**, v. 79, p. 251-262, 2001.