UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CAMPUS DE RIO CLARO

# EMPREGO DA LINHAGEM SELVAGEM DE *Candida albicans* ISOLADA DE EFLUENTE INDUSTRIAL PARA A AVALIAÇÃO DA BIOSORÇÃO/BIODEGRADAÇÃO DO CORANTE AZÓICO "DIRECT VIOLET 51".

**VIVIAN VITOR**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas na área de Microbiologia Aplicada.

RIO CLARO
ESTADO DE SÃO PAULO
BRASIL
2004

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CAMPUS DE RIO CLARO

# EMPREGO DA LINHAGEM SELVAGEM DE *Candida albicans* ISOLADA DE EFLUENTE INDUSTRIAL PARA A AVALIAÇÃO DA BIOSORÇÃO/BIODEGRADAÇÃO DO CORANTE AZÓICO "DIRECT VIOLET 51".

**VIVIAN VITOR**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS RENATO CORSO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas na área de Microbiologia Aplicada.

RIO CLARO
ESTADO DE SÃO PAULO
BRASIL
2004

571.191 Vitor, Vivian
V845e Emprego da linhagem selvagem de *Cândida albicans* isolada de efluente industrial para a avaliação da biosorção/biodegradação do corante azóico \"Direct Violet 51\ / Vivian Vitor. – Rio Claro : [s.n.], 2005
104 f. : il., gráfs., tabs., fots.

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

1. Biofísica. 2. Despoluição ambiental. 3. Biosorção. 4. Biodegradação. 5. Biorremoção. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela STATI – Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

*"Apenas três coisas têm o poder de alcançar além deste mundo: o sol, com a sua luz, as trevas da noite e o comprido braço de Deus."*

*Provérbio Oriental.*

A meus pais Antonio Vitor e Cleonice Maria Paschoaloto Vitor, meu esposo Wagner Pirágine Júnior e a minha irmã Giseli Vitor, que sempre me incentivaram a estudar, dedico este trabalho, pois a família é a nossa sustentação para prosseguir na caminhada em busca dos nossos ideais e realizações. Obrigada por acreditarem na minha capacidade.

E, também, àquela "mão divina" que se transforma em luz e nos ajuda a transformar nossos mais humildes sonhos em realidade.

# AGRADECIMENTOS

Primeiramente tenho que agradecer a Deus, porque foi ele quem me ouviu em minhas orações nas horas em que mais precisei de força para não esmorecer diante das dificuldades.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Renato Corso, pois depositou em mim sua confiança para a realização deste trabalho e que, mesmo diante dos obstáculos enfrentados durante o percurso sempre conseguia me fazer ver um caminho novo a trilhar.

Aos professores do Departamento de Bioquímica e Microbiologia pelo apoio e sugestões que só fizeram contribuir para o enriquecimento deste humilde trabalho.

A todos os funcionários do Departamento de Bioquímica e Microbiologia que sempre foram prestativos e me ajudaram na elaboração e desenvolvimento deste trabalho. Em especial ao Roberto José Pedro que compartilhou comigo idéias e dedicou parte do seu tempo para me ajudar neste projeto.

Aos amigos de curso, principalmente à Adriana de Campos, que acabaram se tornando pessoas muito especiais na minha vida, agradeço por compartilharem comigo conhecimentos importantes e necessários para que eu pudesse realizar este projeto.

Agradeço aos meus pais pela confiança, ajuda, compreensão, carinho e amor que sempre me deram e com isso me ajudaram muito na realização deste trabalho.

A minha irmã pelas orientações e dicas de computação que me ajudaram a escrever este trabalho.

A meu esposo que esteve sempre presente e me ajudou na execução deste trabalho, a minha sincera gratidão por compreender as minhas ausências e me encorajar a chegar até o final.

# ÍNDICE


| | | Página |
|---|---|---|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 2 |
| 2.1. | Corantes..... | 2 |
| 2.2. | Toxicidade e problemas ambientais dos corantes..... | 7 |
| 2.3. | Tipos de tratamentos de efluentes industriais contendo corantes..... | 10 |
| 2.3.1. | Tratamentos Físicos..... | 10 |
| 2.3.2. | Tratamentos Físico-Químicos..... | 11 |
| 2.3.3. | Tratamentos Biológicos..... | 12 |
| 2.3.4. | Materiais Adsorventes Alternativos..... | 14 |
| 2.3.5. | Biosorção e Biodegradação..... | 16 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 24 |
| 3.1. | Microrganismo utilizado..... | 24 |
| 3.2. | Identificação da levedura..... | 24 |
| 3.3. | Meios de cultura..... | 25 |
| 3.4. | Preparo da solução de corante..... | 26 |
| 3.5. | Teste de estabilidade dos corantes em diferentes valores de pH..... | 27 |
| 3.6. | Teste de biosortividade do corante..... | 28 |

# ÍNDICE


Página

3.7. Teste de viabilidade celular das leveduras de *Candida albicans* em contato com o corante em diferentes valores de pH..... 29

3.8. Teste de biosorção segundo as Isotermas de Adsorção de Langmuir e Freundlich..... 30

3.9. Teste cinético realizado com a biomassa não autoclavada e autoclavada de *Candida albicans* durante 96 horas em diferentes valores de pH..... 31

3.10. Teste de biosorção e biodegradação do corante Direct Violet 51 pelo UV-VIS em diferentes valores de pH..... 31

3.11. Estudo da biosorção e biodegradação do corante Direct Violet 51 em diferentes valores de pH e sobre a parede celular da *Candida albicans* através do FT-IR..... 32

4 RESULTADOS..... 33

4.1. Cultura de *Candida albicans* em placa de Petri..... 33

4.2. Obtenção dos espectros do corante Direct Violet 51... 35

4.3. Teste de biosortividade do corante em diferentes valores de pH..... 40

4.4. Estimativa de remoção total do corante em solução... 44

4.5. Teste de viabilidade das leveduras em contato com o corante em diferentes valores de pH..... 46

4.6. Teste de biosorção segundo as isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir..... 50

# ÍNDICE

Página

4.7. Demonstrativo do coeficiente de correlação obtidos através das equações de Freundlich e Langmuir..... 57

4.8. Modelo do experimento utilizado para os testes cinéticos entre a levedura *Candida albicans* viva e autoclavada e o corante direto Direct Violet 51..... 59

4.9. Teste cinético realizado coma linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada durante 96 horas e diferentes valores de pH..... 62

4.10. Teste de biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 pelo UV-VIS em diferentes valores de pH..... 66

4.11. Estudo da biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 pelo FT-IR em diferentes valores de pH..... 70

4.12. Estudo da biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 pelo FT-IR em diferentes valores de pH sobre a parede celular de *Candida albicans*..... 74

5 DISCUSSÃO..... 81

5.1. Microrganismo utilizado..... 81

5.2. Corante utilizado..... 82

5.3. Obtenção dos espectros de absorção do corante..... 82

5.4. Teste de biosortividade dos corantes em diferentes valores de pH..... 83

5.5. Teste de viabilidade das leveduras em contato com o corante em diferentes valores de pH..... 83

# ÍNDICE


| | | Página |
|---|---|---|
| 5.6. | Teste de biosorção segundo as isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir..... | 84 |
| 5.7. | Teste cinético realizado com a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada em diferentes valores de pH..... | 85 |
| 5.8. | Teste de biodegradabilidade do corante Direct Violet 51 em diferentes valores de pH..... | 85 |
| 5.9. | Estudo da biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 pelo FT-IR em diferentes valores de pH..... | 86 |
| 6 | CONCLUSÃO..... | 88 |
| 7 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 90 |

# RESUMO

A presente pesquisa enfoca a utilização da levedura *Candida albicans*, isolada de um efluente industrial, em processos de remoção de corantes azóicos. Neste estudo o corante escolhido foi da classe dos diretos, o Direct Violet 51 em solução aquosa.

A levedura selvagem foi utilizada na forma de suspensão no estudo da biosorção do corante em diferentes valores de pH comparando o comportamento das células não autoclavadas e autoclavadas, objetivando a remoção do corante em solução aquosa.

O corante Direct Violet 51 foi analisado quanto a sua estabilidade espectral em diferentes valores de pH e melhor pH biosortivo, mostrando-se praticamente estável em termos espectrais e o valor de pH 2,5 foi o que melhor se mostrou ativo quanto a capacidade de remover o corante frente as biomassas não autoclavadas e autoclavada de *Candida albicans*.

Em todos os experimentos de interação biosortiva realizados entre a biomassa e o corante, as células autoclavadas foram as que apresentaram uma maior capacidade biosortiva em relação as células não autoclavadas.

A avaliação do potencial adsortivo da levedura foi analisado de acordo com as Equações das Isotermas de Adsorção de Freundlich e Langmuir.

A comparação entre os coeficientes de correlação das Isotermas de Adsorção indicam que a equação de Langmuir é a que melhor explica a interação da levedura com o corante Direct Violet 51 em todos os valores de pH.

O estudo comparativo realizado entre as leituras das amostras pelo aparelho UV-VIS e pelo FT-IR mostraram que há pequenas alterações na estrutura do corante podendo ser um indício de biodegradação.

Pelos dados apresentados, o que de fato podemos afirmar é que, do ponto de vista da biosorção, a levedura *Candida albicans* demonstra habilidade na remoção de substâncias coloridas, tendo potencial enzimático capaz de alterar as estruturas químicas destes pigmentos coloridos que são encontrados em efluentes industriais.

## ABSTRACT

The present research focuses the utilization of yeast *Candida albicans*, isolate of a industrial effluent, in processes of removal of azo-dyes. In this study, the dye used was the Direct Violet 51 that belong the classroom of the direct dyes.

The wild yeast was used in the suspension form in the study of the biosorption of the dye in different values of pH, comparing the behavior of the autoclaved cells and not autoclaved cells, objectifying the removal of the dye in aqueous solutions.

The dye Direct Violet 51 was analyzed in its spectral stability in different values of pH and was found the better biosorptive pH value, revealing practically steady in spectral terms, and the value of pH 2,50 was what it presented greater capacity to remove the dye front the autoclaved cells and not autoclaved cells of the *Candida albicans.*

In all the experiments of biosorptive interaction carried through between the biomass and the dye, the autoclaved cells had been the ones that had presented a greater biosorptive capacity in relation the not autoclaved cells.

The evaluation of the adsorptive potential of the yeast was analyzed in accordance with the equations of the isotherms of adsorption of Freundlich and Langmuir.

The comparison between the coefficients of correlation of the Isotherms of Adsorption indicates that the equation of Langmuir is the one that better

explains the interaction of the yeast with the dye Direct Violet 51 in all values of pH.

The carried through comparative study it between the readings of the samples for the device UV-VIS and for FT-IR, they had shown that it has small alterations in the structure of the dye, being able to be a biodegradation indication.

For the obtained data, what we can affirm is that, of the point of view of the biosorption, the yeast *Candida albicans* demonstrates ability in the colorful substance removal, having potential enzymatic capable to modify the chemical structures of these colorful pigments that are found in industrials effluents.

## 1-INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com os impactos ambientais gerados pela produção de bens e serviços tem induzido o desenvolvimento de técnicas ferramentas e métodos que visam auxiliar na compreensão deste processo, para atuar na eliminação, minimização ou controle destes impactos.

Sem dúvida, a contaminação de águas naturais tem sido um dos grandes problemas da sociedade moderna, sendo que a economia de água em processos produtivos vem ganhando especial atenção devido ao valor agregado que tem sido atribuído a este bem, através de princípios como consumidor pagador e poluidor pagador recentemente incorporados em nossa legislação. Também não podemos nos esquecer que as previsões não são muito animadoras como a estimativa feita pela SABESP (Companhia de Saneamento do Estado de São Paulo) que prevê que já em 2010 a demanda de água será superior a capacidade hídrica dos mananciais do estado.

Dentro desse contexto, o setor têxtil apresenta um especial destaque, devido a seu grande parque industrial instalado gerar grandes volumes de efluentes, os quais, quando não tratados corretamente, podem causar sérios problemas de contaminação ambiental.

Os efluentes têxteis caracterizam-se por serem altamente coloridos devido à presença de corantes que não se fixam na fibra durante o processo de tingimento.

A liberação destes compostos coloridos, normalmente tóxicos, representa um dos maiores problemas ambientais, pois tais substâncias

apresentam alta recalcitrância no meio aquático e a sua persistência, deve-se ao fato dos corantes apresentarem em sua composição química uma grande quantidade de anéis aromáticos, ligações azóicas, aminas e grupos sulfônicos. Estas características conferem aos efluentes têxteis contendo corantes um lento processo de biodegradação natural, além disso, os resíduos destes compostos possuem um alto potencial tóxico sendo capazes de provocar problemas mutagênicos, carcinogênicos, ou bioacumulativos na cadeia alimentar podendo afetar inclusive o homem que vier a fazer uso dessas águas.

Vale salientar ainda que vários aspectos merecem uma regulamentação adequada que obriguem as fábricas e usuários destes compostos a tomarem os devidos cuidados em operações de manuseio dos corantes no sentido de se evitar o desperdício e de não poluírem o meio ambiente.

Devido a estas irrelevantes implicações ambientais, novas tecnologias têm sido buscadas para a degradação ou imobilização destes compostos em efluentes têxteis.

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

Atualmente há a necessidade de maiores investimentos no desenvolvimento de técnicas de combate à poluição e tratamento de resíduos industriais visando a solução do problema na sua origem. No Brasil, a tecnologia existente no atual momento é na sua maioria importada, de alto custo de instalação e manutenção, além de ter seu grau de eficiência questionado pelos meios científicos quanto ao seu potencial tóxico remanescente.

As técnicas de tratamento fundamentadas em processos de coagulação, seguidos de separação por flotação ou sedimentação, apresentam uma elevada eficiência na remoção de material particulado. No entanto, a remoção da cor e compostos orgânicos dissolvidos mostram-se deficientes. Os processos de adsorção em carvão ativado apresentam uma eficiência significativamente maior, contudo em função da superfície química do carvão ser positiva, a adsorção de corantes de caráter catiônico é uma limitação bastante importante.

Além das desvantagens aqui assinaladas, é importante salientar que todos os processos anteriormente citados correspondem a sistemas não destrutivos, fazendo com que a disposição final das fases sólidas continuem sendo um problema.

Em função desses inconvenientes existe uma certa predileção pela utilização de processos que possam degradar os compostos de interesse. Dentre os processos destrutivos, os processos biológicos ocupam lugar de destaque, principalmente pela facilidade de implementação desses sistemas que operem em grande escala.

Os processos biológicos utilizados com maior freqüência são os sistemas de lodo ativado, mas, infelizmente o processo apresenta o inconveniente de estar susceptível à composição do efluente, além de produzir um grande volume de lodo, uma vez que o sistema apresenta uma eficiência

alta com grande adsorção de corante impedindo a possibilidade de reaproveitamento.

As técnicas biosortivas estão se destacando pela possibilidade de remover as moléculas de corantes e compostos orgânicos que ficam aderidas na superfície dos microrganismos. Este fato é de grande importância pois permite que as estruturas orgânicas sejam removidas do meio aquoso aderidas ao microrganismo evitando assim o seu desdobramento em sub-produtos tóxicos.

Contudo não podemos deixar de citar a grande motivação dos pesquisadores envolvidos em estudos de biodegradação buscando microrganismos versáteis, capazes de degradar de maneira eficiente um grande número de poluentes a um baixo custo operacional.

Neste contexto, o presente trabalho estuda a utilização da levedura *Candida albicans* na remoção do corante azóico direto Direct Violet 51 em solução aquosa. As leveduras foram utilizadas na forma de suspensão, analisando a biosorção do corante em diferentes valores de pH e em células não autoclavadas e autoclavadas de leveduras, com o objetivo de analisar as equações das isotermas de adsorção e verificar se ocorre somente o processo adsortivo ou se há algum indício de biodegradação do corante por parte do microrganismo utilizado.

## 2- REVISÃO DA LITERATURA:

### 2.1-Corantes

Desde a Era Pré Histórica, o homem já tingia sua pele, couro, tecidos e outros objetos com substâncias naturais extraídas dos vegetais e também dos animais.(ZOLLINGER, 1987)

O primeiro corante sintético de que se tem conhecimento foi descoberto por um jovem químico inglês Willian Henry Perkin, em 1856, quando ele misturou anilina e toluidina obtendo uma substância de intensa cor púrpura azulada, que em solução com metanol tinha a capacidade de tingir a seda. As propriedades de tingimento como coloração acentuada, que não saía quando lavada e nem descoloria quando exposta à luz solar durante semanas fizeram com que o produto fosse patenteado e fabricado em escala comercial, (CORSO, 1998)

De acordo com a literatura, as primeiras matérias primas para a síntese dos corantes têxteis eram extraídas da destilação fracionada do alcatrão da hulha. Nos dias de hoje essas matérias são produzidas na indústria petroquímica como o benzeno, tolueno, xileno, naftaleno, antraceno, etc.; quando submetidos a reações de sulfonação, nitração, aminação, diazotação, halogenação, oxidação, redução, e que resultam em intermediários para as indústrias produtoras de corantes e pigmentos.(GOLDEN..., 2001a)

Conforme estudo de BANAT et al (1996) existem mais de 100.000 corantes comercialmente disponíveis e mais de 8.000 produtos químicos associados com o processo de tingimento, que possuem em comum a característica de absorver luz na região do visível.

Anualmente produz-se cerca de 800.000 toneladas de corante sintético, ou seja 640.000 toneladas de substâncias ativas, incluindo 40.000 toneladas de agentes branqueadores fluorescentes. A indústria têxtil é responsável por 56% da produção mundial, pigmentos orgânicos 23%, tingimento de papéis e couro 15%,agentes branqueadores fluorescentes e outros 6%.Atualmente a fabricação de corantes está concentrada na Europa Ocidental 39%, nos Estados Unidos 17%, seguidos pela China 9%, Japão 8% e Índia concorrem com 2% e a América do Sul e México com 2%.(CORSO, 1998)

Por volta de 1990, houve a abertura do mercado, e no Brasil a venda de corantes e pigmentos cresceu 50%, mas ainda enfrentando a concorrência asiática (China, Tailândia, Índia e Paquistão além da Argentina e alguns países do Leste Europeu).Esses países apesar de oferecerem um produto de qualidade inferior, conseguem ser imbatíveis no preço, uma vez que são produzidos por centenas de pequenos fabricantes sem ligação entre si e depois coletados para a exportação por cooperativas ou empresas de comercialização, originando assim falta de homogeneidade, e consequentemente produtos de qualidade inferior, com margem de até 10% de tolerância na concentração de cor e na matiz, contra um limite máximo de 2,5% em produtos ditos padronizados. (NOTHENBERG, 1994)

Neste contexto, não podemos deixar de citar que a transferência de fabricantes do mercado europeu e norte-americano para os países do terceiro mundo se deve ao fato das crescentes restrições ambientais dos países de origem para lugares onde a legislação ambiental é mais branda nos limites de poluentes tolerados. Assim sendo, os preferidos são os asiáticos, principalmente aqueles onde os regulamentos ecológicos praticamente não existem, permitindo produções a custos muito baixos com mão de obra também barata, graças a literal dispensa do tratamento de efluentes e resíduos industriais. Muitas fábricas estão também ampliando suas instalações no Brasil devido o fechamento de suas unidades nos países sede, por não possuírem locais adequados conforme os requeridos pela legislação, principalmente nos Estados Unidos e na Europa, no que se refere ao tratamento de efluentes, uma vez que os parâmetros exigidos pela CETESB, por exemplo, são menos rígidos do que os citados anteriormente, onde consta a obrigatoriedade da reutilização de lamas resultantes de águas residuais e redução dos seus efeitos nocivos, com a proibição de seus lançamentos em águas superficiais a partir de 1998.(MARCANTI-CONTATO, 1995a)

Na sociedade moderna sabemos que muitos produtos são coloridos através de corantes e pigmentos para dar aparência estética e atratividade aos produtos a nível comercial. Deste modo produtos têxteis, plásticos, madeira, papéis alimentos, tintas, tinturas de cabelo, medicamentos, couros, aditivos e outros requerem coloração (HOLME, 1984). Os azo corantes constituem a classe mais empregada nestas áreas mencionadas, produzidos já há cerca de um século meio, representam cerca de 65% dos corantes produzidos nas indústrias de corantes (COLLIER et al, 1993).

A classe dos azos corantes é caracterizada pela presença de uma ou mais ligações R-N=N-R, preparada pelo acoplamento de uma amina aromática diazotada com um fenol ou amina aromática (ZOLLINGER, 1961, apud STRAUB et al, 1993).

Os corantes possuem em sua formulação uma grande variedade de grupos cromóforos que podem carregar diferentes substituintes, os quais vão

influenciar a cor e também proporcionar condições para a coloração de substratos específicos (BROWN, 1987). Vários substituintes em cada componente conduzem a uma variedade de cores e características de solubilidade (STRAUB et al, 1993).

Segundo SHAUL et al, 1985, os radicais fenil e naftil destes corantes podem ser substituídos por grupos funcionais orgânicos e inorgânicos como amino cloro, hidróxi, nitro e sais de sódio do ácido sulfônico.

Inicialmente, os corantes aplicados eram de origem natural, como é o caso do índigo, corante este que é usado em maior volume, devido ao seu emprego no jeans e que teve aumento acentuado na década de 70. Sua primeira síntese em escala industrial ocorreu em 1887 por ADOF VON BAEYER, e sua síntese comercial com sucesso aconteceu em 1890 por K. HEUMANN.(ULLMANN´S, 1989)

Devido a grande importância comercial e cotidiana dos corantes, foram criadas nas últimas décadas novas classes de corantes visando o atendimento das necessidades atuais de mercado e ao tingimento de novos tipos de fibras químicas (ZOLLINGER, 1988).

Neste contexto, os corantes podem ser classificados de duas maneiras, uma delas seria de acordo com a sua constituição química, ou seja, conforme os grupos cromóforos ou unidades de cor da molécula, onde podemos destacar os grupos nitroso, nitro, azo, azóico, estibeno, difenilmetano, triarilmetano, xanthene, enxofre, acridino, quinolina, metina, tiazol, indamida, indofenol, azina, ozazina, tiazina, lactona, aminocetona, hidroxicetona, antraquinona, indigóide, ftalocianina, bases naturais e de oxidação. A outra forma baseada na classe de aplicação ou uso final do corante, neste caso incluímos os corantes diretos, ácidos, reativos, sulforosos, catiônicos e dispersos.

Com a descoberta dos corantes diretos, por volta do século XIX, deu-se o início em uma nova era no que diz respeito ao tingimento, uma vez que a principal característica desta classe é a sua aplicação direta sobre a fibra, sem a necessidade de mordentes. Isto favoreceu também o custo do processo tornando-os mais baratos pelo fato dos corantes diretos serem de fácil aplicação.

De um modo geral os corantes diretos são aniônicos solúveis em água quando na presença de eletrólitos, sais que aumentam sua afinidade pela fibra celulósica.

Os corantes diretos são, na sua maioria, compostos azo-sulfonados, podendo ser monoazo, diazo, triazo e poliazo. A afinidade com as fibras da celulose estaria relacionada com a sua estrutura molecular linear, a qual poderia alinhar-se em sua extensão sobre a superfície da fibra.

Eletrólitos como o sulfato de sódio, são utilizados no banho visando promover a exaustão dos corantes diretos, ou seja, a adesão do corante à fibra, uma vez que na água as fibras assumem cargas negativas repelindo os íons também carregados do corante e os eletrólitos reduzem/extinguem a carga da fibra, facilitando a aproximação do íon corante para a formação de pontes de hidrogênio em adesão por forças apolares de van der Waals.

A temperatura de aplicação do corante varia desde a ambiente até a ebulição, sendo que uma temperatura excessiva pode aumentar a capacidade de migração e igualização, porém reduz a afinidade com o substrato. O tempo de tingimento varia entre 30 e 60 minutos, dependendo dos tratamentos adicionais adotados. O pH do banho normalmente é a partir do neutro, sendo

que valores de pH ácidos podem provocar alteração de matiz e os valores de pH alcalinos produzem efeitos retardantes na adsorção.

Na indústria têxtil, os corantes diretos podem ser utilizados em fibras celulósicas, algumas proteicas e poliamidas, mas também podem ser aplicadas em papel, couro, preparações de sais de metal pesadas para uso em pigmentos, mordentes biológicos e indicadores.(GIORDANO, s.d.)

Para realizar a análise dos corantes temos que lançar mão de algumas técnicas conhecidas como a espectrofotometria, que neste caso especificamente foi utilizada tanto no visível quanto no ultravioleta, além do infra vermelho.

A absorção molecular na região do ultravioleta e do visível depende da estrutura eletrônica da molécula. A absorção de energia é quantizada à passagem dos elétrons de orbitais do estado fundamental para orbitais de maior energia em um estado excitado. Para muitas estruturas eletrônicas esta absorção ocorre em uma porção pouco acessível do ultravioleta. Na prática, a espectrometria no ultra violeta é limitada, na maior parte, aos sistemas conjugados.(SILVERSTEIN et al, 1987)

Em contraste com os poucos picos observados na região do ultra violeta para muitos compostos orgânicos, o espectro no infravermelho fornece um rico agregado de bandas de absorção. Muitas destas bandas não podem ser atribuídas corretamente, contudo, as que podem, fornecem um conjunto de informações estruturais sobre a molécula.(DYER, 1969)

## 2.2-Toxicidade e problemas ambientais dos corantes

Corantes são lançados no meio ambiente em grandes concentrações nos efluentes industriais, e estes compostos coloridos são facilmente visíveis ao penetrar em corpos d'água. As implicações ambientais advêm da alta recalcitrância destes compostos no meio aquático e da sua persistência, devido a sua composição química que normalmente envolvem anéis aromáticos, ligações azóicas, aminas e grupos sulfônicos. A liberação destes compostos, normalmente tóxica, representa um dos maiores problemas ambientais.

Todas estas características mostram que os efluentes contendo corantes são de biodegradação natural lenta e seus resíduos apresentam um alto potencial tóxico, podendo provocar problemas mutagênicos, carcinogênicos ou biocumlativos nas cadeias alimentares incluindo o homem que venha a fazer uso desta água.(CORSO, 1998)

Nas últimas décadas, várias substâncias derivadas de corantes foram testadas para se avaliar os efeitos tóxicos "in vivo" em animais de laboratório, dados estes que podem ser transportados para os seres humanos através de estimativas. Na Índia, ainda hoje se usa o Metanil Yellow como corante alimentar, mesmo sendo alertados por autores como NAGARA e DESIRAJU, 1993, que estudaram o efeito deste corante em cérebros de ratos. Os efeitos observados foram um retardo para atingir um certo condicionamento, além de danos irreversíveis no hipotálamo.

Em outro estudo, ratos foram alimentados com níveis baixos de Aflatoxina B1 e 3 metil dimetil aminobenzeno durante seis semanas, em três semanas os testes detectaram uma situação subcarcionogênica, mas ao final do tempo resultava em uma grande incidência de hepatocarcinoma.(NEAL e BUTLER, 1978)

KUNDU et al, 1989, estudaram a toxicidade de corantes diluídos em efluentes de indústria de tingimento para o lagostim *Paraopenaopsis sculptilis* e observaram que a natureza físico-química do efluente apresentou altas taxas de sólidos BOD e COD, além de sódio, magnésio, cálcio, cloro, nitrogênio amoniacal e dos próprios corantes, indicando um não balanceamento osmótico nas larvas do lagostim, o que levou a uma mortalidade dos mesmos a uma concentração de 1%.

TICE, 1988, avaliou os compostos benzeno, metilisocianato, butadieno, cloropreno e isopreno, quanto as atividades citotóxicas em células somáticas de roedores e constatou com grande freqüência nesses ensaios alterações citogenéticas como aberrações cromossômicas, micronúcleos, intercâmbio de cromátides irmãs entre outras.

GREGORY (1986), após relacionar estudos de carcinogenicidade dos corantes com suas estruturas azo, concluiu que corantes resistentes à degradação química podem ser considerados pró-carcinogênicos e que os azo corantes encontrados na forma hidrazone são mais suscetíveis à redução química. Este mesmo autor relata que a genotoxicidade do corante é determinada pela presença de aminas aromáticas liberadas após redução dos azo corantes na forma hidrazone. Segundo o autor, o elemento promotor de carcinogênese tanto pode ser a molécula do corante intacta, quanto um metabólito de amina aromática.

SHAUL et al, 1986, investigaram alguns casos e puderam constatar que é possível que alguns produtos de redução possam ser menos tóxicos do que a molécula original, mas que na maioria dos casos a toxicidade aumenta quando ocorre a quebra dos compostos em estruturas descoloridas, como aminas aromáticas, consideradas potencialmente carcinogênicas e ainda mais tóxicas para a biota aquática e aos humanos.

A absorção de corantes derivados de alcatrão da hulha, derivados de anilinas em efluentes industriais foi investigada por TNOGAI et al (1980) e constataram que os mesmos causam níveis de aguda toxicidade para os peixes investigados. Ainda segundo os autores, o tratamento destes corantes com solução de hipoclorito de sódio promove a detecção de clorofórmio na solução de corante em quantidade proporcional à concentração de cloro e tempo de reação que foram submetidos no sistema.

BARRET et al (1966) verificaram que após administrarem em ratos intravenosamente e intraperitonial m-metil orange e metil orange, estes excretaram corantes monometilados ou completamente desmetilados na urina e na bile, e que os microssomos do fígado de ratos são capazes de desmetilar o metil orange, indicando que além da solubilidade dos lipídeos, existem outros fatores interferentes importantes no metabolismo de drogas.

No que se refere a doenças ocupacionais, estudos pioneiros encontraram alta incidência de tumores de bexiga em trabalhadores expostos a substâncias como benzidina, alfa ou beta naftlamina numa indústria química da Inglaterra (CASE et al, 1954). CONDE-SALAZAR et al (1984) comprovaram a ocorrência de dermatites de contato, reações alérgicas e até eczemas crônicos

provocados pela liberação de aminas na pele em pacientes que faziam uso ocupacional de corantes azóicos. Em um estudo posterior realizado por NILSSON et al (1993), também ficou comprovado casos de distúrbios respiratórios, como asma e rinite, além de reações alérgicas da pele em trabalhadores expostos a corantes reativos.

Segundo DEL NUNZIO (1989), o desenvolvimento de novos produtos busca sempre atender a um efeito desejado dentro de um processo de produção, e os insumos químicos reagem entre si, produzindo efeito em diversos materiais ou condicionando processos.

Quando ocorre o desenvolvimento de algum produto deve-se fazer um estudo do efluente que será gerado após aplicação, pois na maioria das vezes só se estuda o produto como será fornecido e os efluentes costumam conter subprodutos das reações ou excessos utilizados. Podemos destacar o surgimento de surfactantes usados em processos de tingimento têxtil que possuem boas propriedades ecológicas e toxicológicas, pois contêm agentes antiespumantes sendo considerados biodegradáveis. (WAHLE, 1990)

NEIHEISEL (1988) avaliou a redução da toxicidade e a importância da fonte poluidora, comparando o tratamento de efluentes domésticos e industriais clorados e não clorados e seu efeito na sobrevivência, crescimento e reprodução de *Ceriodaphnia sp*, e concluiu que todos os efluentes industriais foram tóxicos e apresentaram alguma toxicidade residual.

A biodegradação dos corantes sob condições aeróbicas é pequena e a degradação anaeróbica de corantes azóicos forma derivados amina, devendo ser seguida de degradação anaeróbica. Alerta-se ainda para as seguintes observações: que os corantes da linha azo são reduzidos para grupos aminas aromáticas mutagênicas ou carcinogênicas, que os corantes reativos e dispersos demonstraram ser passíveis de provocar reações alérgicas ou respiratórias e que pigmentos orgânicos, em geral, são insolúveis devido a sua estrutura química ser de pequena relevância toxicológica e ecológica, Estes dados foram constatados por HUNGER e JUNG (1991) durante a investigação da toxicologia e ecologia de corantes orgânicos.

Um aspecto defendido por vários autores e também apoiado por ANLIKER (1986), após observar que de 3000 corantes testados cerca de 59% apresentaram-se como não tóxicos para peixes, e que apenas 18 de mais de 200 corantes comerciais 2% foram tóxicos a níveis menores que 1mg/L, é o fato de certos produtos auxiliares e não os corantes é que seríam responsáveis pelos efeitos tóxicos.

Em interessante trabalho de revisão sobre efluentes têxteis, COIA-AHLMAN e GROFF (1990), descobriram que cerca de 50% dos produtos químicos em efluentes de tingimento e acabamento não foram afetados pelo tratamento biológico. Mas, por outro lado, informaram que surfactantes aniônicos e catiônicos podem ser usados para aumentar o tamanho aparente de pequenos íons de corante e metal, aumentando a eficiência na ultrafiltração e remoção.

Apesar de se conhecerem algumas das reatividades biológicas dos metabólitos dos azo-corantes, muitas outras ainda precisam de um estudo mais aprofundado sobre os reais perigos que possam representar para a saúde humana.(COLLIER et al, 1993)

De acordo com CHUNG (1983), a ação carcinogênica de alguns corantes azóicos pode estar relacionada com a ativação e liberação de aminas

aromáticas durante a azo-redução por processos de degradação química ou biológica, ou ainda com a formação de radicais livres durante a azo-redução. (MANSON et al, 1977)

HUNGER e JUNG (1991) realizaram uma excelente revisão sobre investigações tóxicas em pigmentos e corantes, necessárias para avaliar o potencial de risco para o ambiente e humanos. Os efluentes das indústrias têxteis, alimentícias e de madeira chegam mesmo a serem mais tóxicos que os de mineração, indústrias químicas e alguns setores de refinaria, como ficou demonstrado com observações em trutas em Quebec por BLAISE e CONSTAN (1987).

Segundo ALAM (1991), os efluentes têxteis caracterizam-se por alterar o pH, conter baixo nível de oxigênio dissolvido e altos níveis de metais pesados podendo causar a morte de 100% das carpas expostas por 24 horas quando não diluído e cerca de 50% quando diluído.

O maior desafio frente aos problemas relacionados com a toxicidade dos corantes em corpos d'agua é sem dúvidas a sua remoção dos efluentes, uma vez que mesmo em concentrações abaixo de 1ppm os corantes são visíveis sem solução aquosa. (HOLME, 1984)

## 2.3-Tipos de Tratamentos de Efluentes Industriais Contendo Corantes

Durante as etapas de lavagem e tingimento de tecidos naturais e sintéticos, a indústria têxtil se destaca pelo grande consumo de água e também pelas complexas substâncias poluentes que contêm suas águas residuárias.

No Brasil, a tecnologia de tratamento de efluente líquido têxtil é nova e ainda existem muitas questões a serem pesquisadas.

A escolha da opção de tratamento deve ser feita depois de conhecidas as particularidades do efluente e avaliadas as exigências de controle ambientais atuais e futuras da região, além do custo/benefício da operação para então analisar as soluções aplicáveis, ou seja, um único tipo de tratamento ou a combinação de tecnologias. Mesmo utilizando a aplicação prática mais apta às realidades da empresa, poderão surgir variáveis que necessitarão de monitoramento e pesquisas.(SILVA, 1995)

Os efeitos nocivos dos corantes dispostos em efluentes industriais requerem uma associação de metodologias, uma vez que muitos aspectos são de natureza química, física ou biológica, a fim de se atingir num futuro próximo o objetivo principal que seria a gradual redução de problemas ambientais por parte de todos os cientistas envolvidos na química dos corantes (CORSO, 1998)

Segundo CONCHON, 1995, de um modo geral, podemos afirmar que o potencial poluidor da indústria têxtil abrange cinco campos distintos que são efluentes líquidos, emissões gasosas, resíduas sólidos, odores e ruídos.

A descoloração é possível com a utilização de vários métodos e princípios como floculação, coagulação, sedimentação, filtração, decomposição

por agentes químicos, ozonização, osmose reversa, troca iônica, oxidação e adsorção. (ARVANITOYANNIS et al,1987)

O emprego da biotecnologia na área têxtil, principalmente no que se refere a proteção ambiental, trouxe novas idéias e iniciativas relevantes como a utilização de microrganismos no tratamento de efluentes para a remoção da coloração, compostos tóxicos metais pesados, etc.(USSMAN, 2001)

Dentre as técnicas microbiológicas utilizadas no tratamento de efluentes líquidos têxteis, além da digestão aeróbia e anaeróbia, com a participação do lodo ativado, muitos trabalhos sobre biosorção e biodegradação estão sendo desenvolvidos associando o potencial enzimático microbiano, na degradação de moléculas tidas como tóxicas, como aminas aromáticas, fenóis, etc.(CORSO, 1998)

### 2.3.1-Tratamentos Físicos

Os métodos físicos utilizam grades, peneiras simples ou rotativas, caixas de areia ou tanques de remoção de óleos e graxas, decantadores, filtros de areias, dentre outros equipamentos para fazer a remoção de sólidos flutuantes de dimensões relativamente grandes, de sólidos em suspensão, areias óleos, fibras e gorduras.(SILVA, 1995)

FUKUCHI et al (1980), investigaram as isotermas de adsorção de dez soluções simples e compostas de ácido fenol-benzóico sobre carvão ativado obtidas a 25oC, e após análises constataram que tanto as soluções simples orgânicas (acetona, ácido benzóico, n-butanol, p-clorofenol, metil-etil-cetona, 2-propanol, propionitrila, piridina, vinil-acetato) como as soluções compostas (ácido fenil-benzóico) podem ser caracterizados pela equação de Radke-Prausnitz de isoterma de adsorsão, sendo que os erros de correlação foram da ordem de 10%.

De acordo com os estudos de MARTIN e IWUGO (1982), que investigaram a participação do pH e sólidos suspensos sobre a adsorção de compostos orgânicos por carvão ativado sem efluentes de esgotos, constataram que existe a interferência, principalmente no tamanho do material adsorvido, o qual representou uma proporcionalidade inversa no processo de adsorção e que a efetividade do processo foi mais proeminente em regiões de pH alcalinos ou ácidos.

Nos processos adsortivos por carvão ativado, o tamanho dos seus poros e o tempo de contato para a obtenção do equilíbrio (3 a 5 horas), indicam a natureza do processo adsortivo, segundo MOKRZYCKA e PRZYBINSKY, 1991.

### 2.3.2-Tratamentos Físico-Químicos

O tratamento físico-químico tem por objetivo final a completa mineralização dos compostos, o que somente pode ser alcançado após longos períodos de tratamento e pela combinação de vários métodos.

Estes tratamentos podem ser utilizados para remover material orgânico, coloidal, cor, turbidez, odor, ácidos e álcalis, tomando-se o cuidado de ajustar o pH automaticamente para se evitar riscos operacionais.(FAHL, 2002)

No que se refere ao envolvimento químico nos tratamentos podemos destacar as degradações oxidativas pelo cloro e pelo ozônio como de grande importância prática, apesar de apresentarem algumas desvantagens. O tratamento de cloração é satisfatório para os corantes monoazóicos e antraquinonas aniônicas, mas não oferecem os mesmos resultados com azóicos dispersos e diretos. O método de tratamento de efluentes industriais por cloração utilizando o hipoclorito de sódio não é aconselhado, pois se observou a formação de clorofórmio, além de permitir a transformação de corantes não halogenados em substâncias organo-cloradas (KRIJGSHELD e GEN, 1986).

Dentre os métodos químicos auxiliares, os mais utilizados são os de floculação e coagulação, onde são empregados diversos compostos químicos obtendo resultados diversos para cada caso e normalmente estão associados a outro tratamento como, por exemplo, a ozonação com remoção de partículas colóides e insolúveis, oxidando corantes e reduzindo a concentração de surfactantes aniônicos para 0,5-2mg/L (BURSOVA, 1991).

De acordo com estudos, COIA-AHLMAN e GROFF (1990) constataram que o tratamento com ozônio é mais efetivo do que o cloro e ainda não produz íons inorgânicos, mas apesar destas vantagens o seu custo é muito elevado.

FUKUI et al, 1990, verificaram que após tratamento de efluentes domésticos pelo processo de cloração, amostras de *Salmonella typhymurium* apresentaram atividade mutagênica, enquanto que antes do tratamento não apresentaram nenhum tipo de substância mutagênica.

A maioria dos processos de remoção da cor e do teor orgânico pelo tratamento químico ou bioquímico (carvão ativado, sílica, ozônio, etc) são muito onerosos e ainda alguns deles podem possibilitar a formação de sub-produtos tóxicos na degradação parcial dos efluentes contendo corantes, tornando difícil a sua posterior eliminação, além de parecerem insuficientes. (IDAKA et al, 1985)

Desde então, muitos pesquisadores estudam a remoção de corantes através da floculação e precipitação com sais de ferro e alumina, ou adsorventes como sílica gel, madeira, fibras de lã carbonizada, etc. (MCKAY et al, 1978, KANEKO, 1982/83, PERINEAU et al, 1982).

As vantagens do emprego ozonização de efluentes para a eliminação da cor, paladar e odor, redução da turbidez, sólidos suspensos, BOD e COD, quebra de detergentes, e sulfato de alquilvenzeno, e outras foi evidenciado na revisão feita por MAJUMDAR e SPROUL (1974), que ainda ressaltam que não existe a formação de produtos perigosos durante o tratamento.

O uso de floculantes como sulfato poliferroso para águas residuais de indústrias de corantes mediante aeração, obteve em quatro horas de tratamento mais de 90% de taxa de remoção de cor (ZHU, 1991). Estes dados foram confirmados também para o uso de floculantes em junção com coagulantes por ZHANG (1991).

NILSSON e KVANT (1986), estudaram polímeros orgânicos contendo sulfato férrico de alumínio no processo de coagulação para tratamento de efluentes e observaram que floculação com este composto não removeu a turbidez da água do rio, mas a floculação com polissulfato de alumínio resultou em água clara. O potássio ferroso, um oxidante forte e altamente solúvel em água foi testado por BARTZATT e NAGEL (1991), onde observaram que subprodutos altamente carcinogênicos da quebra de corantes foram removidos como é o caso das nitrosaminas.

### 2.3.3-Tratamentos Biológicos

Recentemente, os efluentes da indústria têxtil têm sido citados por causarem sérios problemas de poluição ambiental. Muitos métodos têm sido usados para purificar estes efluentes. No caso do tratamento biológico, o lado ativado é um dos métodos utilizados. IDAKA et al (1985).

Nos dias de hoje, uma maneira das indústrias tentarem resolver seus problemas de tratamento de esgoto é a utilização do método de lodo ativado biologicamente para minimizar a matéria orgânica dissolvida, a cor e a toxicidade, encontrando nos microrganismos a saída para todos estes problemas.

Os processos biológicos procuram imitar o metabolismo de estabilização dos seres vivos existentes nos rios, lagoas, que transformam a carga orgânica neles despejadas em material celular. O que acontece com os rios é que o excesso de nutrientes causa tal desequilíbrio que todos os seres aeróbios tendem a morrer por falta de oxigênio. As estações de tratamento biológicas procuram evitar que esses despejos causem tal desequilíbrio, removendo a carga de nutrientes na estação.

De acordo com SHAUL et al, 1986 o possível mecanismo de remoção de um corante no sistema de tratamento de lodo ativado incluem os processos de adsorção, biodegradação, transformação química e fotodegradação.

Segundo CONCHON (1995) o tratamento biológico por lodo ativado é o mais indicado para o efluente têxtil, pois apresenta elevada eficiência, grande estabilidade e baixo custo.

O funcionamento dos processos de lodo ativado depende de bactérias que são responsáveis pela decomposição da matéria orgânica do efluente. As bactérias aeróbias e aeróbias facultativas utilizam o material orgânico para sintetizar novas células. Esta etapa ocorre nos tanques de aeração e somente uma parte do despejo original é oxidada para compostos de baixa energia como nitratos, sulfatos e gás carbônico. O material remanescente é utilizado para a síntese de material celular, e a medida que aumentam, os flocos se tornam mais densos que a água e são retirados no decantador, formando muitos produtos intermediários antes de se obter o produto final.

DOHÁNYOS et al. (1978) testaram a remoção de corantes orgânicos por lodo ativado e verificaram que durante a remoção deveriam ser consideradas as estruturas químicas de cada corante. Neste trabalho foi testado vinte

corantes de aplicação têxtil e os resultados mostraram que ocorria um equilíbrio adsortivo entre os corantes e o lodo ativado indicando um mecanismo físico-químico de adsorção como sendo o principal sistema de remoção destes compostos.

Estudos realizados verificaram que o efeito do tratamento biológico com lodo ativado diminui sensivelmente quando o material a ser biodegradado é um corante básico ou contendo metais como cromo, pois estes seriam responsáveis pela supressão da síntese de DNA e consequentemente influenciariam o crescimento celular.(COIA-AHLMAN, GROFF, 1990)

Uma substancial biodegradação primária de corantes como Acid Yellow 36, Acid Orange 7, Acid Red 114 e outros foi verificada por BROWN e HAMBURGER (1987) que relataram também ter sido detectado muitos metabólitos intermediários como aminas aromáticas. Esta biodegradação ocorria em meio anaeróbio, e estes compostos somente foram mineralizados após passarem por um tratamento de digestão aeróbia.

PAGGA e BROWN (1986) obtiveram resultados semelhantes quando investigaram 87 corantes e realizaram testes de biodegradação com digestores aeróbios utilizando microrganismos como inóculos vindos de estações de tratamento com lodo ativado. Neste caso o processo de aeração melhorou a biodegradação, mas grande parte da remoção é realizada via adsorção.

SHAUL (1991) estudou a eficiência do tratamento com lodo ativado para a remoção específica de azo corantes, testaram 18 corantes e puderam observar que 11 não foram significantemente tratados, 4 sofreram significante adsorsão e 3 foram biodegradados.

Dentre as pesquisas envolvendo processos de biodegradação, merecem destaque os estudos de AOKI et al (1984), pois isolaram de solos contaminados a linhagem bacteriana de *Frateria sp* ANA 18, que quando colocada no meio para crescer contendo apenas a anilina como fonte de carbono e nitrogênio a um pH de 5,5, degradou a anilina mais rápido do que a *Rhodococcus erythropolis* NA 13, mesmo tendo vias metabólicas muito parecidas até chegar a mineralização.

ZIMERMANN et al. (1982) isolaram e purificaram a partir de *Pseudomonas* linhagem KF46 uma enzima a qual chamaram de Orange II Azo-redutase, pois verificaram que esta inicia a quebra das ligações azo do corante Orange II.

O fungo *Trametes versicolor* foi testado na remoção da coloração de efluentes industriais de polpa e papel mantido por um período de três dias sob aeração e com fornecimento de glicose com pH ajustado entre 4,5 e 5,5 à 30oC. Nestas condições, BAJPAI et al. 1993, constataram uma remoção acima de 80%.

Corantes como o Disperso Red 68, Reativo Blue 21 ou o Vat Black 25 necessitam de longos períodos de tratamento com lodo ativado e com alto consumo de oxigênio para serem degradados, foi o que puderam avaliar PORTER e SNIDER, 1976, quando verificaram o tempo necessário para promover a remoção de vários corantes têxteis através da biodegradação. Além disso, alguns corantes são inertes à ação dos microrganismos passam pelo tratamento sem se alterarem ou degradam-se parcialmente levando à produção de compostos mais tóxicos do que a molécula original.

Visando melhorar o desempenho do tratamento por lodo ativado, NICKLAS (1991) realizou um interessante levantamento entre 1984-89 onde

observou um declínio na ocorrência de aromáticos monocíclicos e solventes halogenados, não ocorrendo o mesmo com os aromáticos bicíclicos, fenóis e plastificantes, os quais permaneceram com níveis constantes.

CACCIARI (1998) analisou a associação entre efluente de indústria têxtil e efluente doméstico e ressaltou a importância na remoção do COD surfactantes, que foi de 80%, contudo apresentaram problemas na instabilidade devido à adição de reagentes químicos.

BISOCHOFSBERGER e SCHOENBERGER (1987) apontam uma necessidade de se fazer a remoção de fosfatos desses efluentes através de processos químicos e biológicos. O processo anaeróbio foi efetivo em cerca de 90% na remoção de fósforo. Analisando o comportamento de efluente têxtil em lodo ativado, VILASECA VALLVE (1988), fez uma importante observação com relação ao número de células viáveis durante três meses, e concluiu que a redução da população microbiana não influenciou decisivamente na performance do tratamento.

Como podemos observar, um número significativo de pesquisas sobre o tratamento de águas servidas tem sido propostos no sentido de se eliminar os corantes e outras matérias orgânicas para se conseguir uma melhor qualidade da água para o consumo, sendo necessária a combinação de processos físicos, químicos e biológicos.(IDAKA et al., 1985)

### 2.3.4-Materiais Adsorventes Alternativos

Objetivando a substituição do carvão ativado por outro material mais barato de mesma eficiência muitos materiais adsorventes têm sido testados. MCKAY et al. (1987) estudaram uma das alternativas utilizando o bagaço de cana na remoção de dois corantes básicos (Basic Red 22 e Basic Blue 69) e de dois corantes ácidos (Acid Red 114 e Acid Blue 25). O bagaço de cana mostrou-se mais eficiente na adsorção dos corantes básicos, segundo os dados obtidos e estudados frente as equações das Isotermas de Freundlich e de Langmuir

Um interessante trabalho com materiais de baixo custo e fácil aquisição como argila, bagaço e espiga de milho foi realizado por NASSAR e EL-GEUNDI (1991) e verificaram que existe alta capacidade adsortiva nestes materiais a um custo menor do que o carvão ativado e que há variação na remoção dependendo do corante presente.

POOTS et al. (1976) observaram que a turfa é eficiente como material adsortivo para corantes ácidos, cerca de 90% de corante era adsorvido no equilíbrio. A única ressalva é que o tempo para que a quantidade máxima de corante adsorvido fosse atingida era de duas horas. Discutindo também se o tamanho das partículas da turfa influenciava na quantidade de corante adsorvido o que se pode constatar é que quanto menor o tamanho das partículas maior era a remoção do referido corante. A escolha do corante ácido se deu pela dificuldade de remoção por outras técnicas adsortivas convencionais. Estes mesmos autores também afirmam que a turfa é de baixo

custo e poderia ser utilizada como combustível logo após o seu uso no processo.

Um estudo comparativo do potencial adsortivo de corantes utilizando turfa, palha de arroz e carvão ativado foi realizado por NAWAR e DOMA (1989). Quanto aos parâmetros adsortivos, foram avaliados o tempo de contato, o valor de pH e o tamanho das partículas. Os corantes utilizados no experimento foram o ácido Lanasya Black BRL ABK usado no tingimento de lã e o corante básico Sandocryl Orange B 3RLE usado o tingimento de acrílico. Concluíram que os três materiais adsorventes conseguem promover a remoção destes corantes e, quanto ao fator econômico a turfa e a palha de arroz têm um custo bem mais acessível do que o carvão ativado.

CERON et al. (1991) trabalharam com um preparado de fêmur bovino, chamada de "pedra preta", utilizada na África para a profilaxia de acidentes ofídicos, por possuírem mecanismos de adsorção das toxinas. A "pedra preta", também chamada de carvão de osso, foi testada para a adsorção do corante Direct Red em diferentes valores de pH e observou-se que a adsorsão aumenta com a diminuição do pH.

O mesmo material foi estudado por FERRARI et al. (1992), mas desta vez, na remoção do corante reativo Procion HE7B e testando diferentes diâmetros de partículas. Eles verificaram que o poder de adsorção do corante melhorava a medida que diminuía o tamanho das partículas.

Estudando a aplicabilidade das equações de Freundlich e Langmuir no equilíbrio adsotivo entre o corante reativo Procion Blue MXG e o "carvão de osso", CORSO et al. (1993), verificaram que a equação de Langmuir era a que melhor descrevia o fenômeno adsortivo deste material.

CASTELLEN (1996) realizou um estudo com turfa irradiada e não irradiada por ultra-som, avaliando a redução da toxicidade dos corantes Direct Red 23 e Procion Red HE7B após a interação adsortiva. Verificou que quanto menor o diâmetro maior é o poder de adsorção e que tanto a turfa irradiada quanto a não irradiada aumentaram o poder de adsorção para ambos os corantes. Os resultados mostraram ainda que o corante Direct Red é mais facilmente removível do que o reativo Procion Red e que os corantes remanescentes demonstraram diminuição da toxicidade em testes realizados com *Daphnia similis*.

CORSO et al. (1997) testaram o poder de adsorção do "carvão de osso" de diferentes granulações como técnica alternativa de remoção do corante direto Direct Violet 51, concluindo que o potencial adsortivo deste material se aproxima razoavelmente ao do carvão ativado utilizado nas indústrias.

O bagaço de milho também possui capacidade adsortiva EL-GEUNDI (1991) observou que o material remove corantes básicos com maior eficiência, enquanto que corantes ácidos são menos adsorvidos.

ARVANITOYANNIS et al (1987) investigando materiais adsorventes não convencionais, estudaram seis tipos de bentonita na remoção de cor de efluentes contendo corantes básicos, diretos e ácidos. Os autores comprovaram que a eficiência das bentonitas na remoção dos corantes se mostrou inversamente proporcionais. Enquanto as bentonitas A e B mostraram uma excelente efetividade para os corantes básicos, são pouco eficientes para os ácidos e diretos, com as bentonitas C, E e F ocorreu o contrário. Este fato é atribuído pelos autores às diferenças nas cargas elétricas apresentadas pelos

corantes, os básicos são positivamente carregados enquanto nos diretos e ácidos predominam as cargas negativas.

As cargas elétricas influenciaram também os resultados do estudo realizado por MCKAY et al (1987) onde testou o bagaço de cana na adsorção dos corantes Basic Blue 69, Basic Red 22, Acid Blue 25 e Acid Red 114. Neste caso, os autores constataram alta capacidade adsortiva para os corantes básicos e menor capacidade para os corantes ácidos.

### 2.3.5-Biosorção e Biodegradação

Os azo corantes são substâncias tóxicas que estão tendo atenção especial, pois são carcinogênicas e precursores de produtos recalcitrantes. SHAUL et al,1985.

Para realizar a remoção destes compostos tóxicos de soluções aquosas a utilização de biomassa microbiana têm tido muito estudada nos últimos tempos, principalmente pelo fato de se obter um relativo sucesso no emprego desta técnica na remoção de metais pesados de efluentes industriais.

O termo biosorção é empregado para explicar os fenômenos de remoção de moléculas tóxicas de ambientes aquosos, por adsorção à parede celular dos microrganismos ou pela absorção intracelular destas substâncias e que venham a ter afinidade com organelas ou estruturas existentes dentro da célula.(CORSO, 1998)

As moléculas de corantes ficam retidas aos microrganismos sem que haja sua biodegradação, o que é muito importante, pois permite que o corante seja removido junto com o microrganismo ao qual está retido sem que sua molécula se desdobre em produtos tóxicos. (FAHL, 2002)

No que diz respeito ao tratamento de efluentes, são utilizados microrganismos capazes de assimilar ou degradar esses corantes. ITOH et al (1993), desenvolveram um estudo onde comprovaram que *Bacilus subtilis* desenvolve e degrada alguns corantes antraquinonas.

COSTA e LEITE (1990), realizaram a remoção de cádmio e zinco utilizando células de *Chlorella homospahera* e os resultados mostraram que a biosorção do cádmio se faz em duas etapas uma bastante rápida e outra mais lenta, a fase mais rápida provavelmente ocorreu por um sistema de adsorção à parede externa do microrganismo e a fase mais lenta ocorreu quando houve o transporte para dentro da célula. A biosorção do zinco não apresentou fases muito distintas, o que talvez tenha ocorrido pelo uso metabólico deste metal pela célula.

A biosorção do zinco por vários fungos filamentosos como o *Aspergillus niger*, o *Penicillium chrysogenium* e *Claviceps paspali*, foi estudada por LUEF et al. 1991. Os fungos foram utilizados como biosorventes e as observações indicaram que houve a remoção do metal tanto com células vivas quanto mortas e com a vantagem de se incinerar a biomassa destes microrganismos após o processo biosortivo.

GOURDON et al. (1990) isolaram do lodo ativado bactérias gram positivas e gram negativas e fizeram uma comparação sobre os seus potenciais adsortivos em relação ao cádmio. Verificaram que ambas conseguem remover o metal da solução aquosa, porém as gram positivas possuem 20% a mais de capacidade biosortiva em relação as gram negativas no valor de pH ajustado para 6,6 e à 30oC.

A remoção de íons chumbo em solução aquosa através de células mortas de *Penicillium chrysogenium* foi estudada por NIU et al. 1993, que puderam verificar que a biosorção do metal foi diretamente afetada pelo pH, pois houve uma melhor remoção entre os valores de pH 4,0 e 5,0 diminuindo o potencial biosortivo em valores de pH abaixo de 4,0 e acima de 5,0.

Estudando a biodegradação de corantes heterocíclicos, CRIPPS et al (1990), verificaram que o fungo *Phanerochaete chrysosporum*, que é degradador de lignina, é capaz de degradar diversos poluentes orgânicos, como os corantes.

*Phanerochaete chrysosporum* remove corantes têxteis sintético de efluentes artificiais completamente após 7 dias e que presença de glicose como fonte primária essencial para a remoção da maioria dos corantes. KIRBY et al (1995)

Cepas de actinomycetos têm sido identificadas como "removedores" de diferentes tipos de corantes de efluentes. Adsorção de antraquinona, phtalocianina e azo-corantes pelas células são resultados da descolorização dos efluentes, mas não foi observada degradação. Em contraste, efluentes contendo cobre na molécula, indicam mudança no espectro visível indicando uma possível degradação durante a incubação com as cepas. ZHOU e ZIMMERMANN, 1993.

Biomassa de *Rhizomuco pusillus* provou ser bem mais eficiente quando comparada com outros processos físico-químicos de adsorção na remoção de corantes de efluentes: biomassa (51%), metais pesados (48%), carbono ativado (37%). CHRISTOV et al 1999.

BORZANI e VAIRO (1958), estavam estudando os mecanismos de adsorção do Azul de Metileno como um processo adsortivo para efetuar a diferenciação de células vivas de células mortas de leveduras. Na realidade tratava-se de um mecanismo enzimático de defesa presente nas células vivas e ausente nas células mortas, propiciando um aumento bastante visível da coloração azulada nas células autoclavadas.

De olho nestes estudos, surgiu para Corso e colaboradores a idéia de se utilizar a biomassa microbiana para estudar a biosorção de corantes e, no final da década de 70, os primeiros trabalhos começaram a se destacar no Departamento de Bioquímica e Microbiologia do Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, UNESP.

ANGELIS et al. 1979, estudaram o crescimento do fungo *Neurospora crassa* 74a em meio de cultura contendo o corante Azul Quimacel e verificaram que ocorreu uma biosorção efetiva com a formação de uma biomassa colorida e a respectiva remoção da cor em solução aquosa da ordem de 80 a 93% após 24 horas de contato.

A interação biosortiva entre os azo corantes Vermelho Reanil P8B e Azul Quimacel RWN e *Rhodotorula mucilaginosa* foi estudada por CORSO et al. (1981a) e em ambos os casos ocorreu uma melhor remoção entre os valores de pH 3,5 e 5,5 do que nos valores de pH 6,5 e 7,5. A remoção aconteceu de

forma mais lenta para o corante Vermelho Reanil, que após 16 horas de cultivo, havia sido removido 50% do corante contra 95% do Azul de Quimacel.

CORSO et al. 1981b, também testaram a interação do corante Vermelho Reanil com *Neurospora crassa* colocando diferentes concentrações do corante em cultivo com o fungo para contato durante 24 horas. Após este período de tempo, a maioria do corante havia sido removida, principalmente entre 16 e 32µgmL-1, chegando a 89,1 e 91,3%.

Analisando as possibilidades de remoção do corante Amarelo Quimacel RN pelo fungo *Neurospora crassa*, ANGELIS et al. 1981, verificaram que o mesmo retirou de soluções aquosas contendo 32 e 64µgmL-1 do corante 78,1 e 87,5%, respectivamente.

OLIVEIRA et al. 1982 realizaram os primeiros estudos sobre mecanismos adsortivos do ponto de vista do equilíbrio, quando estudaram a aplicabilidade das equações de Freundlich e Langmuir na interação entre o corante ácido Amaranto com *Saccharoyces boulardi* utilizando diferentes quantidades de biomassa para avaliar o efeito adsortivo do corante. Os dados obtidos indicaram que para este corante a equação de Langmuir era a que melhor representava a biosorção.

A remoção de misturas binárias de corante utilizando leveduras foi estudada por CORSO et al. 1983 que estudaram o processo de biosorção por *Saccharomyces cerevisae* com os corantes Procion Yellow HA e Procion Red H3R, verificaram que ambos os corantes são removidos da solução aquosa e que há uma disputa entre os dois corantes para os sítios ativos disponíveis nas células da levedura.

O comportamento das leveduras *Rhodotorula rubra* e *Torulopsis candida* em biosorção com o corante Vermelho Ácido 27 foi analisado por TERAMOTO de CAMARGO et al. 1983, onde puderam verificar que após um tempo de equilíbrio de 120 minutos, a espécie *Rhodotorula* havia removido cerca de 60% do corante enquanto que a espécie *Torulopis* apresentou uma remoção inferior à 5%, este fato sugere que as características individuais da parede celular e estruturas de cada espécie influenciam na capacidade adsortiva deste corante.

OLIVEIRA et al. 1983 fizeram o estudo dos parâmetros matemáticos das isotermas de adsorção testando equilíbrio adsortivo entre o corante Amaranto e a levedura *Saccharomyces uvarum* e com os dados obtidos compararam as equações de Langmuir e Freundlich os quais indicaram que a equação de Langmuir era a mais precisa para explicar este fenômeno.

TERAMOTO de CAMARGO et al. 1984, fizeram um estudo comparativo da biosorção com diferentes espécies de leveduras com o corante Básico Crisoidina removido de soluções aquosas por *Rhodotorula rubra* e *Torulopsis candida* em diferentes valores de pH, os resultados indicaram que a *R. rubra* teve um melhor desempenho no pH 6,5 conseguindo remover 68% do corante e a *T. candida* no pH 4,5 removeu 92% do corante.

Investigando o equilíbrio adsortivo entre *Saccharomyces cerevisae* e o azo corante Procion Red H3B CORSO e OLIVEIRA, 1987, constataram que a isoterma de adsorção de Langmuir é aquela que melhor define a relação entre o corante e a levedura.

Os feitos biosortivos de cerca de dez espécies de leveduras do gênero *Candida* foram comparados por TERAMOTO de CAMARGO (1987) em interação com o corante Amaranto (ácido) e com a Crisoidina (básico) verificando-se que o potencial adsortivo em relação ao pH melhora a biosorção

com a diminuição do pH para o Amaranto, enquanto que para a Crisoidina, os melhores valores de pH para a remoção do corante foram 4,5 e 5,5. A respeito da capacidade de biosorção das diferentes espécies de *Candida*, uma outra correlação importante foi realizada que é a capacidade de biosorção das diferentes espécies de *Candida*, e a possível área tomada por cada célula de levedura, já que cada espécie tem um diâmetro diferente, os resultados mostraram que não há correlação entre a capacidade biosortiva e a área disponível para cada espécie, comprovando que cada espécie tem sua característica especial em suas membranas celulares e estruturas morfológicas fisiológicas que determinam uma maior ou menor afinidade para o corante. As espécies com maior afinidade para o Amaranto foram a *C. catenulata, c. tropicalis e a C. kefyr* (acima de 90%). Para a Crisoidina as espécies mais eficientes na remoção foram *C. melinii, C. utilis, C. tropicalis* e *C. kefyr* (acima de 60%).

A aplicabilidade das equações de adsorção de Freundlich e Langmuir em fungos filamentosos foi possível de ser estudada por CORSO et al. 1987a quando trabalharam com colônias paramórficas de *Neurospora crassa* em interação com o corante Procion Scarlet MXG. O fato das colônias se apresentarem em forma de "pellets" torna possível um estudo quantitativo do desenvolvimento do fungo e seus mecanismos de biosorção. Analisando os coeficientes de correlação foi verificado que a equação de Langmuir era mais adequada e que a interação fungo-corante se fazia em monocamadas até a saturação.

CORSO et al 1987b conseguiram resultados semelhantes quando trabalharam com o corante Procion Blue MXG e colônias paramórficas de *Neurospora crassa* em diferentes valores de pH, onde verificaram que a diminuição do pH favorecia a remoção do corante em solução.

TATUM et al. 1949, induziam a formação de "pellets" em *Neurospora crassa* através de indução química, mas este tratamento não surtiu efeito no gênero *Aspergillus*. Foi então que MARCANTI, 1998 desenvolveu um processo de indução física para a formação de "pellets" que pode ser aplicado com sucesso no gênero *Aspergilus*, permitindo que fossem realizados estudos relativos às isotermas de adsorção entre uma gama de corantes azóicos em interação com *Aspergillus niger*. O efeito do pH na remoção dos corantes foi analisado e indicou que a diminuição do valor do pH melhorou a biosorção dos corantes Procion Scarlet MXG, Direct Violet 51, Direct Red 23, Acid Orange 7, Acid Yellow 23 e com pH entre 4,5 e 6,5 os corantes Basic Brown 4 e Basic Orange 2 foram melhor removidos.

A técnica de indução física da paramorfogênese em *Aspergillus oryzae* foi utilizada por CORSO et al. 1988 para estudar o seu comportamento adsortivo em relação ao corante Vermelho Procion HE7B, verificando que também neste caso a redução do valor do pH favoreceu a remoção do corante em solução.

O comportamento biosortivo das leveduras foi estudado num interessante estudo realizado por OLIVEIRA et al. 1989a, no qual conseguiram medir a mobilidade eletroforética de células autoclavadas e não autoclavadas de *Candida brumptii* e constataram que em termos numéricos a mobilidade eletroforética aumenta para as células autoclavadas em relação as não autoclavadas. OLIVEIRA et al. 1989b estudaram com esta mesma linhagem de leveduras, a adsorsão competitiva com os corantes reativos Procion Yellow HA

e Procion Red H3B, neste estudo o corante Yellow HÁ foi mais efetivamente removido do que o Red H3B em soluções simples e o inverso foi verificado para soluções binárias, além disso, a equação de isoterma de Freundlich foi a que mais favoreceu a biosorção indicando uma reação em multicamadas adsortivas.

CORSO et al. (1991), realizaram estudo idêntico com estes corantes, mas investigando a remoção por *Saccharomyces cerevisae* e observaram neste caso que o Procion Yellow HA foi mais bem adsorvido no sistema simples e também no sistema binário.

Com o objetivo de aumentar a capacidade biosortiva da *Saccharomyces cerevisae* um estudo foi iniciado por CERON e CORSO, 1993, onde investigaram a influência da irradiação do ultra-som nas células leveduriformes. Utilizando uma potência de 20 Khz e um tempo progressivo de 2 à 10 minutos com irradiação contínua as amostras eram, então, colocadas em contato com o corante Procion Blue MXG verificou-se que a capacidade adsortiva aumentou de acordo com o tempo de irradiação chegando a 20,47% a mais do que as não irradiadas nas mesmas concentrações aplicadas.

Vários tipos de corantes têxteis como os básicos (Basic Orange 2 e Basic Brown 4), ácidos (Acid Yellow 23 e Acid Orange 7), diretos (Direct Red 23 e Direct Violet 51) e reativos (Procion Blue MXG e Procion Scarlet MXG) foram utilizados para se estudar o potencial de remoção destes corantes em meio líquido com colônias paramorfogênicas de *Aspergillus niger* com pellets miceliais de 1mm. Avaliando comparativamente os vários tipos de corante testados os que melhor interagiram com o fungo foram os reativos e os diretos apresentando uma melhor remoção da cor, os demais realizaram apenas uma remoção razoável na mesma concentração inicial do corante.(MARCANTI-CONTATO e CORSO, 1993)

Suspensões de leveduras *Saccharomyces cerevisae* foram irradiadas utilizando o ultra-som com uma potência de 120W/cm2 nos intervalos de 5, 10 e 15 minutos e colocadas em contato com o corante Acid Yellow 23 na tentativa de se melhorar a sua capacidade biosortiva e constataram que com o tempo de 5 minutos houve uma melhora significativa na remoção em relação ao controle.(CERON et al. 1995)

MARCANTI-CONTATO e CORSO, 1995b, procederam a análise do comportamento biosortivo do *Aspergilus niger* na sua forma paramorfogênica em efluentes industriais contendo descarte de corantes formado pelo Laranja SR 0,2g/L, Castanho Direto 0,02g/L e Amarelo GRL 0,025g/L e demais produtos auxiliares de tingimento, e em composição de banho PA com a finalidade de se verificar o grau de influência dos insumos têxteis sobre a biosorção em diferentes valores de pH. Constataram que houve uma correlação inversa entre os valores de pH empregados (2,5, 4,5, 6,5 e 8,5) e o percentual de corantes removidos do meio 99,5%, 85,1%, 51,4%, e 30,5% para o banho PA e 92,6%, 61,6%, 46,8% e 15,9% para o descarte industrial. Estes dados indicam que com a presença de insumos auxiliares do tingimento há uma possível diminuição de sítios ativos adsortivos.

Através de amostras de banhos de tingimento conseguidas na região de Americana MARCANTI-CONTATO e CORSO, 1995a, conseguiram resultados semelhantes trabalhando também com *Aspergillus niger* paramorfogênico. Analisando o potencial biosortivo de grupos cromóforos destes banhos, tanto na formulação PA como nas amostras do descarte, os valores obtidos nos

índices máximos de remoção em ordem decrescente para o banho PA (isento de aditivos químicos) foram Diretos I 100%, Diretos III 99,49%, Preto Sodyesul RCFI 98,57%, Ácidos I 95,52%, Índigo Blue 88,36%, Preto Acidol M200 85,64%, Reativos II 75,25%, Reativos I 48,74%,Dispersos III 19,88% e Dispersos IV 13,72%. Para as amostras de descarte industrial os resultados foram semelhantes, sendo melhor biosorvidos os corantes Diretos III 83,18%, Preto Acidol M200 74,75%, Diretos I 71,24%, seguidos por Acido I 62,7%, Preto Sodyesul 52%, Índigo 49,98%, Reativos I 43,59%, Reativos II 21,58%, Dispersos IV 3,99%, e Dispersos III com nenhum índice de interação adsortiva com o fungo.

BARBOSA (1995), estudou o potencial de remoção das células de *Saccharomyces cerevisae visando* uma melhoria biosortiva entre os corantes reativos Procion Red HE7B e Direto Red 23 e as células em fase de crescimento de 8, 12, 24 e 48 horas , verificaram que a melhor fase adsortiva aconteceu com 12horas de cultivo, e compararam as células autoclavadas e não autoclavadas, sendo que, foram as células autoclavadas que apresentaram um melhor potencial de remoção dos corantes em solução aquosa para ambos os corantes, sendo cerca de 5 vezes mais adsortivas do que as células não autoclavadas.

Mantendo o mesmo raciocínio, CERON (1996), analisou o comportamento da levedura *Saccharomyces cerevisae* ativada por diferentes condições de irradiação ultra-sônica, tomando como variáveis o tempo de irradiação, tipo de irradiação e tipos de ponteiras. Testaram um esquema comparativo entre irradiações descontínuas (50% x 50%) de pulso por minuto (irradiado-não irradiado), por radiações contínuas e leveduras não irradiadas nos tempos 4, 6, 8 e 10 minutos, tomando como referência a estimativa de remoção total do corante reativo Procion Blue. Verificaram que o melhor tempo foi de 6 minutos e a irradiação contínua que apresentou melhor biosorção. Na comparação entre os tamanhos das ponteiras testadas (6,5mm, 12,7mm e 25,4mm) com irradiação contínua nos tempos 5, 10 e 15 minutos, concluíram que o melhor tempo foi o de 5 minutos e que a ponteira mais fina foi a que alterou significantemente a biosorção do corante Direct Red 23, e também do Acid Yellow, Direct Violet, Procion Orange e Crisoidina. Uma possível explicação para a melhor efetividade das células irradiadas pode estar num outro dado obtido, que indica uma diminuição de cerca de 10% no diâmetro médio das células irradiadas justificando a melhor capacidade biosortiva das células em relação as não-irradiadas.

TERAMOTO de CAMARGO (1996), com o objetivo de otimizar o processo de biosorção de corantes azóicos reativos por leveduras do gênero *Candida* realizaram o estudo da interação das leveduras *C. melinii, C. utilis, C. tropicalis, C. catenulata* e *C. zeylanoides*, e os corantes reativos Procion Blue MXG e Procion Red HE-7B, em diferentes condições de temperatura, valores de pH e concentração celular. Quanto ao estudo da remoção da cor, os dois corantes se comportaram da mesma maneira, ou seja, a medida em que se aumenta a quantidade de biomassa presente na solução, a quantidade de corante removido por unidade de biomassa diminui. Isso acontece em todas as espécies estudadas e também no carvão ativado usado como controle. A comparação feita entre a biomassa de levedura total e adicionada em frações revelou que a biomassa adicionada remove mais corante do que a biomassa total, nos dois corantes em todas as espécies estudadas.

Um estudo sobre a interação adsortiva entre o *Aspergillus niger* na sua forma paramorfogênica e o corante azóico Procion Blue MXG foi realizado por MARCANTI-CONTATO e CORSO, 1996, onde testaram os valores de pH 2,5, 4,5, 6,5 e 8,5. Neste estudo o pH mais ácido melhorou o processo biosortivo e a equação de Freundlich demonstrou ser a melhor isoterma para representar a interação entre as hifas do fungo e o corante, isso significa que a interação pode ocorrer em multicamadas, no limite da saturação.

Uma divulgação mais detalhada do processo de indução física à paramorfogênese do *Aspergillus niger* foi realizada por MARCANTI et al. 1997, como um mecanismo que, comparado com o processo de formação de "pellets" pela inoculação de espóros apresenta vantagens tanto em termos de homogeneidade das amostras, uma vez que os espóros apresentam uma latência com crescimento desigual do "pellets", como o fato de poder ser realizado ainda na fase de desenvolvimento vegetativo do fungo, antes da fase de esporulação.

O fungo *Neurospora crassa* 74 A em sua forma paramorfogênica foi estudado por JESUS (2001) na interação biosortiva com os corantes Acid Red 114, Basic Brown 4 e Procion Red MX-5B em diferentes valores de pH, utilizando biomassa autoclavada e não autoclavada. Verificou que a biomassa autoclavada apresenta maior capacidade de remoção dos corantes em todos os valores de pH.

BALAM e MONTEIRO (1996), monitoraram a descoloração por basidiomicetos em meio líquido com uma concentração de 0,002 % v/v do corante por espectrofotometria nos comprimentos de onda 680 e 580nm. O decréscimo da taxa de absorção indicou a remoção do corante.

Segundo ANDERSON (1986), os microrganismos têm a capacidade de reciclar os elementos do ambiente como carbono, nitrogênio e enxofre, transformando-os em formas que podem ser utilizadas, por outros organismos. Os microrganismos possuem também a capacidade de utilizar poluentes como substrato e fonte de energia para o seu crescimento. Muitos deles utilizam as vias catabólicas das próprias células transformando tais compostos até dióxido de carbono e água. Os microrganismos possuem inúmeras vias enzimáticas que podem ser utilizadas durante a biodegradação. Um exemplo de biodegradação é aquela na qual o ácido 2,4 diclorofenoxiacético (um pesticida) é degradado em uma série de etapas até ácido succínico, um importante intermediário do ciclo do ácido tricarboxílico, ou seja, o microrganismo transforma um composto tóxico ao ambiente em um útil ao seu crescimento.

O fungo *Phanerochaete chrysosporium* tem despertado grande interesse por parte dos pesquisadores, pois este fungo de decomposição branca tem a capacidade de mineralizar a lignina parcial ou totalmente. O seu sistema lignolítico é representado principalmente pelas enzimas lignina e manganês peroxidase, as quais são produzidas em meios contendo fontes limitadas de carbono e nitrogênio. Estas enzimas tem a capacidade de despolimeralizar a lignina e uma grande variedade de outros compostos.

Em se tratando de efluentes têxteis, alguns estudos tem sido realizados explorando a sua capacidade de degradar e mineralizar corantes. SPARADARO et al (1992) demonstraram que *P. chrysosporium* foi capaz de mineralizar alguns corantes, mas a capacidade da descolorização está diretamente ligada com a natureza dos anéis aromáticos.

De acordo com o estudo realizado por THANH e SIMARD (1973), verificou-se que leveduras do gênero *Rhodotorula* são muito eficientes para remover compostos de fósforos e nitrogênio e para produzir biomassa de leveduras. Para o tratamento microbiológico de efluentes ser praticado é necessário a seleção de leveduras para reduzir compostos $N_2$ e fósforos a um menor nível e ter para a biomassa importância como alimento.

Segundo KRUG e STRAUBE (1985), leveduras de *Cândida tropicalis* HP15 são capazes de utilizar fenol até concentrações de 2,5 g/L como única fonte de carbono. O metabolismo ocorre por via enzimática, mas são necessários mais estudos para elucidar os mecanismos da regulação enzimática na degradação do fenol. Duas enzimas determinadas e caracterizadas de extrato de *Cândida tropicalis* HP15 participam da degradação do fenol. A fenol-hidroxilase, que é FAD dependente com pH ótimo de 7,6 a 8,0. O ultra-som deduz a atividade enzimática. A catecol 1,2-oxigenase tem pH ótimo 7,5 a 9,6 e um substrato específico limitado. KRUG e STRAUBE (1986).

WALLER e WEATHERLEY (1999) testaram a biosorção e a biodegradação do corante ácido antraquinona. Tectilos Blues (TB4R) utlilizando *Bacillus gordone, Bacillus benzeovorans* e *Pseudomonas putida* e obtiveram como resultado a remoção de 19 % do corante devido a biosorção do corante pela biomassa e a maior parte da remoção foi causada pela utilização do corante pela bactéria.

A utilização de bactérias como Pseudomonas sp e *Sphingomonas sp* na degradação de corantes tem sido relatada de forma útil, pois estes microrganismos tem a capacidade de realizar a quebra redutiva nas ligações azo deste composto, o que está geralmente associado com a enzima azoredutaze.(KUDLICH et al, 1997)

RODRIGUES, 2003, estudou os mecanismos adsortivos da linhagem CCB 010 do fungo *Pleorotus ostreatus* no período de contato de 120 minutos e em três diferentes valores de pH. A cinética realizada com células autoclavadas e não autoclavadas mostrou que no pH 2,50 a amostra não autoclavada promoveu uma maior remoção do que a autoclavada. Contudo, para os valores de pH 4,50 e 6,50 as células autoclavadas foram mais eficientes na remoção até o final do experimento. Estes dados indicam que o pH 2,50 favorece a indução da atividade enzimática e a adaptação do corante como fonte de carbono para a linhagem estudada.

MOREIRA et al (2001), estudaram a remoção de corantes reativos usando cinza de carvão através do espectrofotômetro IR com transformada de Fourrier (FT-IR), onde constataram que houve pequenas modificações nos espectros dos corantes quando analisados nas temperaturas de 30 e 40$^{o}$C.

Outro estudo utilizando espectro em FT-IR foi realizado por JESUS et al (2002), quando estudaram a biodegradação do corante azóico Acid Blue 40 pelo fungo na forma paramorfogênica *Neurospora crassa* 74 A, onde verificaram que após o tempo de contato de 2 e 90 horas, algumas bandas significativas sofreram modificações, sugerindo existir a possibilidade de ter ocorrido uma biodegradação.

# 3- MATERIAL E MÉTODOS

## 3.1-Microorganismo utilizado:

Levedura selvagem isolada do efluente industrial da Atofina Química do Brasil, situada no distrito industrial da cidade de Rio Claro e que lida com a fabricação de substâncias de grande interesse comercial como é o caso dos compostos aromáticos e de peróxidos.

## 3.2-Identificação da levedura:

A identificação foi realizada no laboratório de Análises Clínicas do Hospital Vera Cruz na cidade de Campinas, através dos métodos Chrom Ágar, que é um meio específico para o crescimento das leveduras do gênero *Candida*. Neste meio o microorganismo em questão é semeado em placa e conforme ocorre o crescimento no meio, este adquire coloração característica que nos indica qual gênero foi isolado. E também através do ID32C,o qual é composto por provas bioquímicas de utilização de açúcares para chegarmos a espécie que foi isolada. A levedura em questão foi identificada como sendo *Candida albicans.*

**3.3-Meios de cultura:**

3.3.1-Meio de preservação das culturas de leveduras: Ágar malte 2% (LODDER, 1970)

Extrato de malte.....2,0g
Ágar-ágar.....1,8g
Água destilada.....100m

3.3.2-Meio basal para leveduras (SAVOY,1981)

| | |
|---|---|
| Dihidrogênio fosfato de potássio | 2,0000g |
| Sulfato de amônio | 3,0000g |
| Sulfato de magnésio hepta-hidratado | 0,2500g |
| Ácido bórico | 0,0010g |
| Cloreto de cálcio hepta-hidratado | 0,2500g |
| Sulfato de zinco | 0,0010g |
| Sulfato de manganês | 0,0010g |
| Cloreto férrico | 0,0010g |
| Sulfato de cobre | 0,0001g |
| Iodeto de potássio | 0,0001g |
| Ácido aspártico | 0,1000g |
| Inositol | 0,0500g |
| ß-alanina | 20,0000µg |
| Cloridrato de piridoxina | 20,0000µg |
| Cloridrato de tiamina | 20,0000µg |
| Glicose | 20,0000g |
| Água destilada q.s.p. | 1000mL |

3.3.3-Meio basal para leveduras modificado

| | |
|---|---|
| Dihidrogênio fosfato de potássio | 2,000g |
| Sulfato de amônio | 3,000g |
| Sulfato de magnésio hepta-hidratado | 0,250g |
| Cloreto de cálcio hepta-hidratado | 0,250g |
| Ácido bórico | 0,001g |
| Sulfato de zinco | 0,001g |
| Ácido aspártico | 0,100g |
| Inositol | 0,050g |
| Glicose | 20,000g |
| Água destilada q.s.p. | 1000mL |

Método de preparo:

Ao meio basal original acrescentou-se 0,5% de extrato de levedura em pó. Os ingredientes do meio ,exceto a glicose e o dihidrogênio fosfato de potássio, devem ser dissolvidos em 500mL de água destilada . A glicose deve ser dissolvida em 250mL de água destilada e o dihidrogênio fosfato de potássio também foi dissolvido separadamente em 250mL de água para evitar precipitação do sal.

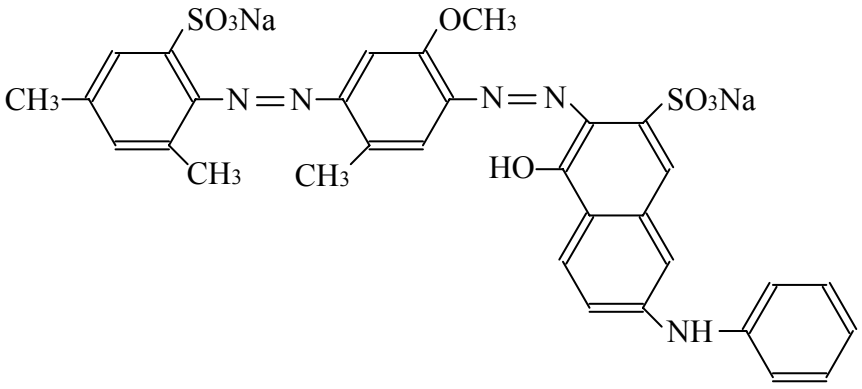
Os frascos de meio, de glicose e de fosfato foram esterilizados em autoclave a 121°C e a 1 atmosfera de pressão por 15 minutos. As soluções de glicose e de fosfato foram adicionadas ao meio mo momento de se inocular as culturas de leveduras.

**3.4-Preparo da solução de corante:**

3.4.1-Material

3.4.1.1-Corante Utilizado

Corante fabricado pela ICI- Imperial Chemistry Industrie
ICI: Corante Azóico Direto "Direct Violet 51"
Solubilidade: Solúvel em Água
Grau de pureza: 36%
Peso molecular: 719,71
Absorbância Máxima: 550nm
Estrutura química:




3.4.2-Solução estoque:

3.4.2.1-Vidrarias: Tubos de vidro, pipetas, balões volumétricos, beckers, bastão de vidro e outros materiais de uso comum.

3.4.2.2-Aparelhos: Balança analítica ADA 210/L, refrigerador Cônsul 280 litros e espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC.

3.4.2.3-Método

A solução estoque foi preparada pesando 0,100g do corante "Direct Violet 51" em pó e dissolvendo em 100mL de água destilada, obtendo a concentração de 1mg/mL.

**3.5-Teste de estabilidade do corante em diferentes valores de pH:**

3.5.1-Análise qualitativa

3.5.1.1-Vidrarias: Tubos de vidro, beckers, pipetas, provetas graduadas, balões volumétricos e outros de uso comum.

3.5.1.2-Aparelhos: pHmetro Digimed modelo DMPH2, espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC, refrigerador Cônsul modelo 280.

3.5.1.3-Método

O corante "Direct Violet 51", concentração inicial de 1mg/mL, sofreu diluições adequadas com água destilada para cada teste. Para isso ajustou-se o pH para 2,50;4,50 e 6,50 com $H_2SO_4$ 0,01N e NaOH 0,02N.

3.5.2-Análise quantitativa:

3.5.2.1-Vidrarias: Tubos de vidro, pipetas, beckers, balões volumétricos, provetas graduadas e outros de uso comum.

3.5.2.2-Aparelhos: pHmetro Digimed modelo DMPH2, refrigerador Cônsul modelo 280, espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC.

3.5.2.3-Método

Varreduras espectrais foram realizadas com o corante nos valores de pH 2,50; 4,50 e 6,50, na concentração de 100µg/mL, foram realizadas nos

comprimentos de onda entre 200 e 800nm, visando verificar a estabilidade espectral do corante e determinar também o comprimento de onda máximo do corante.

3.5.3-Reta padrão:

3.5.3.1-Vidrarias: Tubos de vidro, pipetas, beckers, balões volumétricos e outros de uso comum.

3.5.3.2-Aparelhos: pHmetro Digimed modelo DMPH2, espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC, refrigerador Cônsul modelo 280.

3.5.3.3-Método

A obtenção das retas-padrões do corante "Direct Violet 51" foi realizada em diferentes valores de pH, preparando-se baterias com cinco tubos para cada pH. Ajustou-se o valor do pH da água destilada para 2,50;4,50 e 6,50 de pH com $H_2SO_4$ 0,01N e NaOH 0,02N e variou-se a concentração do corante entre 20mg/mL e 100mg/mL.

**3.6-Teste de biosortividade do corante**:

3.6.1-Vidrarias: Tubos de vidro, beckers, balões volumétricos, pipetas, elenmeyers e outros de uso comum.

3.6.2-Aparelhos:pHmetro Digimed modelo DMPH2, espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC, autoclave Fabbe modelo 104C, estufa Fanem modelo CB2, refrigerador Cônsul modelo 280, centrífugas MLW modelo 23 e Fanem modelo Excelsa baby2.

3.6.3-Método

3.6.3.1-Preparo do inóculo

Para a realização dos testes de biosortividade foi feito um pré inóculo em tubos contendo meio basal para leveduras onde colocamos a suspensão de leveduras estoque para cultivar por 12h para o revigoramento celular. Após este tempo, o conteúdo de cada tubo foi adicionado a um erlenmeyer contendo 100mL de meio e colocados em estufa a 37°C por 24h para a multiplicação

celular. Retirou-se os erlenmeyers da estufa, lavou-se a suspensão de leveduras por 3 vezes, centrifugando a 600 rpm durante 10 minutos e ressuspendemos em 200mL de água destilada A suspensão obtida foi dividida em duas partes de 100mL cada Uma parte foi autoclavada a 121°C e 1 atm durante 15 minutos e a outra permaneceu ao natural.
Obtivemos também, a massa seca constante da biomassa retirando amostras de cada biomassa empregada e levando a estufa a 105°C por 24h, sendo expresso em mg/mL. Os testes foram realizados em triplicata

3.6.3.2-Realização do teste:

Para a realização dos testes de biosorção ajustou-se o pH da água destilada para os valores de 2,50; 4,50 e 6,50 com $H_2SO_4$ 0,01N e NaOH 0,02N. Em seguida, foi pipetado 3,0; 5,0; 7,0; 8,0; 8,5 e 9,0 mL de água nos tubos para cada um dos pH. A suspensão de leveduras foi adicionada nas proporções 6,0; 4,0; 2,0; 1,0; 0,5 e 0,0 mL e, por último, adicionamos 1,00mL do corante com concentração de 1mg/mL em cada tubo de cada pH para atingir a concentração inicial de 100μg/mL. Preparou-se idênticas baterias com as células vivas e com as autoclavadas. Colocou-se, então, os tubos na estufa por um período de 120 minutos.

Após este período as amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm por 10 minutos para se obter o corante remanescente em solução, que foi analisado quantitativamente em espectrofotômetro.

**3.7- Teste de viabilidade celular das leveduras de *Candida albicans* em contato com o corante em diferentes valores de pH**

3.7.1-Vidrarias: Tubos de vidro, pipetas, beckers e outros.

3.7.2- Aparelhos: Centrífuga Fanem modelo Excelsa baby2 e microscópio óptico Carl-Zeiss.

3.7.3- Método

As suspensões de células em contato com o corante foram submetidas ao teste de viabilidade celular. Usou-se para tanto o corante eritrosina (1:5.000) diluído em tampão de partes iguais de 0,2M de $Na_2HPO_4$ e 0,2M de $NaH_2PO_4$, em água destilada, como proposto por SHARF (1978). Após retirar o sobrenadante , a biomassa depositada no tubo foi lavada por três vezes com água destilada e colocada em contato com eritrosina na proporção de 1:1, agitou-se para a obtenção de uma suspensão homogênea de células. Transferiu-se uma gota para câmara de Newbauer e realizamos a contagem das células.

## 3.8- Teste de biosorção segundo as Isotermas de Adsorção de Freundlich e Langmuir

3.8.1- Vidrarias: Tubos de vidro, beckers, erlenmeyers, balões volumétricos, pipetas, e materiais de uso comum em laboratório.

3.8.2- Aparelhos: pHmetro Digimed modeloDMPH2, espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC, autoclave FABBE modelo 104C, estufa Fanem modelo 315, geladeira Cônsul 280, centrífuga Fanem modelo Excelsa baby2.

3.8.3- Método

Para o estudo da aplicabilidade das Isotermas de Adsorção de Freundlich e Langmuir na interação entre a *Candida albicans* e o corante Direct Violet 51 foi realizada a preparação do corante na concentração de 100μg/mL, com o pH ajustado para os valores 2,50, 4,50 e 6,50 e concentrações da biomassa variadas foram adicionadas à solução de corante e mantidas a 30$^{o}$C por 120 minutos.

Após este período, os tubos foram centrifugados a 2500 r.p.m. e a concentração do corante remanescente foi determinada em espectrofotômetro.

Com os dados obtidos, foi possível a realização do estudo da aplicabilidade das Isotermas de Adsorção (OLIVEIRA et al, 1983), como segue:

**Freundlich's:**

**Log (x/m)= Logk + n Log Cr,** sendo

**x/m=** concentração de corante adsorvido por unidade de biomassa (μg/μg)
**Cr=** concentração de corante remanescente em solução (μg/ml)
**K=** x/m quando Cr é igual a 1
**Logk=** intercepto em y
**n=** inclinação

**Langmuir's:**

**Cr (m/x)= 1/($K_1K_2$) + (1/$K_2$) . Cr,** sendo

**(m/x)=**concentração de biomassa por unidade de corante adsorvido (μg/μg)
**$K_1$=** índice de capilaridade
**$K_2$=** quantidade de soluto que satura uma unidade de adsorvente com uma monocromada
**Cr=** concentração do corante remanescente no equilíbrio (μg/ml)

**3.9- Teste cinético realizado com a biomassa não autoclavada e autoclavada de *Candida albicans* durante 96 horas em diferentes valores de pH**

3.9.1-Vidrarias: Erlenmeyers de 500mL, seringas descartáveis, cânulas de plástico, agulhas descartáveis, beckers, pipetas, balões volumétricos, tubos de vidro e outros.

3.9.2-Aparelhos: pHmetro Digimed modelo DMPH2, espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC, estufa Fanem modelo CB2, refrigerador Cônsul modelo 280, centrífuga Fanem modelo Excelsa baby2.

3.9.3-Método

Os erlenmeyers de 500mL contendo 10mL do corante com concentração inicial de 100μg/mL e 80mL de água com o pH ajustado nos valores de 2,50, 4,50 e 6,50 com tampão de algodão e gaze, cânula e seringa, devidamente autoclavados, receberam assepticamente como inóculo 10mL da suspensão de leveduras com 48h de cultivo.

De tempos em tempos foi retirado alíquotas das amostras que foram centrifugadas e o sobrenadante analisado espectrofotometricamente.

**3.10- Teste de biosorção e biodegradação do corante Direct Violet 51 pelo UV-VIS em diferentes valores de pH**

3.10.1-Vidrarias:Tubos de vidro, pipetas, erlenmeyers de 50mL, balões volumétricos, provetas e outros de uso comum.

3.10.2-Aparelhos: pHmetro Digimed modelo DMPH2, espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC, autoclave Fabbe modelo 104C, estufa Fanem modelo CB2, refrigerador Cônsul 280, centrífugas MLW modelos K23 e Fanem modelo Excelsa baby2.

3.10.3-Método

Para o presente estudo preparou-se erlenmeyers de 50mL,contendo 20mL de água destilada para cada um dos diferentes valores de pH, ajustados com NaOH 0,01N e $H_2SO_4$ 0,01N para 2,50, 4,50 e 6,50.devidamente esterilizados. Adicionou-se 2,50mL de corante para atingir a concentração inicial de 100μg/mL e 2,50mL de inóculo com pipetas estéreis em local com assepsia. A medida que decorria o tempo pré determinado,as amostras foram

colocadas em tubos e centrifugadas a 3000 r.p.m. durante 5 minutos e os frascos foram sendo descartados. O sobrenadante retirado foi analisado em espectrofotômetro UV-VIS. O restante do material foi utilizado nas análises do FT-IR.

### 3.11- Estudo da biosorção e biodegradação do corante Direct Violet 51 em diferentes valores de pH e sobre a parede celular da *Candida albicans* através do FT-IR

3.11.1-Vidrarias: Tubos de vidro, pipetas, cadinhos, provetas, erlenmeyers de 50mL, balões volumétricos, pinças e outros de uso comum.

3.11.2-Aparelhos: pHmetro Digimed modelo DMPH2, espectrofotômetro FT-IR Shimadzu modelo 8300, centrífuga MLK modelo K23, estufa de secagem Fanem modelo CB2 e estufa de cultura Fanem modelo 315.

3.11.3-Método

As análises dos testes de biosorção e biodegradação foram realizadas através do Infravermelho com Transformada de Fourrier (FT-IR) entre o corante Direct Violet 51 e a levedura *Candida albicans* foi separado, então, 5mL do sobrenadante obtido no teste anterior e colocado para secar em estufa a 105$^{o}$C durante 24 horas. A biomassa obtida após centrifugação também foi seca em estufa a 105$^{o}$C por 24 horas. Após a secagem do material, preparou-se pastilhas com 1mg de amostra (em peso seco) e 149mg de KBr que foram imediatamente analisadas em espectrômetro FT-IR, na faixa de 4000 a 400 cm$^{-1}$, com resolução de 4cm$^{-1}$, sendo capaz de relatar possíveis mudanças na estrutura sólida dos corantes antes e depois da adsorção.

## 4.- RESULTADOS

### 4.1. – Cultura de *Cândida albicans* em placa de Petri (Figura 1)

**Figura 1-** Cultura de linhagem selvagem de *Candida albicans* em placa de Petri isolada de efluente industrial em meio de cultura.(Ágar malte 2%)

### 4.2. – Obtenção dos espectros do corante “Direct Violet 51”

Espectros de absorção do corante Direct Violet 51 em leituras espectrofotométricas de 200 a 800 nm em diferentes valores de pH (Figura 2). E em diferentes concentrações (Figuras 3, 4 e 5).

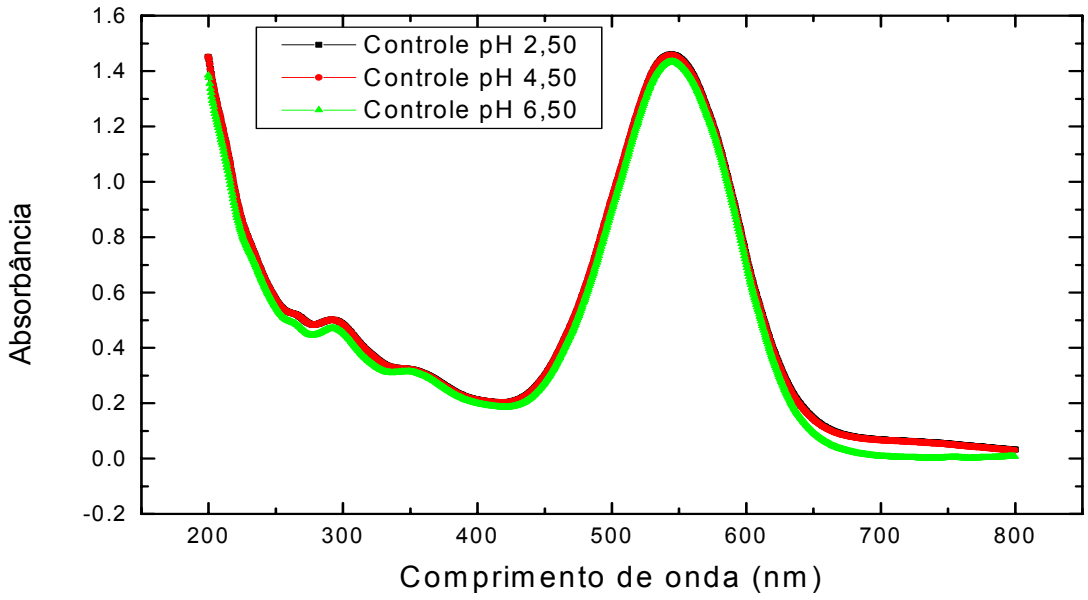



**Figura 2:** Curva de absorbância do corante Direct Violet 51
Valores de pH: 2,50;4,50 e 6,50
Concentração do corante: 100µg/mL
Caminho óptico de 5 mm
Cubeta de Quartzo
Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

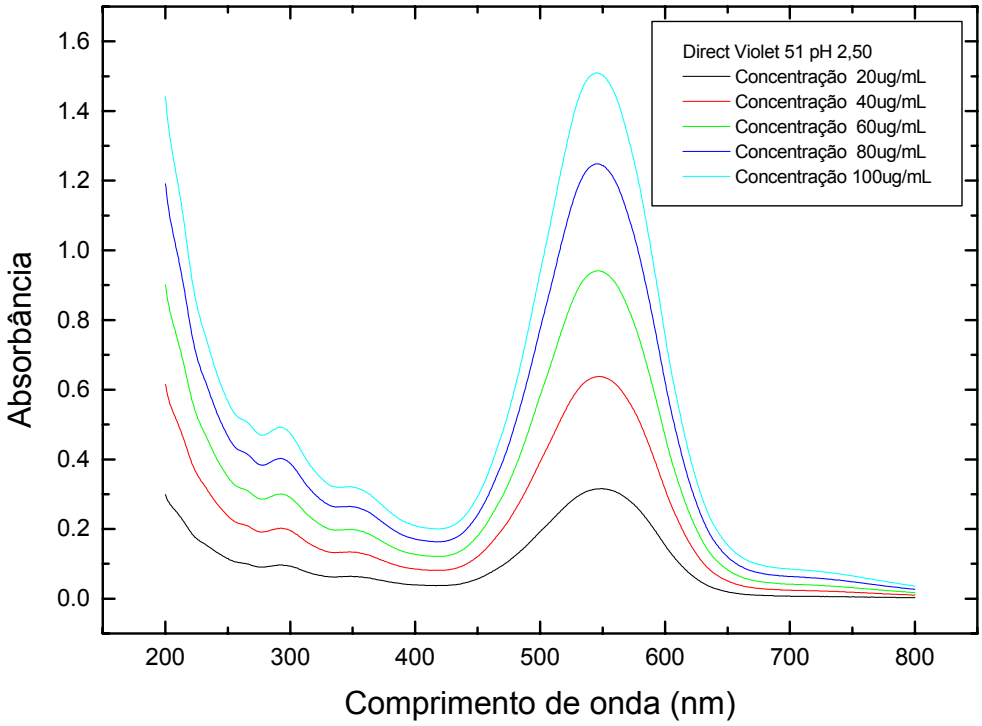



**Figura 3:** Espectro de absorção do corante direto Direct Violet 51 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60, 80, e 100μg/mL, pH 2,50
Caminho óptico de 5mm
Absorbância $^{550nm}$= 0,01850 + (0,0152 * concentração do corante)
R = 0,9997
Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

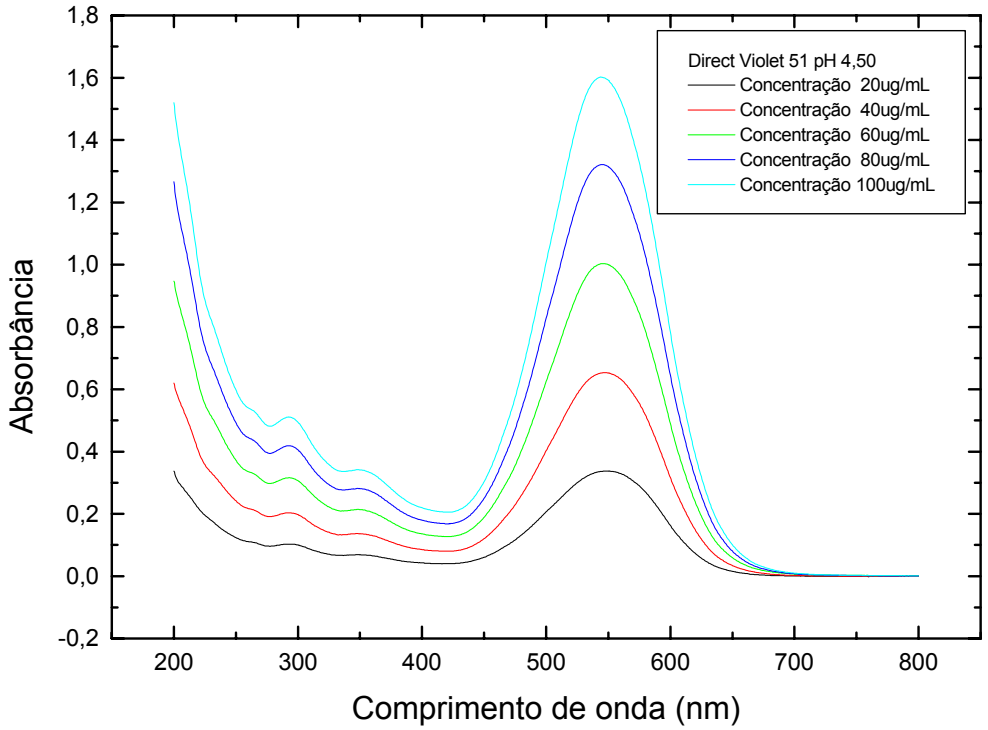



**Figura 4:** Espectro de absorção do corante direto Direct Violet 51 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60, 80, e 100μg/mL, pH 4,50
Caminho óptico de 5mm
Absorbância $^{550nm}$ = 0,00080 + (0,0158 * concentração do corante)
R = 0,9986
Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

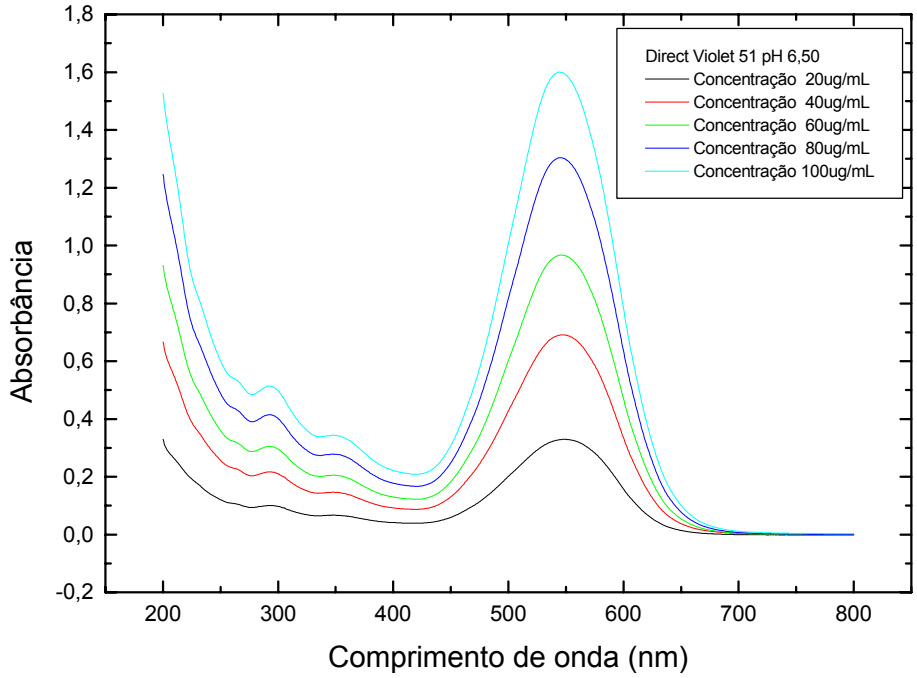
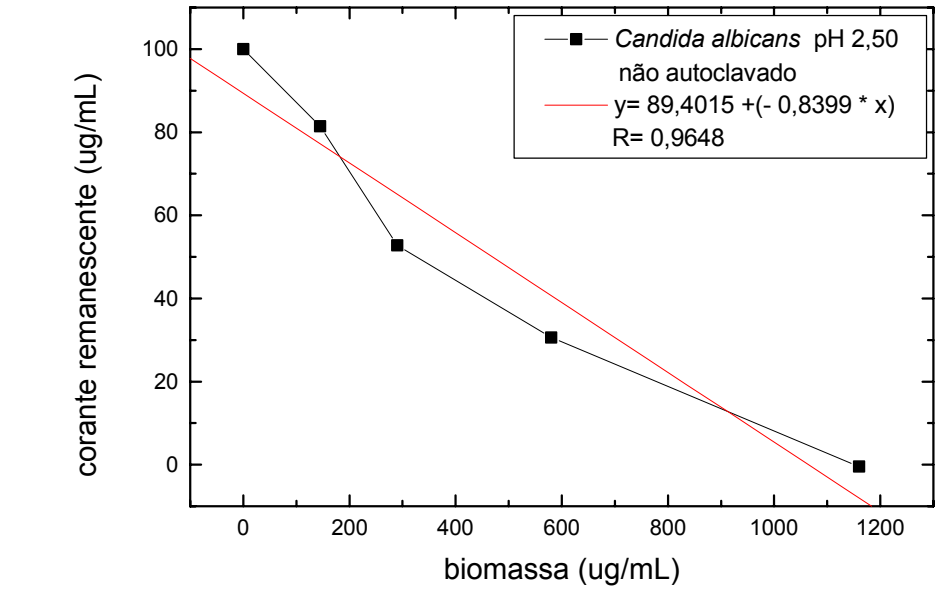
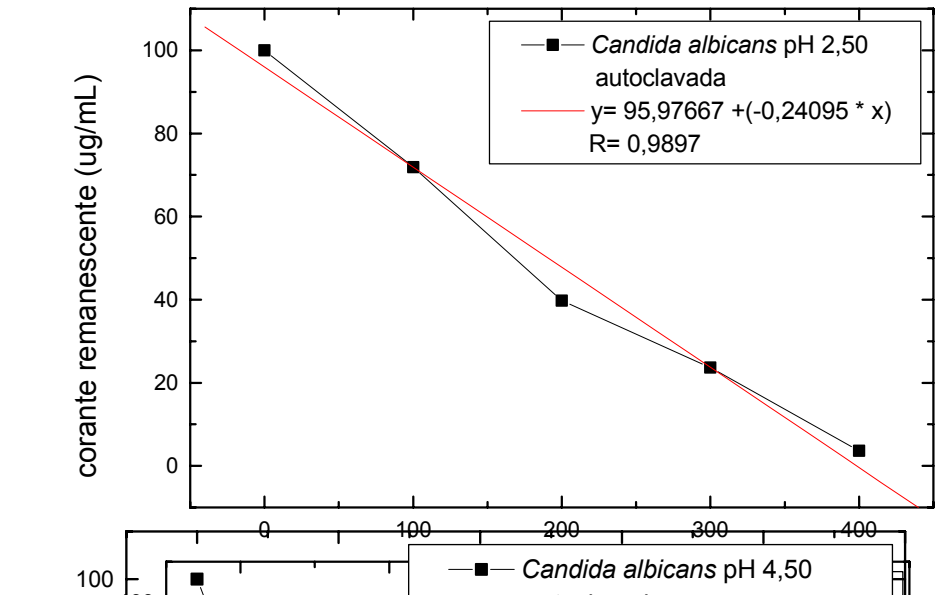



**Figura 5:** Espectro de absorção do corante direto Direct Violet 51 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60, 80, e 100μg/mL, pH 6,50
Caminho óptico de 5mm
Absorbância $^{550nm}$ =0,01960 + (0,0158 * concentração do corante)
R = 0,9995
Leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 PC

### 4.3- Teste de biosortividade do corante em diferentes valores de pH

Estudo da interação biosortiva entre *Cândida albicans* não autoclavada e autoclavada e o corante “Direct Violet 51”, nos seguintes valores de pH: 2,50;4,50 e 6,50 (Figuras: 6,7 e 8)



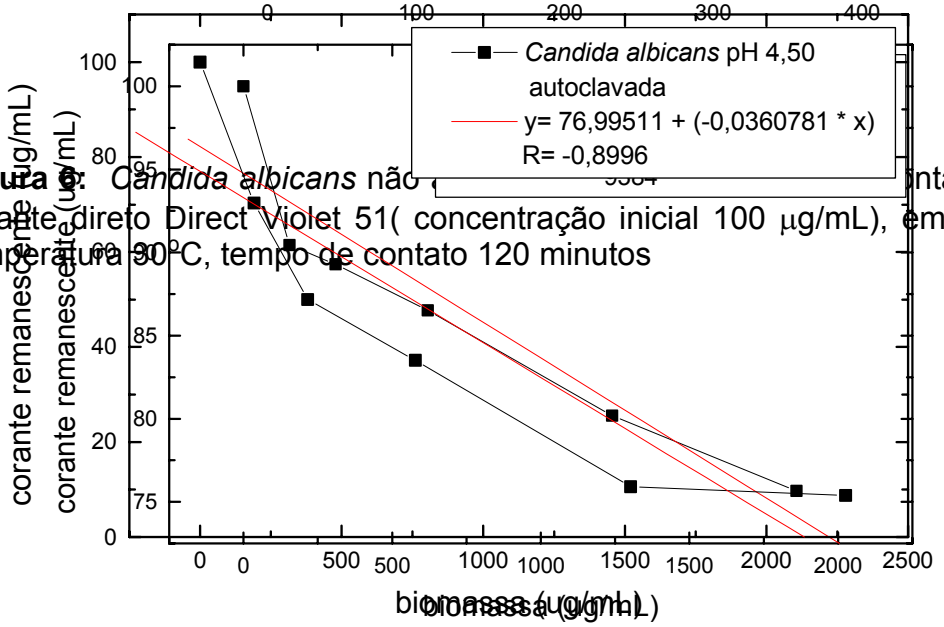
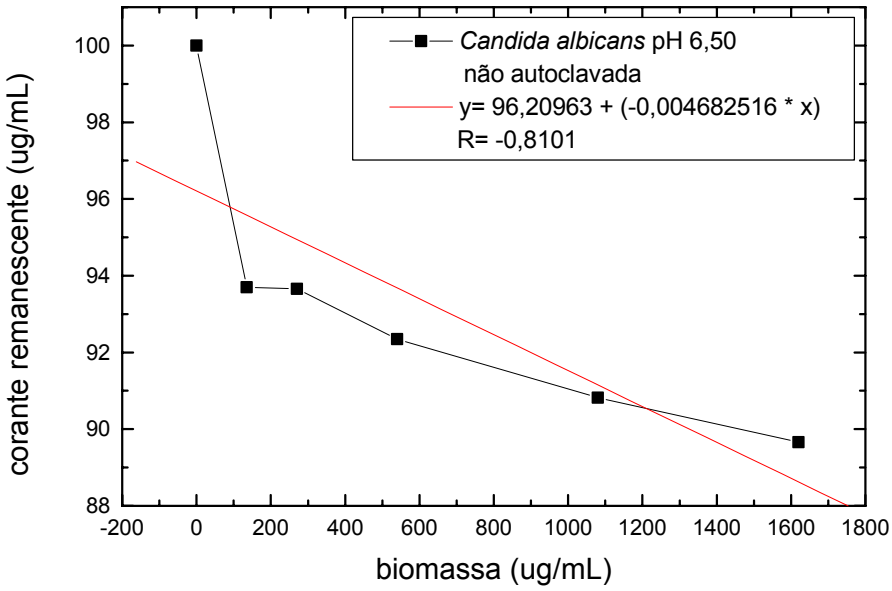




**Figura 6:** *Candida albicans* não [illegible] ntato com o corante direto Direct Violet 51( concentração inicial 100 μg/mL), em pH 2.50, temperatura 30 °C, tempo de contato 120 minutos

**Figura 7:** *Candida albicans* autoclavado e não autoclavado em contato com o corante direto Direct Violet 51 ( concentração inicial 100μg/mL), em pH 4.50, temperatura 30°C, tempo de contato 120 minutos.



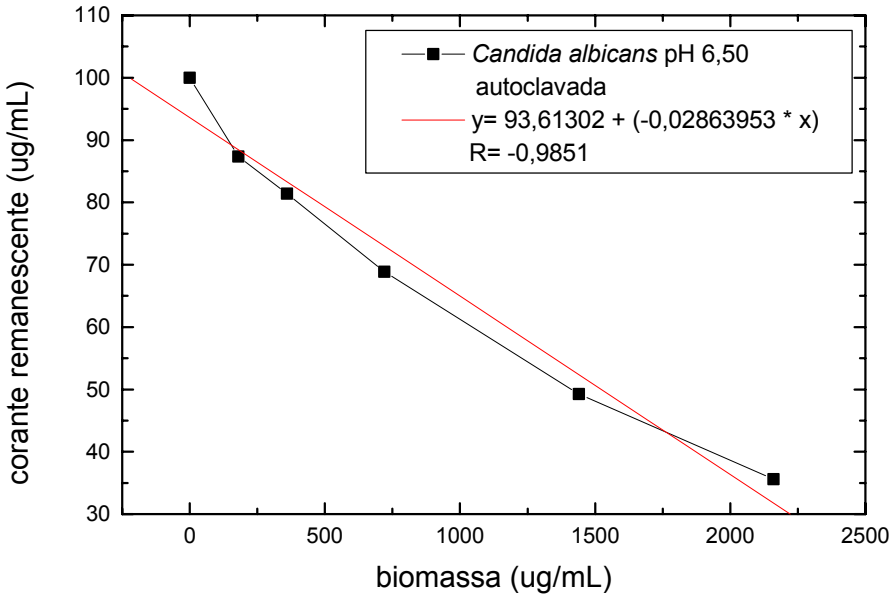




**Figura 8:** *Candida albicans* autoclavado e não autoclavado em contato com o corante direto Direct Violet 51 ( concentração inicial 100μg/mL), em pH 6.50, temperatura 30°C, tempo de contato 120 minutos.

### 4.4- Estimativa de remoção total do corante em solução

Estimativa de remoção do corante “Direct Violet 51” pela linhagem selvagem de *Cândida albicans* não autoclavado e autoclavado em diferentes valores de pH (Tabela 1)

**Tabela 1-** Estimativa de biomassa necessária para a remoção total do corante direto Direct Violet 51, na concentração inicial de 100μg/ mL, pela linhagem selvagem de *Candida albicans*, expresso em μg/ mL de biomassa (peso seco), em diferentes valores de pH.

| *Candida albicans* | | |
|---|---|---|
| pH | Não autoclavado | Autoclavado |
| 2,50 | 1.105,02 | 398,30 |
| 4,50 | 8.532,10 | 2.134,12 |
| 6,50 | 20.546,57 | 3.268,66 |

**4.5- Teste de viabilidade das leveduras em contato com o corante em diferentes valores de pH**

Estudo da viabilidade celular de *Cândida albicans* ,através da técnica da eritrosina, em contato com o corante “Direct Violet 51” (conc. inicial 100µg/mL) nos valores de pH 2,50; 4,50 e 6,50, após 9 dias de contato.(Figuras 9, 10 e 11)

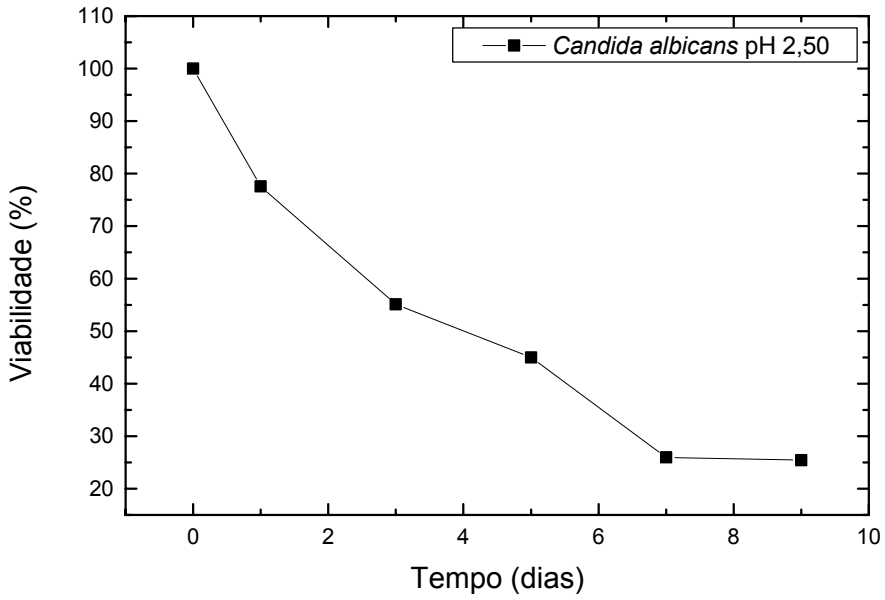



**Figura 9:** Teste de viabilidade pela técnica da eritrosina, com câmara de Newbauer de *Candida albicans* no pH 2,50 em contato com o corante direto Direct Violet 51 com a concentração inicial de 100ug/mL, durante nove dias.

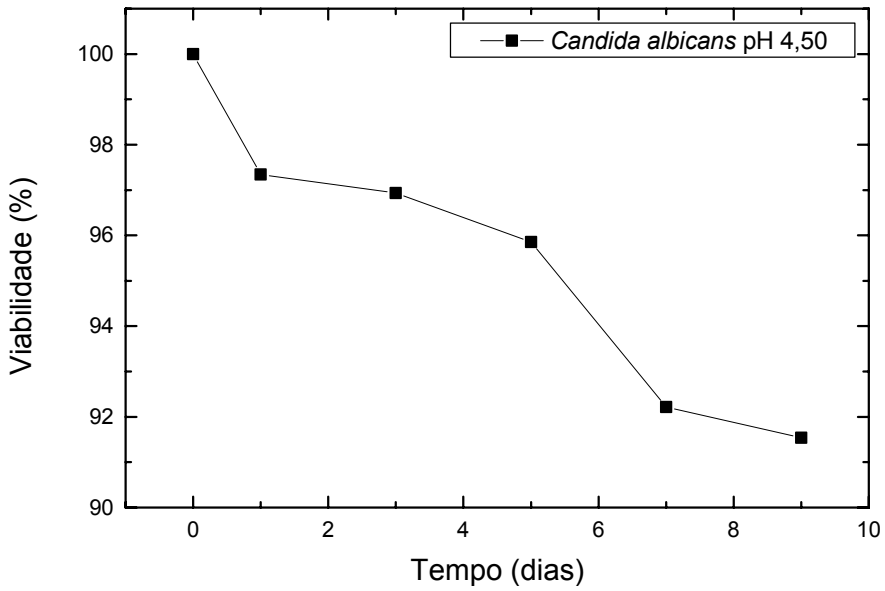



**Figura 10 :** Teste de viabilidade pela técnica da eritrosina, com câmara de Newbauer de *Candida albicans* no pH 4,50 em contato com o corante direto Direct Violet 51 com a concentração inicial de 100ug/mL, durante nove dias.

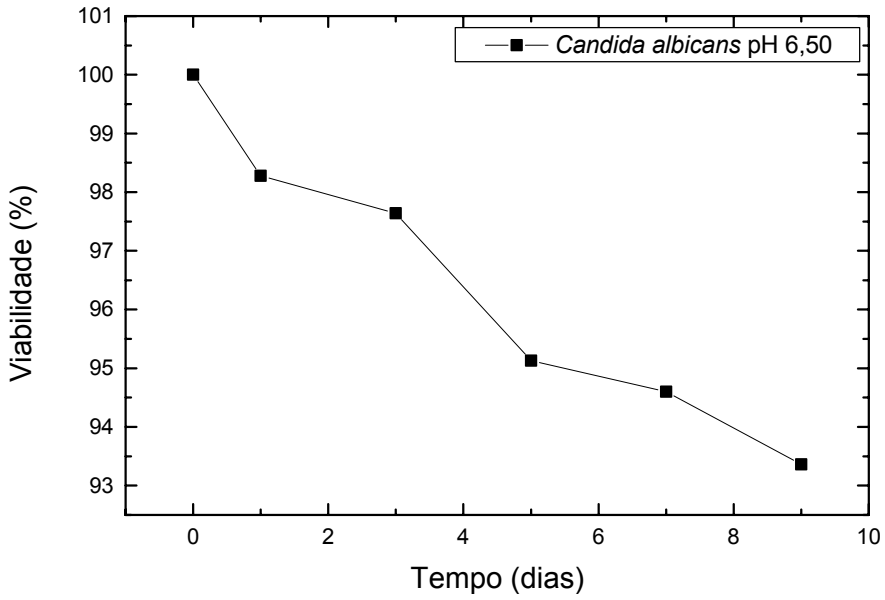



**Figura 11 :** Teste de viabilidade pela técnica da eritrosina, com câmara de Newbauer de *Candida albicans* no pH 6,50 em contato com o corante direto Direct Violet 51 com a concentração inicial de 100ug/mL, durante nove dias.

### 4.6- Teste de biosorção segundo as isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir

Estudo da biosorção do corante “Direct Violet51”por biomassa não autoclavada e autoclavada da linhagem selvagem de *Cândida albicans*, realizado através das isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir nos seguintes valores de pH: 2,50;4,50 e 6,50. a uma temperatura de 30ºC, durante 120 minutos. (Figuras 12,13,14,15,16 e 17)

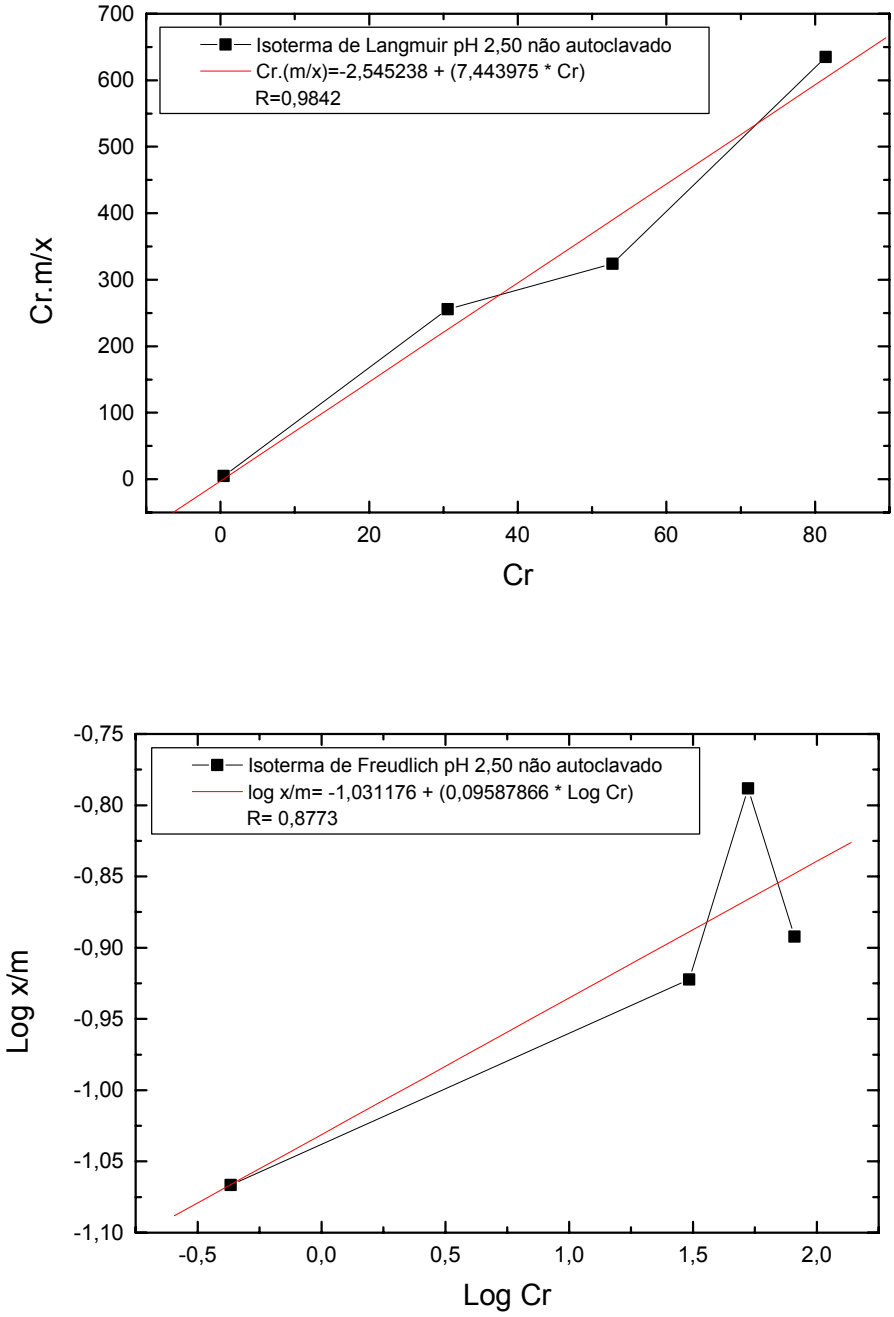
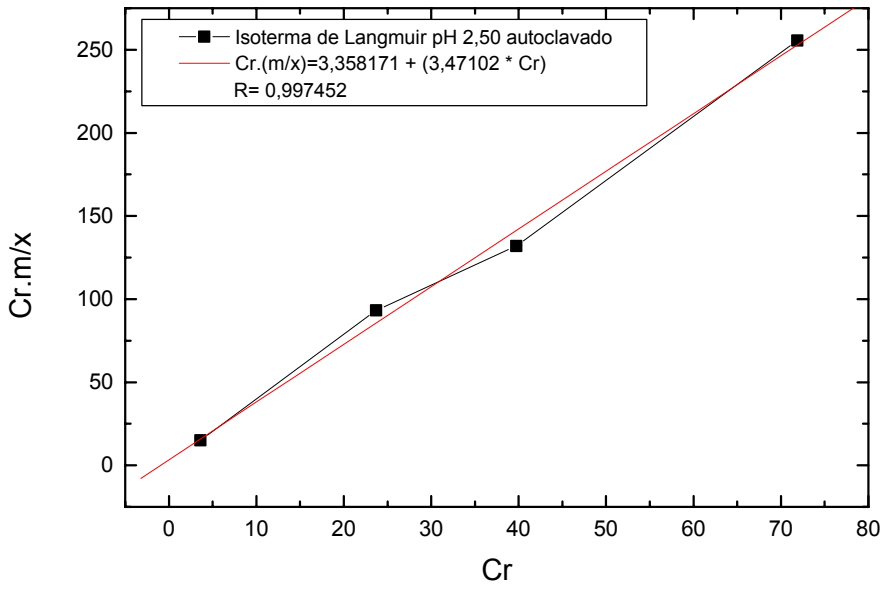



**Figura 12 :** Estudo da biosorção do corante direto Direct Violet 51 por biomassa de *Candida albicans*, não autoclavada realizado através das isotermas de Freundlich e Langmuir no pH 2,50 e temperatura de 30ºC.Concentração inicial do corante: 100μg/mL, concentração de biomassa variando entre 145 e 1160μg/mL e tempo de contato 120 minutos.


Isoterma de Langmuir pH 2,50 autoclavado
Cr.(m/x)=3,358171 + (3,47102 * Cr)
R= 0,997452
Cr.m/x
Cr
0
50
100
150
200
250
0
10
20
30
40
50
60
70
80

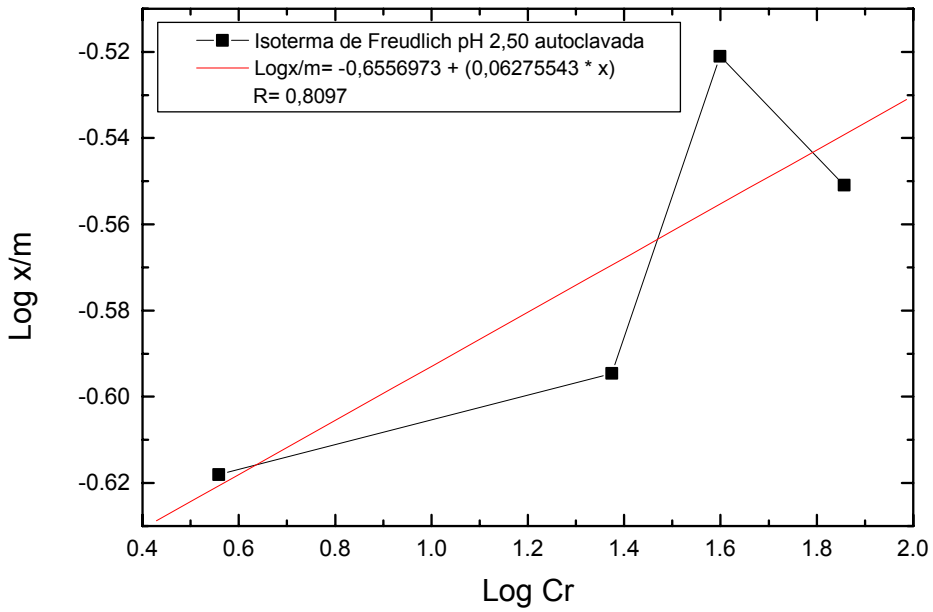
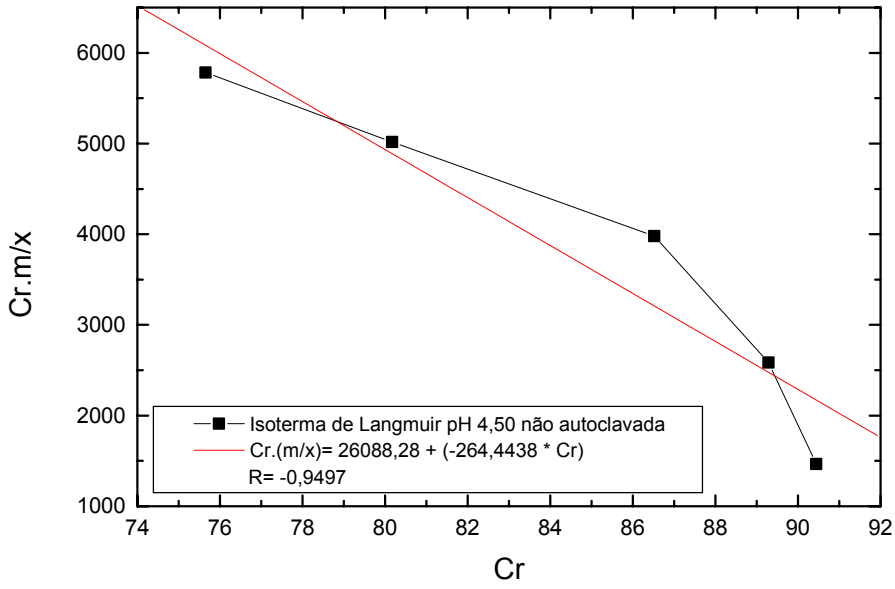
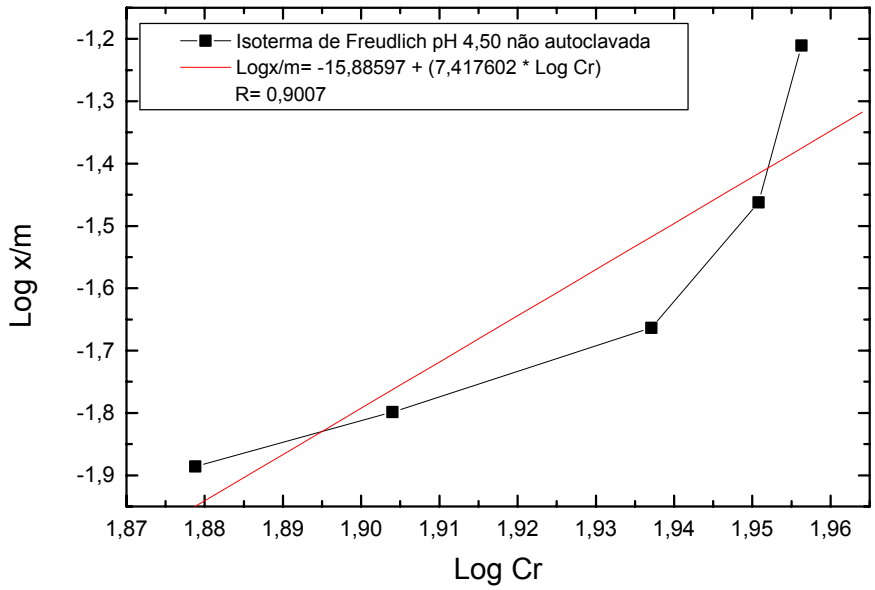

Isoterma de Freudlich pH 2,50 autoclavada
Logx/m= -0,6556973 + (0,06275543 * x)
R= 0,8097
Log x/m
Log Cr
-0.52
-0.54
-0.56
-0.58
-0.60
-0.62
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
1.6
1.8
2.0

**Figura 13 :** Estudo da biosorção do corante direto Direct Violet 51 por biomassa de *Candida albicans* , autoclavada realizado através das isotermas de Freundlich e Langmuir no pH 2,50 e temperatura de 30ºC.Concentração



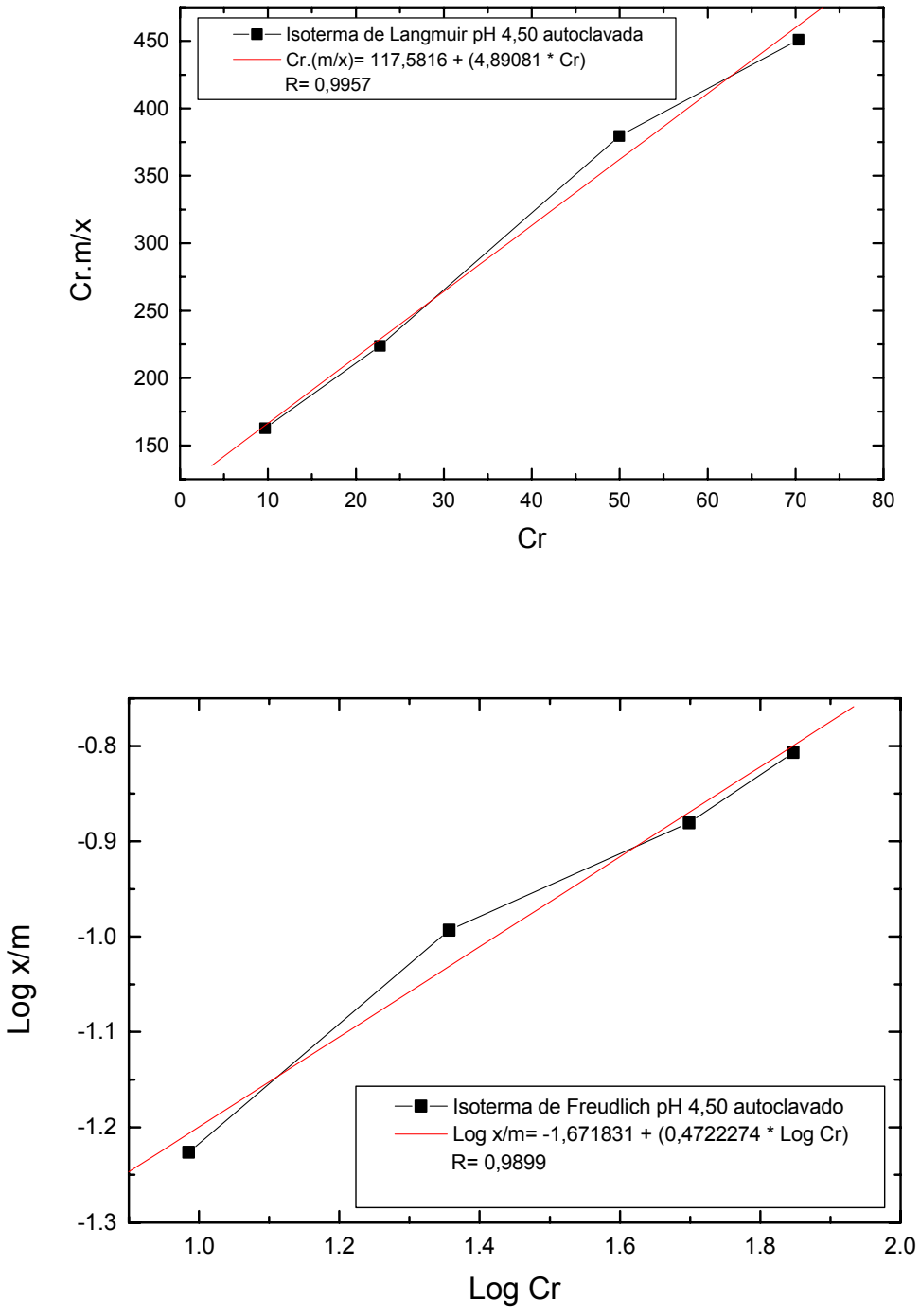

inicial do corante: 100μg/mL, concentração de biomassa variando entre 100 e




400μg/mL e tempo de contato 120 minutos.

**Figura 14 :** Estudo da biosorção do corante direto Direct Violet 51 por biomassa de *Candida albicans*, não autoclavada realizado através das

isotermas de Freundlich e Langmuir no pH 4,50 e temperatura de 30ºC. Concentração inicial do corante: 100μg/mL, concentração de biomassa




variando entre 155 e1860μg/mL e tempo de contato 120 minutos.

**Figura 15 :** Estudo da biosorção do corante direto Direct Violet 51 por biomassa de *Candida albicans*, autoclavada realizado através das isotermas de

Freundlich e Langmuir no pH 4,50 e temperatura de 30ºC. Concentração de biomassa variando entre 190 e 1520μg/mL e tempo de contato 120 minutos.

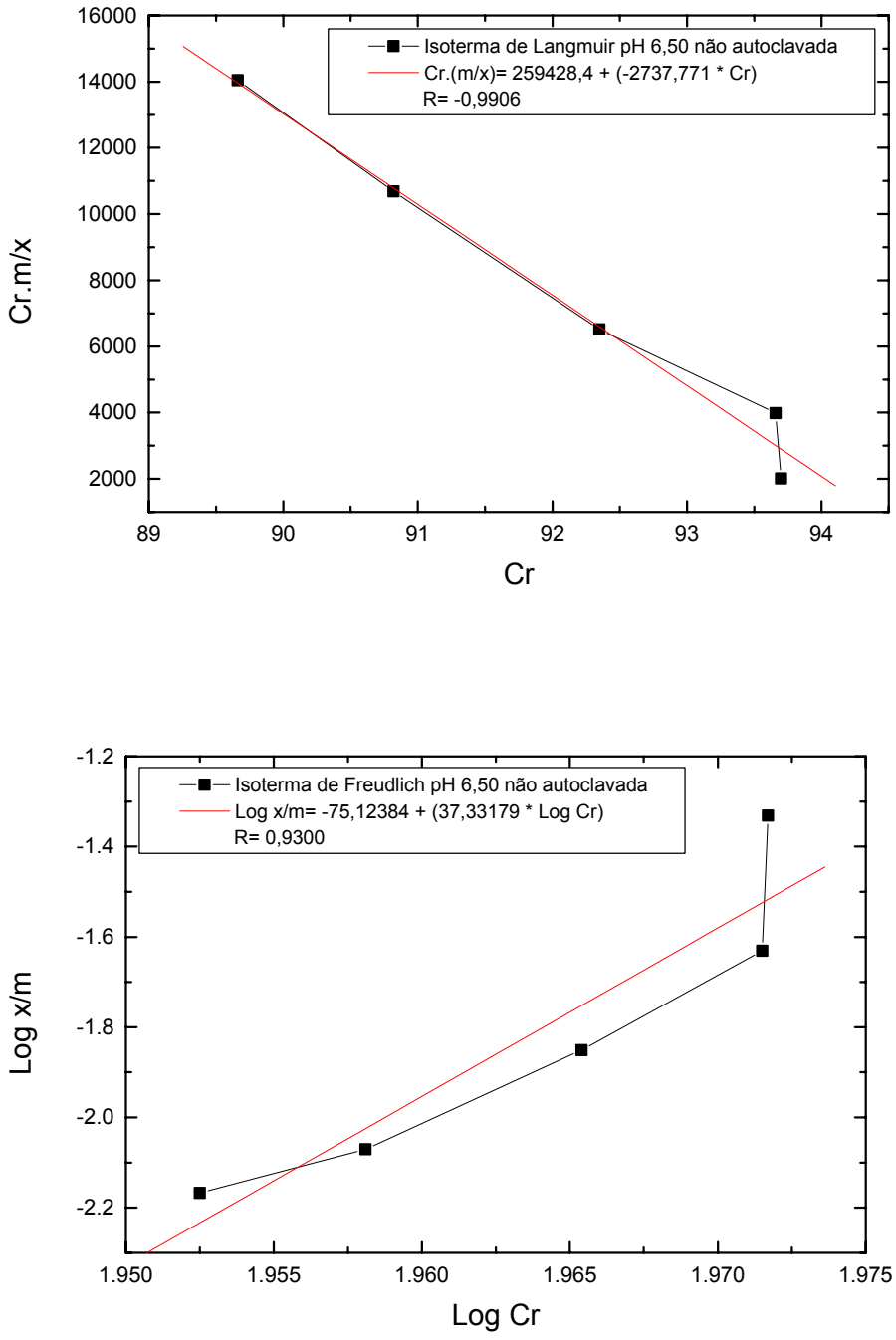



**Figura 16 :** Estudo da biosorção do corante direto Direct Violet 51 por biomassa de *Candida albicans*, não autoclavada realizado através das isotermas de Freundlich e Langmuir no pH 6,50 e temperatura de 30ºC.Concentração inicial do corante: 100μg/mL, concentração de biomassa variando entre 135 e 1620 e tempo de contato 120 minutos.

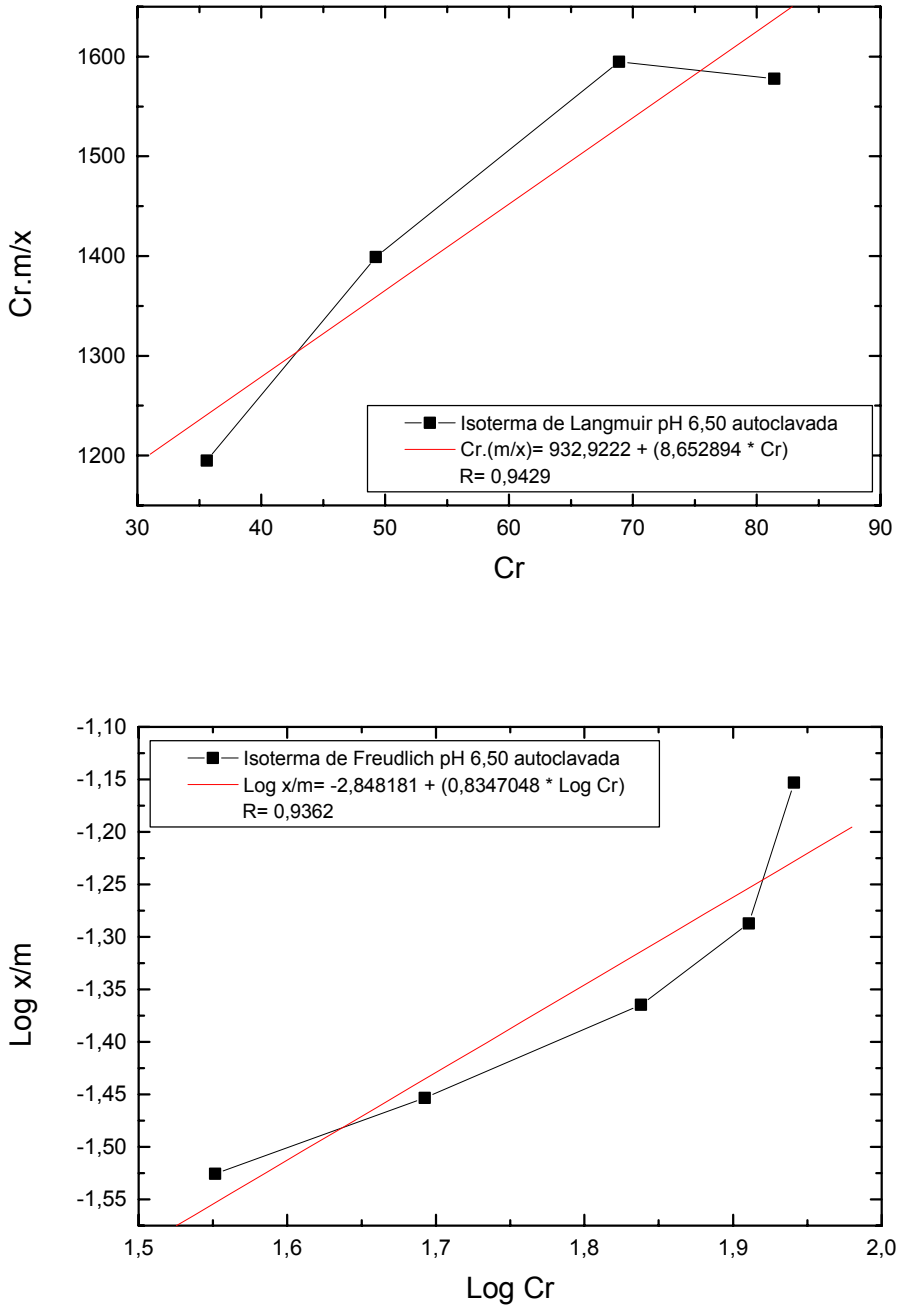



**Figura 17-** Estudo da biosorção do corante direto Direct Violet 51 por biomassa de *Candida albicans*, autoclavada realizado através das isotermas de Freundlich e Langmuir no pH 6,50 e temperatura de 30ºC.Concentração inicial do corante: 100μg/mL, concentração de biomassa variando entre 180 e 2160μg/mL e tempo de contato 120 minutos.

## 4.7- Demonstrativo do coeficiente de correlação obtidos pela utilização das equações de Freundlich e Langmuir

Interação do corante “Direct Violet 51”e a linhagem selvagem de *Candida albicans* nos valores de pH:2,50;4,50 e 6,50.(Tabela 2)

**Tabela 2-** Demonstrativo dos coeficientes de correlação obtidos pela utilização das equações isotermas de Freundlich e Langmuir na interação do corante direto Direct Violet 51 (concentração inicial de 100μg/mL) em diferentes valores de pH de linhagem selvagem de *Candida albicans* autoclavadas e não autoclavadas.

| **C. albicans** | **Freundlich** | | **Langmuir** | |
|---|---|---|---|---|
| pH | Não autoclavada | Autoclavada | Não autoclavada | Autoclavada |
| 2,50 | 0,8773 | 0,8097 | 0,9658* | 0,9974* |
| 4,50 | 0,9007 | 0,9899 | 0,9497* | 0,9957* |
| 6,50 | 0,9292 | 0,9362 | 0,9906* | 0,9429* |

Obs: (*) melhor coeficiente de correlação quando comparadas as diferentes interações em função do pH.

**4.8- Modelo do experimento utilizado para os testes cinéticos entre a levedura *Candida albicans* viva e autoclavada e o corante direto Direct Violet 51** (Figuras 18 e 19)

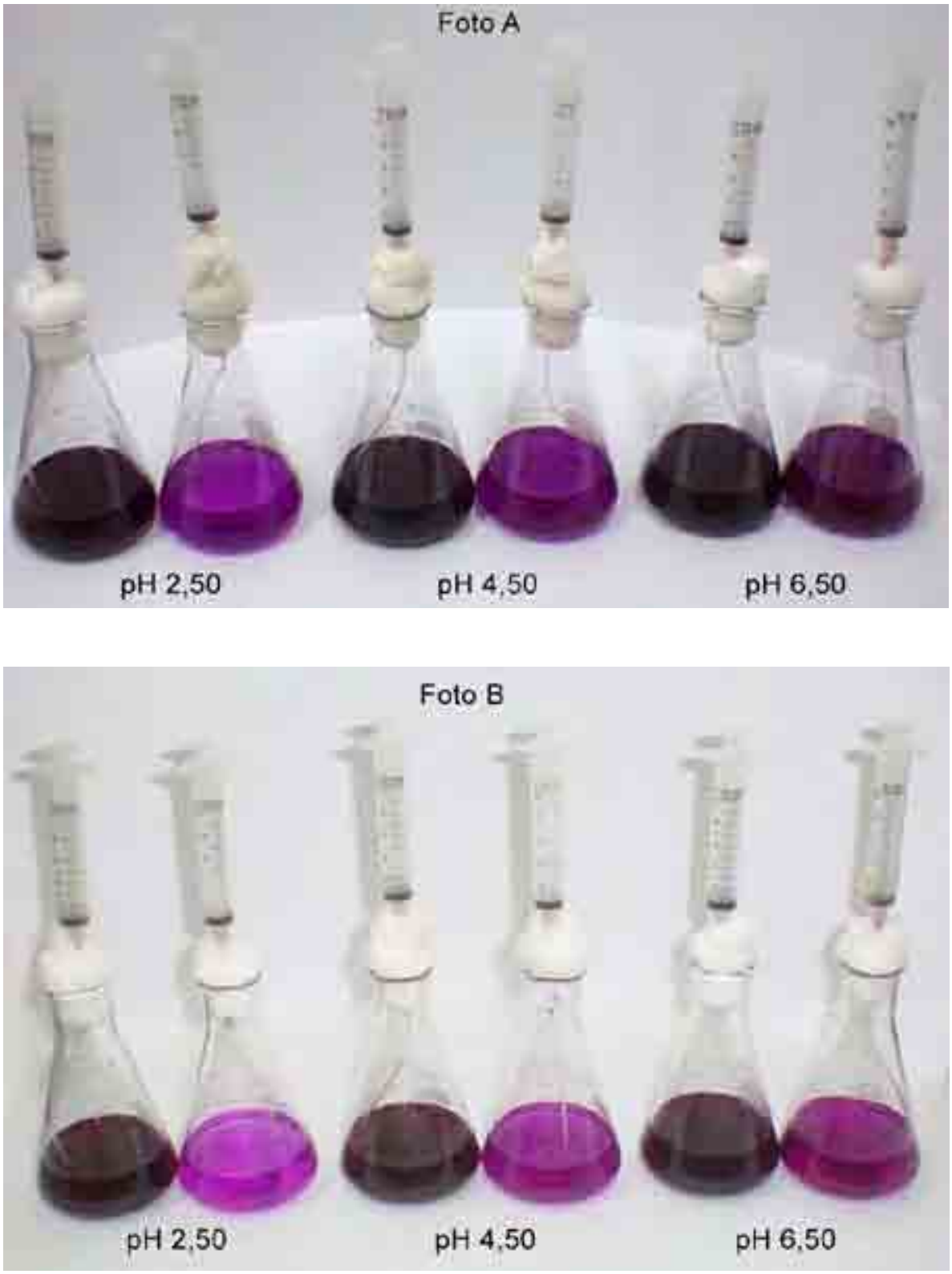



**Figura 18.** Teste cinético comparativo entre a levedura *Cândida albicans* não autoclavada e autoclavada e o corante Direct Violet 51 nos valores de pH 2,50; 4,50 e 6,50. As fotos mostram os frascos controle (tempo zero) sem levedura e com concentração inicial do corante de 100 μg/mL e os frascos não autoclavados e autoclavados após 96 horas (5760 minutos)de contato com a levedura (foto A) biomassa não autoclavada e (foto B) biomassa autoclavada.

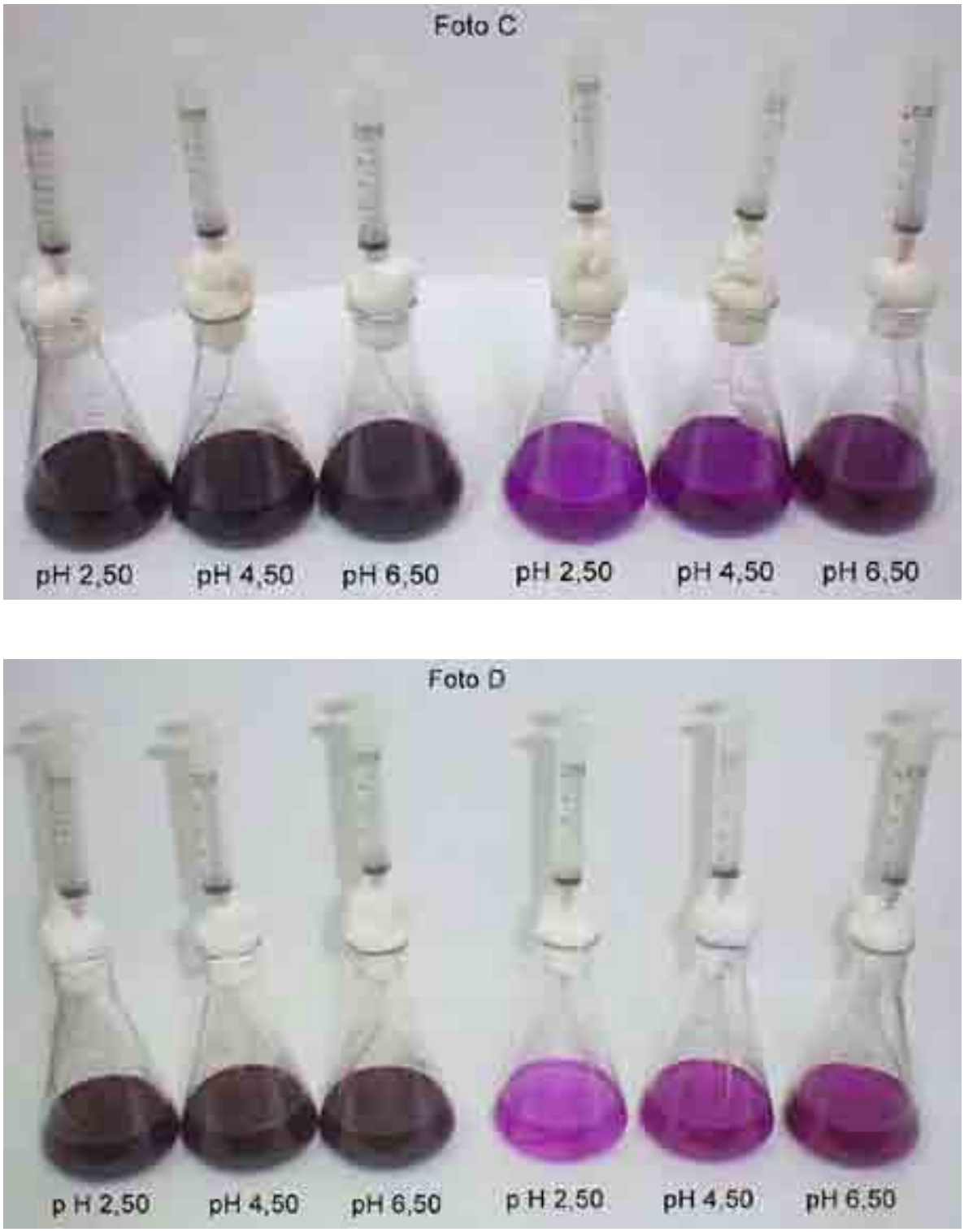



**Figura 19.** Teste cinético comparativo entre a levedura *Cândida albicans* não autoclavada e autoclavada e o corante Direct Violet 51 nos valores de pH 2,50; 4,50 e 6,50. As fotos mostram os frascos controle (tempo zero) sem levedura e com concentração inicial do corante de 100 μg/mL e os frascos não autoclavados e autoclavados após 96 horas (5760 minutos)de contato com a levedura (foto C) biomassa não autoclavada e (foto D) biomassa autoclavada.

**4.9- Teste cinético realizado com a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada durante 96 horas em diferentes valores de pH.**(Figuras 20,21 e 22)

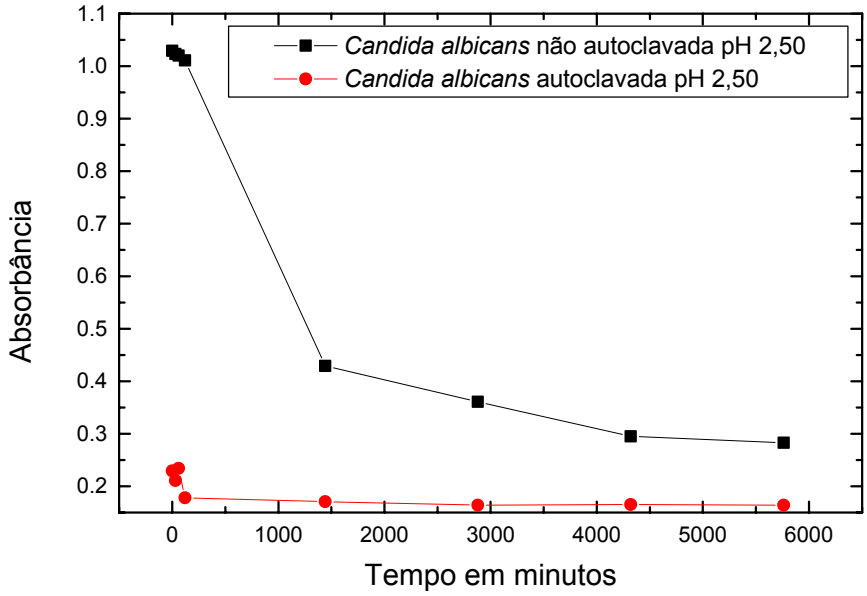



**Figura 20 :** Teste cinético realizado com a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada com o corante Direct Violet 51, concentração inicial de 100µg/mL. Incubação em todo o experimento a 30ºC, pH 2,50. Leituras efetuadas de 30 em 30 minutos nas duas primeiras horas a 550nm.

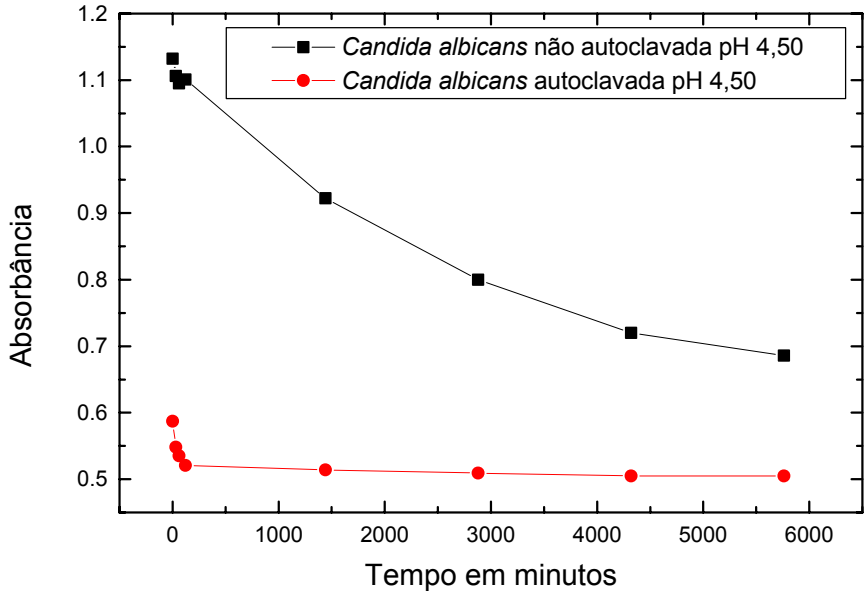



**Figura 21 :** Teste cinético realizado com a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada com o corante Direct Violet 51, concentração inicial de 100μg/mL. Incubação em todo o experimento a 30ºC, pH 4,50. Leituras efetuadas de 30 em 30 minutos nas duas primeiras horas a 550nm.

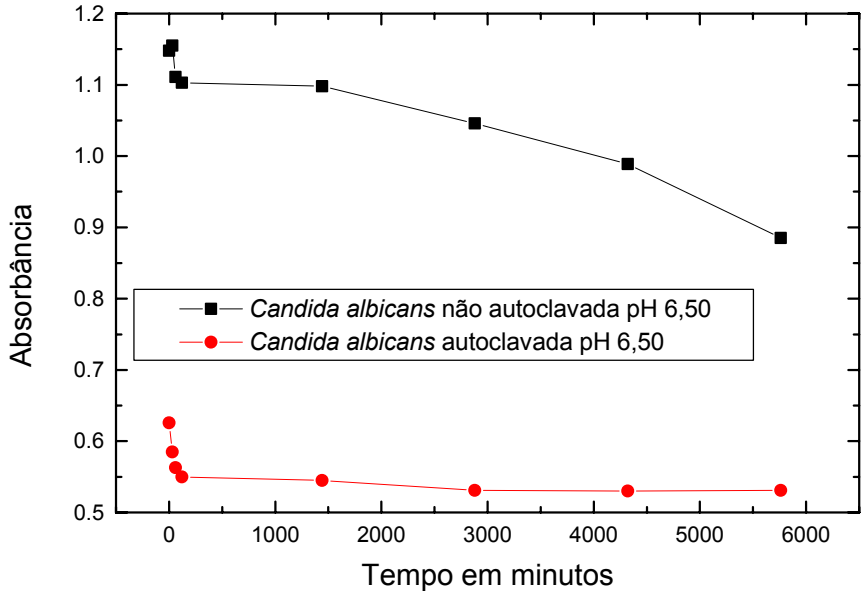



**Figura 22 :** Teste cinético realizado com a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada com o corante Direct Violet 51, concentração inicial 100μg/mL. Incubação em todo o experimento a 30ºC, pH 6,50. Leituras efetuadas de 30 em 30 minutos nas duas primeiras horas a 550nm.

**4.10- Teste de biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 através do UV-VIS em diferentes valores de pH**

Estudo da biosorção e biodegradação através de varreduras espectrais em UV-VIS entre *Candida albicans* não autoclavado em contato com o corante Direct Violet 51(concentração inicial 100µg/mL) nos seguintes valores de pH: 2,50;4,50 e 6,50, em função do tempo de contato (Figuras 23,24 e 25)

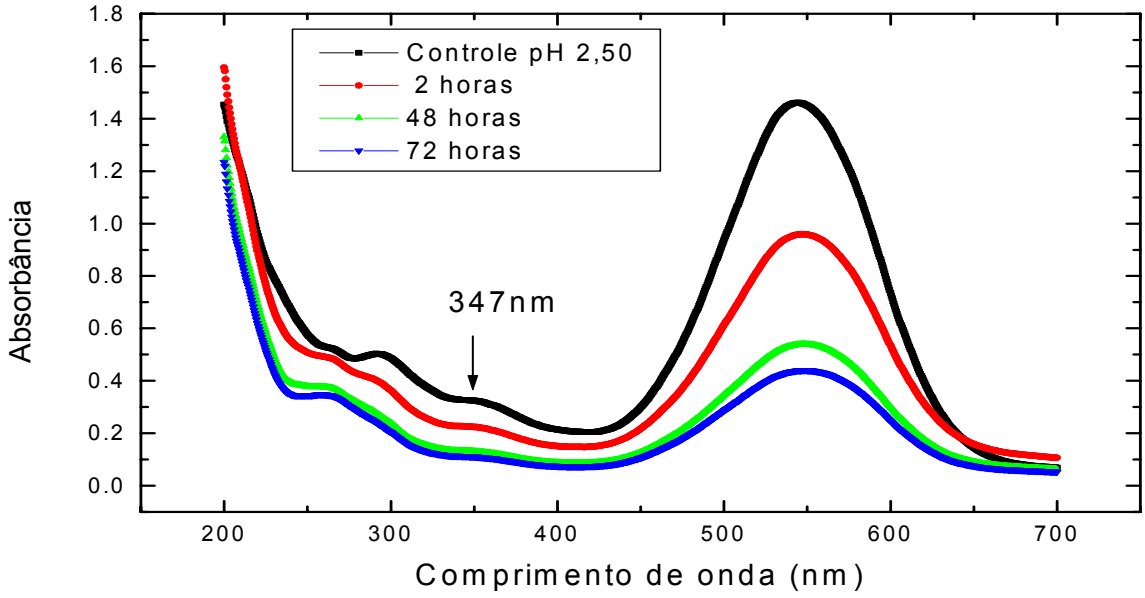



**Figura 23 :** Varreduras espectrais do corante Direct Violet 51 a partir da concentração inicial (100μg/mL) e a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavados, pH 2,50 em função do tempo de contato.

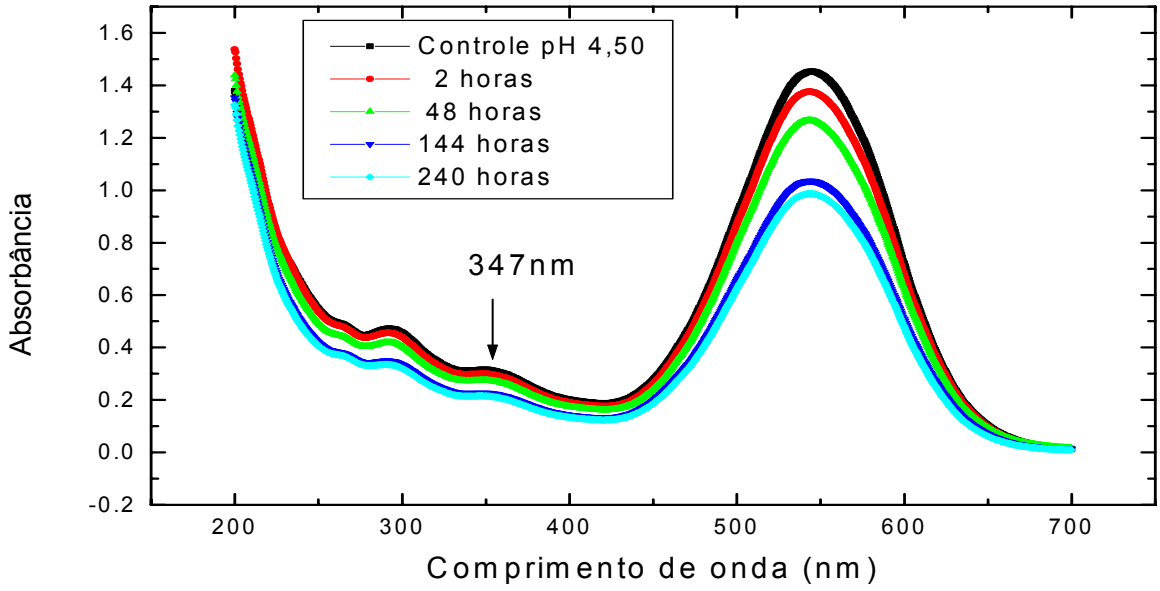



**Figura 24:** Varreduras espectrais do corante Direct Violet 51 a partir da concentração inicial (100μg/m) e a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavadas, pH 4,50 em função do tempo de contato.

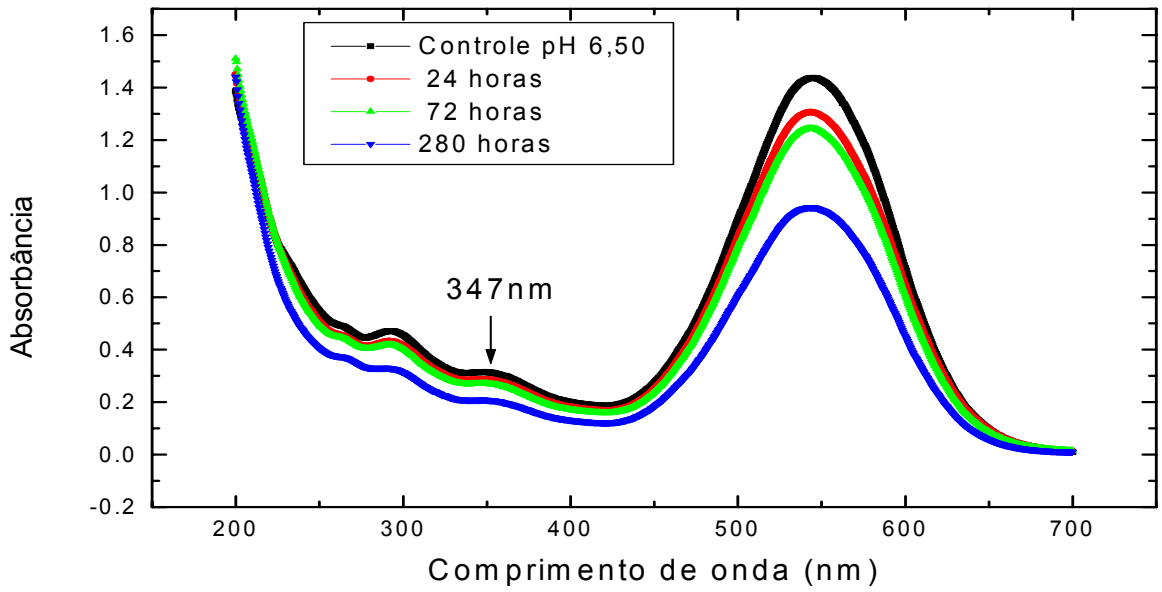



**Figura 25 :** Varreduras espectrais do corante Direct Violet 51 a partir da concentração inicial (100μg/mL) e a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada, pH 6,50 em função do tempo de contato.

## 4.11- Estudo da biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 pelo FT-IR em diferentes valores de pH

Análise da biosorção e biodegradação através do FT-IR entre a levedura selvagem *Candida albicans* e o corante Direct Violet 51 nos valores de pH 2,50; 4,50 e 6,50 em função do tempo de contato.(Figuras 26, 27 e 28)

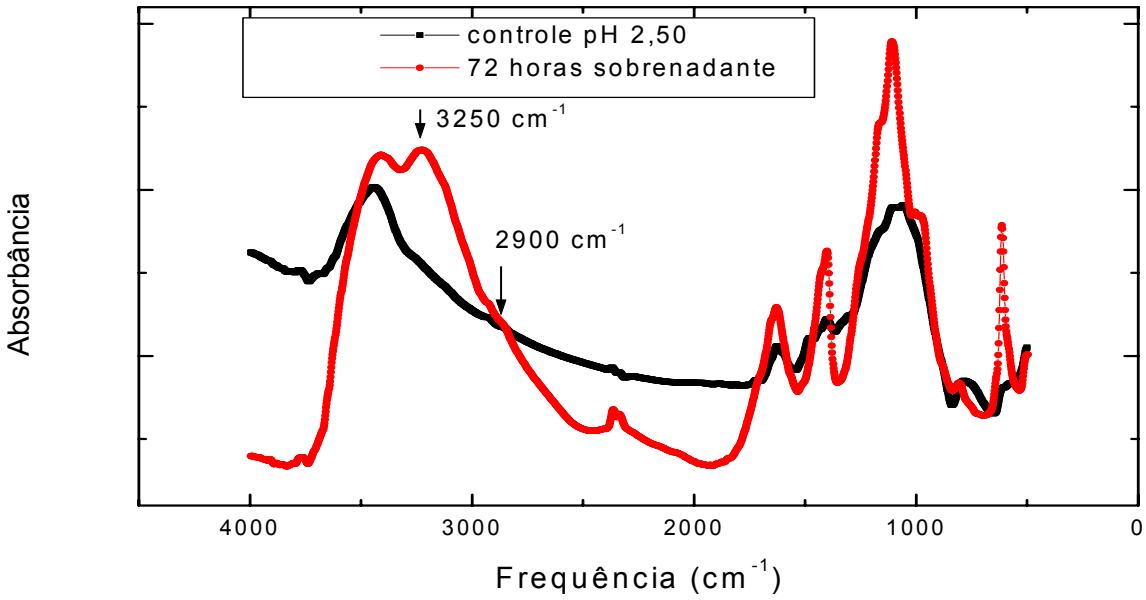



**Figura 26-** Espectro de absorção em FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ do corante Direct Violet 51 no pH 2,50 (controle e após 72 horas de contato) na forma de pastilhas preparadas na proporção de 1mg do corante (em peso seco do sobrenadante) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

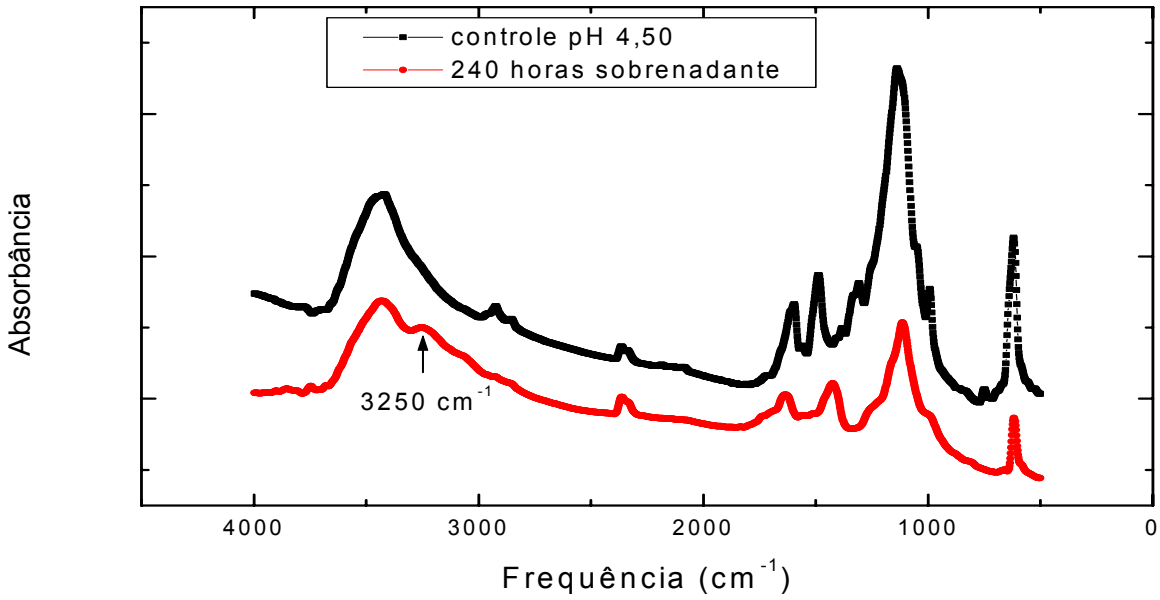



**Figura 27-** Espectro de absorção em FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ do corante Direct Violet 51 no pH 4,50 (controle e após 240 horas de contato) na forma de pastilhas preparadas na proporção de 1mg do corante (em peso seco do sobrenadante) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

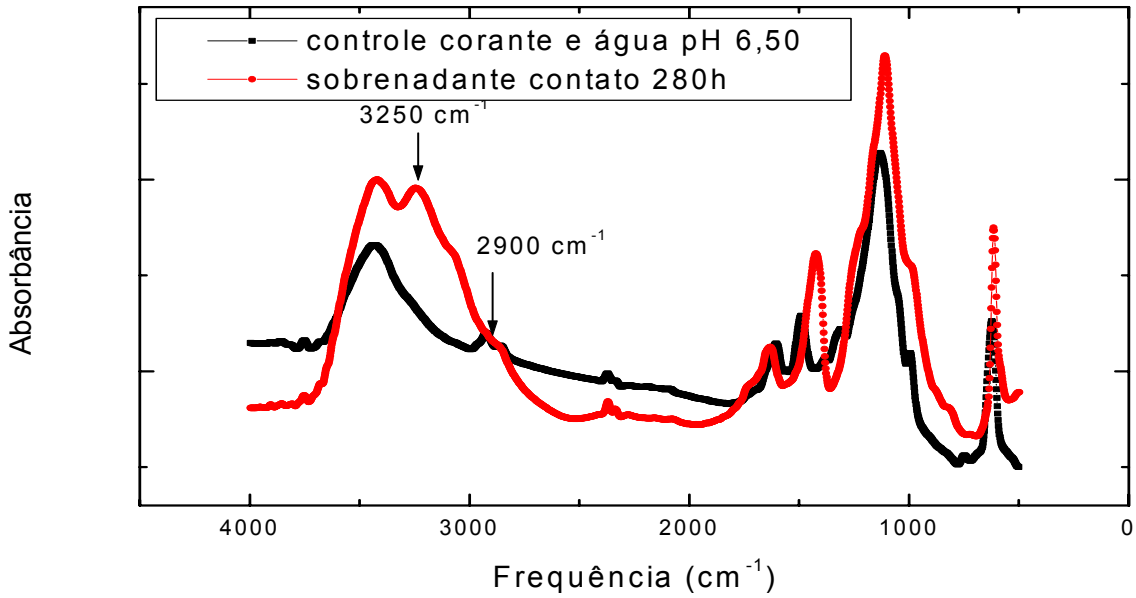



**Figura 28-** Espectro de absorção em FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ do corante Direct Violet 51 no pH 6,50 (controle e após 280 horas de contato) na forma de pastilhas preparadas na proporção de 1mg de corante (em peso seco do sobrenadante) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

**4.12- Estudo da biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 pelo FT-IR em diferentes valores de pH sobre a parede celular de *Candida albicans***

Análise da biosorção e biodegradação através do FT-IR na parede celular da levedura selvagem *Candida albicans* e o corante Direct Violet 51 nos valores de pH 2,50; 4,50 e 6,50 em função do tempo de contato.(Figuras 29, 30, 31, 32, 33 e 34)

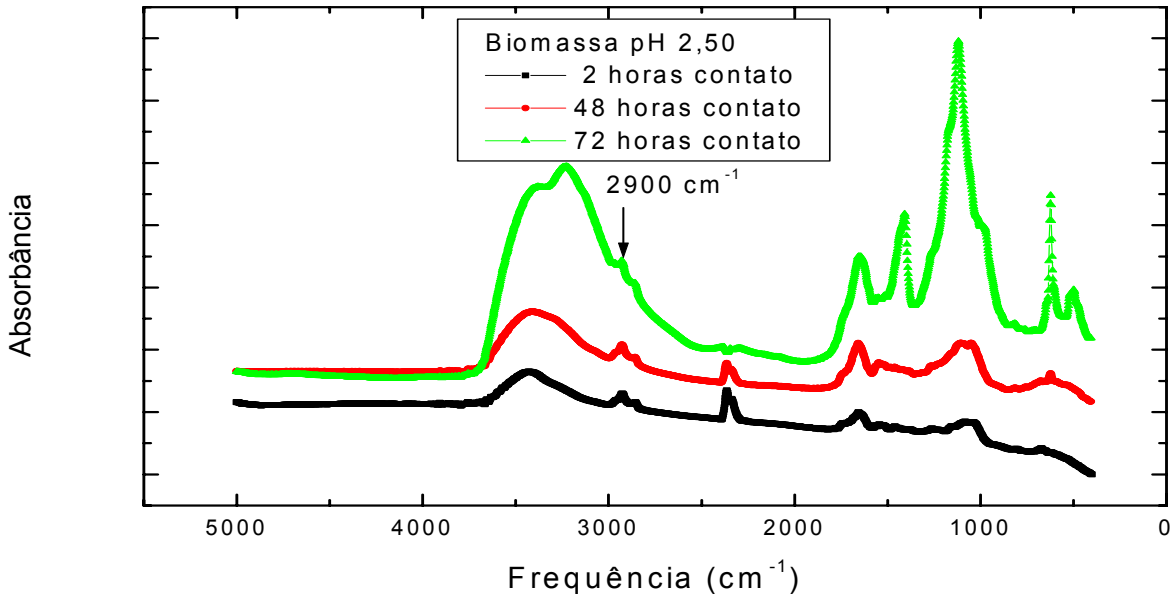



**Figura 29-** Espectros de absorção FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ de *Candida albicans* após 2, 48 e 72 horas de contato com o corante Direct Violet 51 no pH 2,50 em pastilhas preparadas na proporção de 1mg de biomassa (em peso seco) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

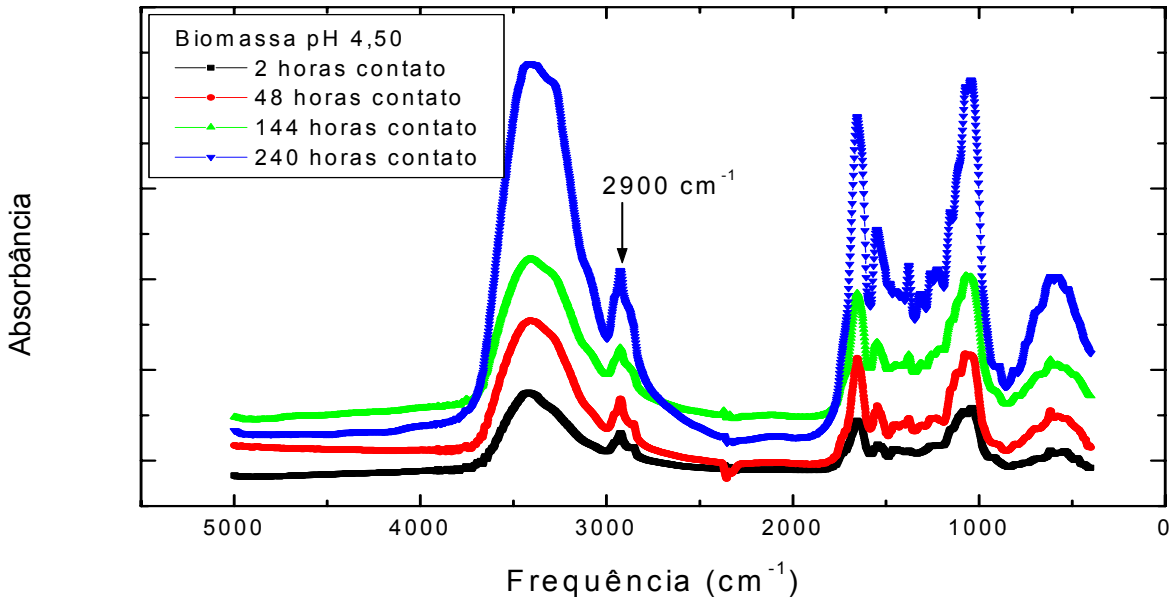



**Figura 30-** Espectros de absorção FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ de *Candida albicans* após 2, 48, 144 e 240 horas de contato com o corante Direct Violet 51 no pH 4,50 em pastilhas preparadas na proporção de 1mg de biomassa (em peso seco) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

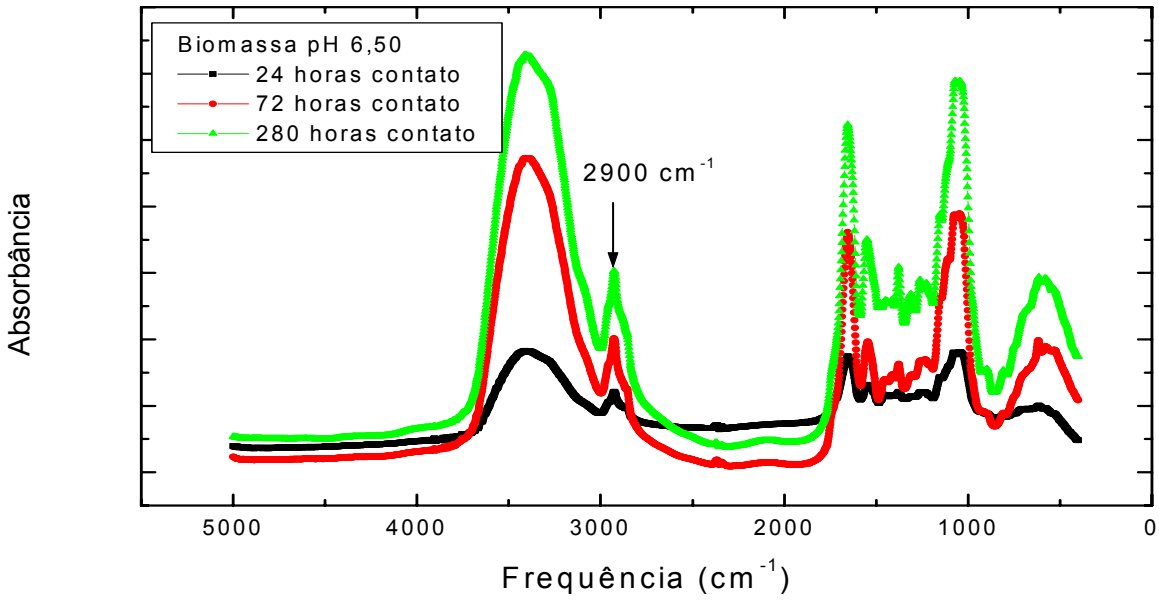



**Figura 31-** Espectros de absorção FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ de *Candida albicans* após 24, 72 e 280 horas de contato com o corante Direct Violet 51 no pH 6,50 em pastilhas preparadas na proporção de 1mg de biomassa (em peso seco) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

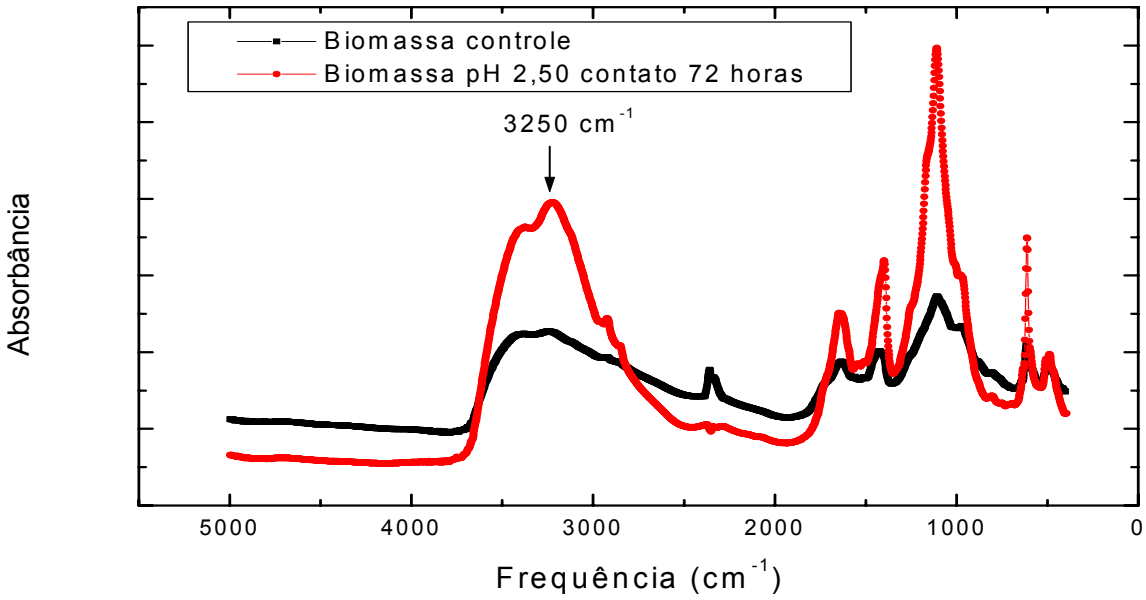



**Figura 32-** Espectros de absorção FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ de *Candida albicans* controle e após 72 horas de contato com o corante Direct Violet 51 no pH 2,50 em pastilhas preparadas na proporção de 1mg de biomassa (em peso seco) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

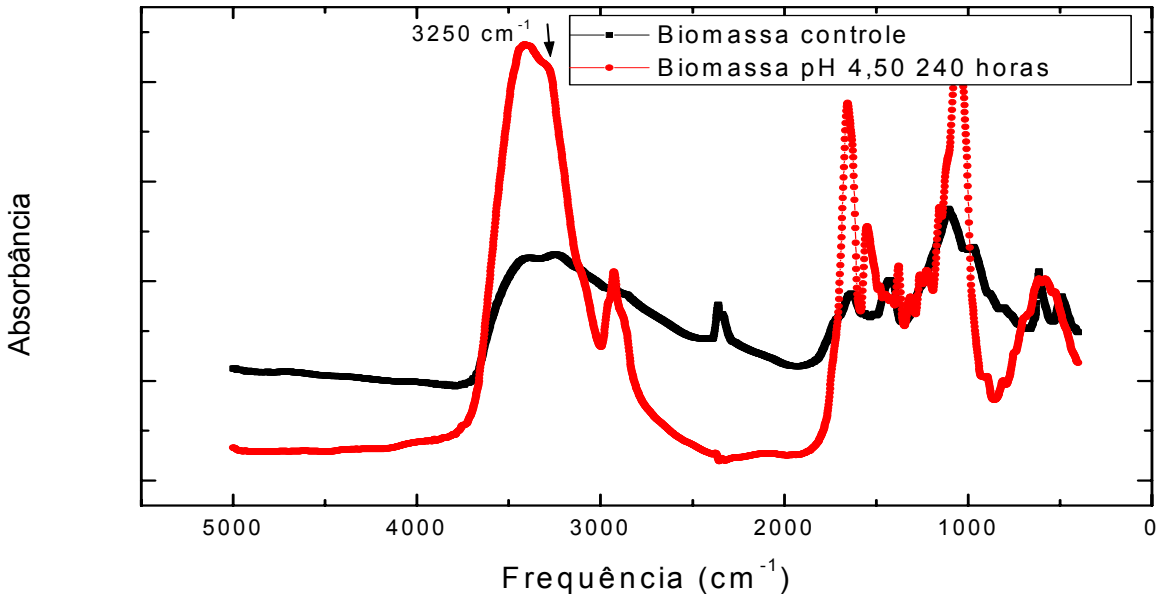



**Figura 33-** Espectros de absorção FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ de *Candida albicans* controle e após 240 horas de contato com o corante Direct Violet 51 no pH 4,50 em pastilhas preparadas na proporção de 1mg de biomassa (em peso seco) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

.

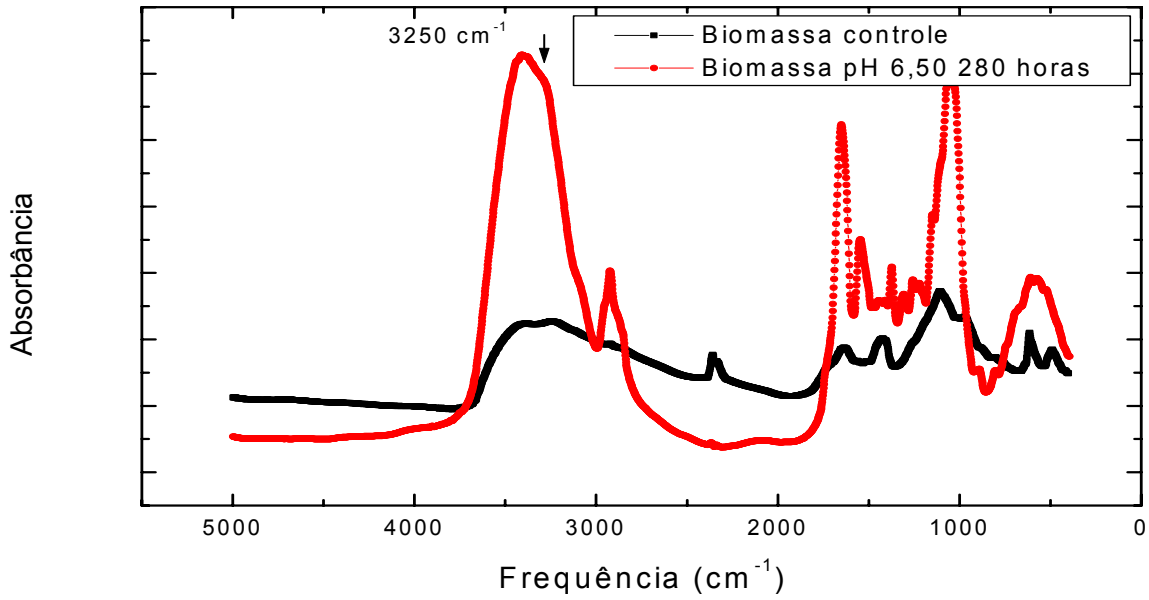



**Figura 34-** Espectros de absorção FT-IR na região de 400 a 5.000 cm $^{-1}$ de *Candida albicans* controle e após 280 horas de contato com o corante Direct Violet 51 no pH 6,50 em pastilhas preparadas na proporção de 1mg de biomassa (em peso seco) para 149 mg de KBr com leituras feitas em espectrofotômetro Shimadzu 8.300.

# 5- DISCUSSÃO

## 5.1- Microorganismo Utilizado

Estudos realizados por HAGLER e MENDONÇA-HAGLER (1981), indicaram a presença de um elevado número de leveduras nos efluentes poluídos. Dentre as espécies encontradas as que estão em maior número são as espécies de *Candida*, inclusive as patogênicas oportunistas como *C. tropicalis,C. parapsilosis, C.guilliermondii, C.albicans* e *C. glabrata.*

A presença de uma população relativamente alta de leveduras fermentativas, principalmente *Candida krusei* quando presentes nestes sedimentos caracterizam a sua adaptação aos ambientes poluídos. Através deste dado podemos analisar o grau de poluição do efluente.

Baseado nessas informações, identificamos uma levedura selvagem isolada de um efluente industrial próximo à Atofina Química do Brasil, situada no distrito industrial de Rio Claro, a qual trabalha com a fabricação de várias substâncias orgânicas dentre as quais os peróxidos, produto este de grande interesse para as indústrias químicas do país a qual foi utilizada no presente trabalho.

Na figura 1, pode-se observar a cultura da levedura selvagem após identificação. Trata-se da *Candida albicans*, uma levedura patogênica oportunista, de grande importância médica, principalmente em pacientes

imunodeprimidos, a qual também ocorre em ambientes poluídos, tanto no solo como em efluentes industriais contaminados.

## 5.2- Corante utilizado

### 5.2.1- Corantes Diretos

A origem dos corantes diretos se deu em 1884 com a descoberta do Vermelho Congo por Bottiger. Antes desta data, as fibras celulósicas somente podiam ser tingidas através da aplicação de mordentes e corante à tina, obtidos da natureza como por ex. o índigo. Esta descoberta iniciou uma nova era no tingimento das fibras celulósicas, uma vez que os corantes diretos são de fácil aplicação por não requererem o uso de mordentes.(WARING e HALLAS, 1994)

Os corantes diretos são na sua maioria compostos azo-sulfonados, muito similares aos corantes ácidos na constituição, não havendo uma nítida demarcação entre essas duas classes. Alguns corantes diretos podem tingir também fibras proteicas e poliamidas. A natureza da afinidade da celulose pelos corantes diretos ainda não foi satisfatoriamente explicada podendo ocorrer por ação das forças não polares de van der Walls ou seja, acúmulo de cargas negativas e positivas em lugares diferentes do átomo, o qual se comporta como dipolo elétrico. Dentre outras explicações estão as pontes de hidrogênio e a de que a substantividade estaria relacionada com a estrutura molecular planar do corante, a qual poderia alinhar-se em sua extensão sobre a superfície da fibra. São solúveis em água, graças à presença de grupos sulfônicos na molécula do corante. Podem ser utilizadas em fibras celulósicas, algumas proteicas e poliamidas, além de papel couro e preparação de sais de metal pesado para uso em pigmentos, mordentes biológicos e indicadores. O Direct Violet 51 é um corante muito usado pelo fato de que, em sua estrutura há ligantes diazo que confere grande resistência à lavagem com água e alta substantividade, sendo portanto um corante bastante aderente aos tecidos.

## 5.3- Obtenção dos espectros de absorção do corante

Conforme a análise espectrofotométrica realizada (figura 2), foi verificado que o corante Direct Violet 51 pode ser considerado como um corante estável frente as variações de pH, não apresentando diferenças significativas nos espectros das amostras submetidas a diferentes valores de pH.

O comprimento de onda máximo fica em torno de 550nm, mantendo-se nos diferentes valores de pH praticamente o mesmo valor de absorbância (figura 2).

Portanto, devido a esta estabilidade do corante nos valores de pH testados utilizamos o comprimento de onda de 550 nm para as determinações quantitativas deste corante.

Pode-se também verificar que as retas feitas em cada pH, no que diz respeito à sua inclinação, neste comprimento de onda apresentam valores experimentais muito próximos (figuras 3, 4 e 5).

## 5.4- Testes de biosortividade dos corantes em diferentes valores de pH

Os testes de biosorção em diferentes valores de pH com o corante Direct Violet 51, na concentração inicial de 100µg/ml e a levedura selvagem *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada, indicaram que o meio mais ácido é mais eficaz na remoção do corante em solução aquosa e que a biomassa autoclavada funciona como melhor substrato do que a biomassa viva no tempo de contato de 120 minutos (figuras 6, 7, 8 e tabela 1). A interação biosortiva (fungo x corante) neste experimento indica uma correlação linear, a qual variou de -0,8101 a -0,9897, mesmo em valores de pH menos biosortivos. Através desta técnica foi possível estabelecer também, uma estimativa de remoção total do corante em cada caso estudado, os quais estão ilustrados na tabela 1.

Quanto ao fato de as leveduras autoclavadas apresentarem melhor mecanismos de remoção, podemos interpretar que a presença do corante em solução agiria para as células leveduriformes como se fossem um corpo estranho e que necessita ser removido, através de sistemas enzimáticos, os quais dificultariam os sítios adsortivos a receberem as moléculas do corante, como estabelecido por SHARF em 1978 com o corante eritrosina, a partir do momento em que ocorre a autoclavagem, estes sistemas enzimáticos cessam e as células se tornam um substrato mais propícios à aproximação de moléculas estranhas, CORSO 1998.

A partir desses resultados pode-se ainda verificar que os corantes diretos apresentam afinidade com a *Candida albicans*, isto se deve provavelmente ao fato de que os corante diretos não necessitam da presença de substâncias mordentes (ZOLLINGER 1987) e, portanto sejam mais biosortivos mesmo em valores de pH menos ácido. (CORSO 1998)

## 5.5- Teste de viabilidade das leveduras em contato com o corante em diferentes valores de pH

Apesar de a maioria das leveduras se desenvolverem bem em valores de pH bastante ácidos,o teste de viabilidade com o corante Direct Violet 51 demonstrou que a *Candida albicans* no pH 2,50 teve menor viabilidade do que nos valores de pH 4.50 e 6,50 (figuras 9,10 e 11), decaindo a 50% após 3 dias de contato. Também foi observado neste experimento que o pH 2.50 foi o que demonstrou maior remoção do corante em relação aos valores de pH 4.50 e 6,50. Este fato provavelmente está relacionado com dois fatores, aumento do número de células mortas e biodegradação nas células vivas que se adaptaram à um meio hostil em termos de fonte de carbono.

## 5.6- Teste de biosorção segundo as isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir

A equação que relaciona a quantidade de moléculas sobre uma superfície à pressão e à temperatura constante é denominada Isoterma de adsorção (MOORE, 1968).

As moléculas e átomos podem atacar a superfície de duas maneiras, fisicamente ou quimicamente. Na adsorção física, ou fisiosorção, ocorre uma interação de Van der Walls entre o adsorbato e o substrato. Tais interações podem ser extensas, porém fracas, e a energia que é liberada quando a partícula é fisiosorvida é tão pequena que pode ser adsorvida como vibração de baixa intensidade, na verdade, as moléculas ficam aderidas à superfície após um processo de acomodação entre as forças atuantes no equilíbrio.

Por sua vez na quimiosorção, ou adsorção química, as partículas interagem com a superfície formando uma ligação química, usualmente ligações covalentes, e tendem a encontrar um número máximo de sítios com o substrato. A entalpia da quimiosorção é muito maior do que o da fisiosorção, uma molécula quimiosorvida pode ser removida separadamente se a valência da ligação não estiver correspondendo com a da superfície (ATKINS,1991).

A isoterma de Langmuir baseia-se no recobrimento gradual de uma superfície pelas moléculas adsorvidas, dando-se a saturação quando a camada adsorvida tem a espessura uniforme de uma molécula. A isoterma é especialmente aplicável aos casos de quimiosorção, onde as moléculas adsorvidas são mantidas na superfície por ligações comparáveis às dos compostos químicos, ficam em equilíbrio e formam uma mono camada (CASTELLAN,1964).

Entretanto, como pode surgir também uma espécie de adsorção onde a camada quimiosorvida pode desempenhar o papel de um composto intermediário no processo de catálise da reação onde venha a ocorrer ligações molécula-molécula do adsorbato, formando multicamadas e intercalando os processos de fisiosorção e quimiosorção, surgiram outras isotermas de adsorção para tentarem melhor explicar cada fenômeno adsortivo, como a equação de Freundlich que utiliza as proporções logarítmicas para analisar as possibilidades de reações, as quais permitem avaliar se um determinado fenômeno é resultado de uma adsorção em monocamadas ou em multicamadas , associando-se as variáveis à um sistema de regressão, permitindo verificar qual apresenta melhor correlação entre cada equação estudada (ATKINS,1991).

A aplicação das equações de Freundlich e Langmuir para a interação entre a levedura selvagem *Candida albicans* e o corante Direct Violet 51 nos valores de pH 2,50, 4,50 e 6,50, revela em linhas gerais que a equação de Langmuir foi a mais favorável, apresentando melhores coeficientes de regressão em todas as situações estudadas, tanto no pH mais biosortivo quanto nos menos biosortivos ( figuras 12, 13, 14, 15, 16 e 17).

Para se realizar estes testes foi utilizado parâmetros semelhantes aos demais ensaios realizados, ou seja, manteve-se a concentração de corante constante e variou-se a concentração de biomassa para uma quantidade crescente.

De acordo com a tabela 2, pode-se resumir que a equação de Langmuir se adapta completamente à linhagem selvagem de *Candida albicans* tanto para a biomassa viva quanto para a autoclavada. Estes dados sugerem que para esta linhagem, o mecanismo de biosorção é o mesmo para os diferentes valores de pH.

## 5.7- Teste cinético realizado com a linhagem selvagem de *Candida albicans* não autoclavada e autoclavada em diferentes valores de pH

Foi efetuado o estudo dos mecanismos adsortivos, através de um teste cinético em valores diferentes de pH, durante 96 horas tanto para a biomassa viva quanto para a biomassa autoclavada (figuras 18 e 19).

Pode-se observar que no período inicial de contato as amostras autoclavadas removeram o corante do meio aquoso com maior intensidade.

O teste com o pH 2,50 (figura 20),demonstrou que após 2 horas de contato (120 minutos) a biomassa autoclavada promoveu uma maior remoção do corante do que a não autoclavada, mantendo constante até o final do experimento. Enquanto que a não autoclavada após 24 horas (1440 minutos) apresentou uma remoção razoável e com o decorrer do tempo continuou efetuando a remoção do corante.

Com os valores de pH 4,50 e 6,50 (figuras 21 e 22) observa-se que as leveduras autoclavadas também promovem uma maior remoção do corante frente as não autoclavadas, mas numa menor proporção do que no pH 2,50. Uma explicação para isto, provavelmente, deve-se ao fato de que as células vivas a partir de um dado momento em que a fonte de carbono se extingue as células venham a ativar os seus mecanismos enzimáticos no sentido de se adaptar e então, aproveitar outras fontes de carbono eventualmente presentes.

De um modo geral em cada situação experimental discutida no presente trabalho se demonstra a habilidade das leveduras de *Candida albicans* para remover substâncias coloridas que são normalmente encontradas em efluentes industriais.

## 5.8- Teste de biodegradabilidade do corante Direct Violet 51 em diferentes valores de pH

Os espectros UV-VIS oferecem algumas informações a respeito da estrutura do corante. Apesar do Direct Violet 51 ser um corante considerado “pH estável”, como indica a figura 2, e retas padrões bastante homogêneas (figuras 3,4 e 5), do ponto de vista estrutural podemos verificar que a somatória dos sítios cromóforos mostram um pico máximo de absorbância em 550nm, porém quando se observa a região próxima ao UV pode-se verificar que ocorre um pico em 347nm que é típico das ligações azo, segundo SILVERSTEIN et al 1987, em 286nm é a região característica da parte naftol da estrutura e em 262nm a parte do toluil.

Ao se analisar o corante em diferentes tempos de contato com a levedura verifica-se que no pH 2,50 (Figura 23) a região de 347nm

praticamente desaparece a partir de 48 horas de contato, sendo que ela permanece nos valores de pH 4,50 e 6,50 (figuras 24 e 25).

## 5.9-Estudo da biosorção e biodegradação do corante direto Direct Violet 51 pelo FT-IR em diferentes valores de pH

Os espectros em FT-IR, de um modo geral, mostram a estrutura do corante com um número maior de detalhes, como pode-se notar adiante. Isto é, o grupo naftol possui bandas características entre 760 e 900cm$^{-1}$ segundo SILVERSTEIN et al 1987. A ramificação benzeno sulfonado apresenta bandas nas regiões entre 1140 e 1160cm$^{-1}$ de acordo com DYER 1969. As ramificações do corante contendo aminobenzenos as bandas ocorrem entre 1280 e 1350cm$^{-1}$ característico das aminas secundárias. As ligações azóicas têm bandas entre 1429 e 1576 cm$^{-1}$ e ramificações fenólicas bandas em 3333cm$^{-1}$.

Após 72 horas de contato, o corante existente no sobrenadante no pH 2,50 apresentou uma nova banda na região de 3250cm$^{-1}$ (figura 26). O mesmo verificou-se no pH 4,50 somente após 240 horas de contato enquanto que no pH 6,50 tal fato foi verificado apenas após 280 horas de contato (figuras 27 e 28).

Quando analisou-se os efeitos do corante sobre a parede celular nos diferentes valores de pH verificou-se que a ação da enzima tipo azoredutase aumenta com a diminuição do pH (BOYLE et al 1992), e isto foi comprovado no decorrer deste experimento, pois o tempo de contato no pH 2,50 (figura 29) indica que as modificações ocorreram em 72 horas , já no pH 4,50 (figura 30) só ocorrem próximo a 240 horas, e pode-se verificar somente uma pequena alteração. No pH 6,50 (figura 31), só após 280 horas de contato verificou-se as modificações, que foram ainda menores. O que se percebe é apenas o aumento da absorbância na parede em um processo biosortivo. Verifica-se também que ocorre o aparecimento de uma banda na região de 2900cm$^{-1}$, indicando a liberação de núcleos aromáticos da estrutura do corante.

A parede celular da levedura tem em sua composição carboidratos como (celulose-glicose), (quitina-N-acetilglicosamina), (manana-manose) com bandas de absorção características em 3400–3500, 1780-1650, 1490, 1150, 900 e 600cm (POUCHERT et al, 1997) têm sua absorbância aumentada com a adsorção do corante que também tem bandas nessas regiões.

Pode-se verificar que após 72 horas na região dentre 3300 e 3400cm$^{-1}$ também ocorrem o surgimento da banda em 3250cm$^{-1}$ e mantém-se outra próximo à 3400cm$^{-1}$ no pH 2,50 (figura 32), já nas figuras 33 e 34, estas bandas não são muito definidas e só aparecem após 240 e 280 horas de contato, respectivamente.

Um dos sítios mais vulneráveis na estrutura do corante e prováveis de rompimento (figura 35) são as ligações de nitrogênio nas aminas secundarias, que poderiam passar para aminas primarias e nas ligações azo terciárias que também poderiam passar para primarias em um processo de redução, o que e mais favorável em valores de pH baixos. A alta concentração de hidrogênio facilitaria a ação enzimática e o aparecimento de bandas em 3250cm$^{-1}$ e um

indicativo, segundo SILVERSTEIN 1987, de aminas primarias presentes, as quais também aumentam a absorbância na região entre 1250 e 1340cm$^{-1}$.

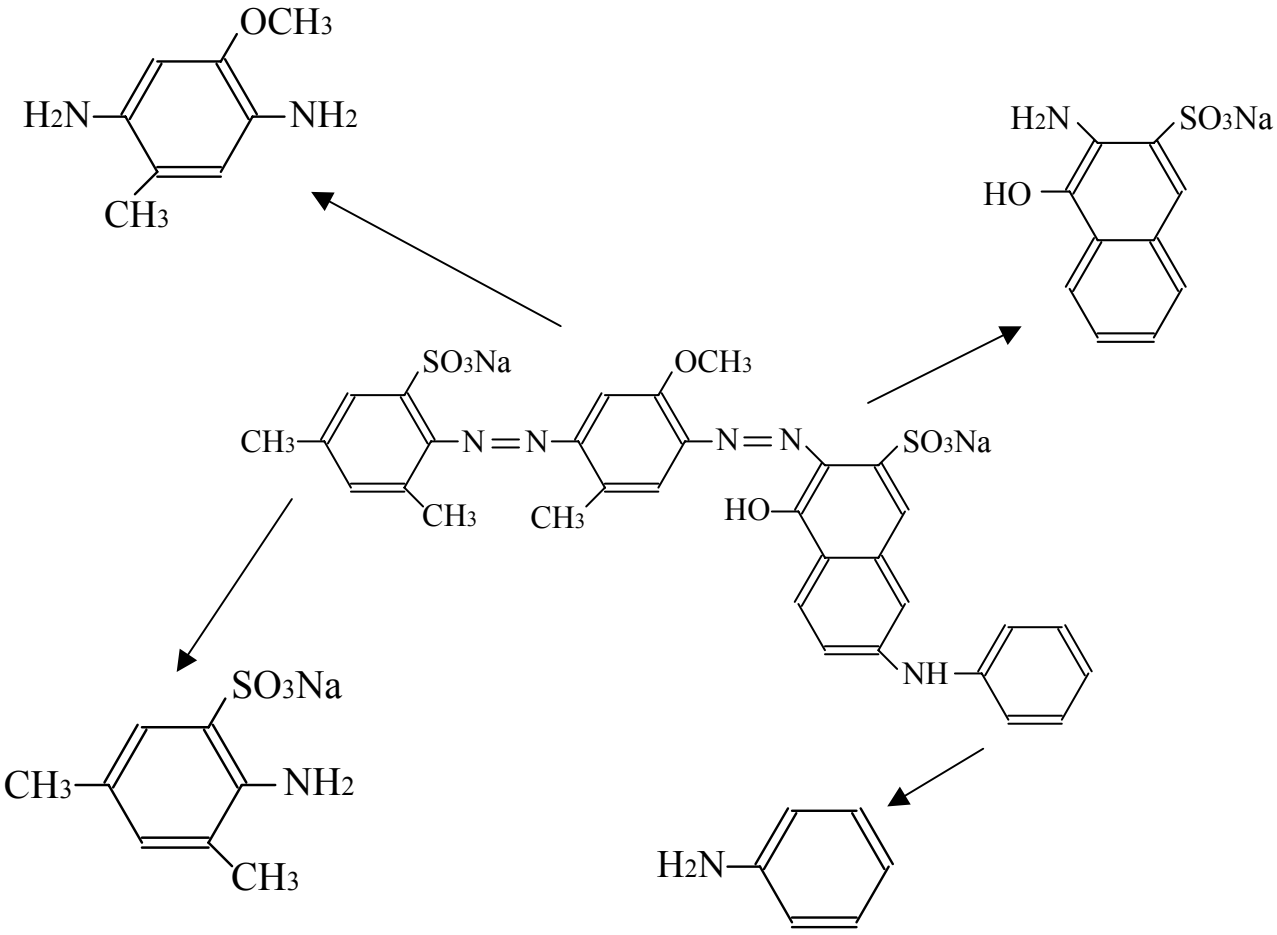



**Figura 35 :** Corante “Direct Violet 51” com as prováveis alterações estruturais após o processo biosorção/biodegradação nos períodos definidos para cada pH.

## 6- CONCLUSÃO

Os resultados experimentais mostram que a levedura *Candida albicans* selvagem isolada de efluente industrial, tanto não autoclavada quanto autoclavada, é capaz de remover o corante direto “Direct Violet 51” de solução aquosa. Dentre as concentrações hidrogeniônicas testadas, o pH 2,50 foi o que apresentou maior poder de remoção do corante no meio em ambos os casos, sendo que no período de equilíbrio estabelecido (120 minutos) a biomassa autoclavada apresentou um melhor poder adsortivo do que a não autoclavada.

A análise da viabilidade celular mostrou que diminui o número de células vivas a medida em que se abaixa o pH.

As isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir foram determinadas e pelos valores analisados o modelo segue a equação de Langmuir, indicando uma interação corante/biomassa em monocamadas.

O teste cinético de remoção do corante pela biomassa após o tempo de equilíbrio mostrou que a biomassa autoclavada remove significativamente o corante nas primeiras horas de contato e depois se estabiliza, contudo a biomassa não autoclavada após 24 horas inicia um processo de remoção gradual que se prolonga nos dias seguintes, indicando uma possível adaptação da levedura à nova fonte de carbono.

O acompanhamento das possíveis alterações na estrutura do corante provocada pela ação enzimática da levedura foi realizado através da análise da espectrofotometria UV-VIS e FT-IR, pelos resultados obtidos se verifica que no pH 2,50 ocorrem modificações na absorbância em UV-VIS já a partir de 48

horas, indicando possíveis alterações nas ligações azo do corante. Nas análises em FT-IR, verificou-se o aparecimento de novas bandas de absorção à 3250 $cm^{-1}$, sendo que tal fato ocorreu após 72 horas de contato no pH 2,50, 240 horas de contato no pH 4,50 e 280 horas de contato no pH 6,50, indicando possíveis aparecimentos de aminas primárias tanto na amostra de corante remanescente em solução como no corante adsorvido pela biomassa.

## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, M. K. "Physicochemical characterization of industrial effluents and their effect on fish survival"., **J. Environmental Sci. Health**, part b, v. B-26, n. 5-6, p.683-696, 1991.

ANDERSON, A. C. "Environmental toxicology biodegradation of xenobiotcs". **Jornal of Environmental Health**, v. 48, n. 4, p. 196-199, 1986.

ANGELIS, D. F., CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E. KIYAN, C. “Hongos en la absorcion de azo-compuestos”. **VIII Congresso Latino-americano de Microbiologia**, Chile, v. 8, p. R-66, 1979.

ANGELIS, D. F., CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E., TERAMOTO, A. ”Corantes tipo azo removidos por meio biológico”. **Anais do II Seminário Regional de Ecologia** v. 2, p. 287-303, 1981.

ANLIKER, R. "Toxic hazard assessment of Chemicals". Ed. M. Richardson, **Royal Soc. Of Chemistry**, London, p. 166-187, 1986.

AOKI, K., OHTSUKA, K., SHINKE, R., NISHIRA, H. "Rapid biodegradation of aniline by *Frateuria* species ANA 18 and its aniline metalism"., **Agric. Biol. Chem.**, v. 48, n. 4, p. 865-872, 1984.

ARVANITOYANNIS, I., ELEFTHERIADIS, I., KAVLENTIS, E. "Treatment of dye containing effluents with different bentonites". **Chemosphere**, Londres, v. 19, n. 10-12, p. 2523-2529, 1987.

ATIKINS, P. W. **Physical Chemistry** Ed. 4 Oxford University Press, p. 541, 1991.

BAJPAI, P., MEHNA, A., BAJPAI, P. K. "Decolorization of Kraft Bleach plant effluent with the white rot fungus *Trametes versicolor*". **Process Biocheistry**, v. 28, p. 377-84, 1993.

BALAN, D.S.L.; MONTEIRO, R.T.R. "Descoloração de indigotina azul por basidiomicetos lignolíticos". **In: Workshop sobre Biodegradação,** Campinas SP, Anais, p.252,1996.

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.

BARBOSA, J. R. "Estudo da interação biosortiva entre os corantes Direct Red 23 e Reative Procion Red HE7B e células de *Saccharomyces cerevisae*"., Rio Claro, UNESP, 93p., **Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada)**, Instituto de Biociências, UNESP, 1995.

BARRET, J. F., PITT, P. A., RYAN, A. J., WRIGHT, S. E. "The demethylation f methyl orange "in vivo" and "in vitro". **Biochemical Pharmacology**, n. 15, p. 675-680, 1966.

BARTZATT, R., NAGEL, D. "Removal of nitrosamines from wastewater by potassium ferrate oxidation". **Archives of Environmental Health**, v. 46, n. 5, p.313-315, 1991.

BISCHOFSBERGER, W., SCHOENBERGER,R. "Phosphate removal in wastewater treatment - its necessity and proesses engineering"., **Gewaesserschutz- Wasser- Abwasser**, n. 100, p. 637-669, 1987.

BLAISE, C., COSTAN, G., "The acute lethal toxicity of industrial effluents in Quebec to raimbow trout"., **Water polut. Res. J. Can.**, v. 22, n. 3, p. 385-402, 1987.

BORZANI, W., VAIRO, M. L. R. “Quantitative adsorption of Methilene Blue by dead yeast cells”. **Journal of Bacteriology**, v. 76, n. 3, p. 2551-255, 1958.

BOYLE, C. D.; KROPP, B. R.; REID, I.D. “Solubilization and Mineralization of Lignin by White Rot Fungi” **Applied and Environmental Microbiology.** New York v. 58, n. 10, p. 3217-3224, 1992.

BROWN, D., "Effects of colorantsin the aquatic environment". **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 13, p. 139-147, 1987.

BROWN, D., HAMBURGER, B. “The degradation of dyestuffus: part III-investigations of their ultimate degradability”. **Chemosphere**, Londres, v. 16, n. 7, p. 1539-1553, 1987.

BURSOVA, S. N. E. "Treatment of colored wastewater by coagulation and ozonization". **Vodosnabzh. Sanlt. Teh.** n.7, p. 21-23, 1991.

CACCIARI, E., "Treatment of textile industry wastewater". **Technol. Chlm.**, v. 8, n. 10, p. 150-159, 1998.

CASE, R. A. M., HOSKER, M. E., McDONALD, D. B., PEARSON, J. T. "Tumours of th urinary bladdern workmen engaged in the manufacture and use os certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. Part. I. The role of aniline, benzidine, alpha-naphthylamine and beta-naphthylamine". **British Journal Industrial Medicine**, n. 11, p. 75-96,1954.

CASTELAN, G. W. **“Physical Chemestry”** Ed. 1 Addison-Wesley Publishing Company London p. 717, 1964.

CASTELLEN, M. S. "Estudo da toxicidade na interação entre turfa irradiada e não irradiada por ultra-som e corantes azóicos em solução aquosa". Rio Claro, UNESP, 43p, 1996. **Monografia** (Requisito para graduação de bacharel em Ecologia), orientador: Corso, C. R., Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, "Júlio de Mesquita Filho", UNESP, 1996.

CERON, P., CORSO, C. R., PEDRO, J. R. "Utilização da Pedra Preta na remoção do corante Direct Red em solução aquosa". **III Cngresso de Iniciação Científica da UNESP**, v. III, p. 117, 1991.

CERON, P., CORSO, C. R. "Interação entre corantes azóicos e *saccharomyces cerevisae* irradiado por ultra-som". **III Simpósio de Pós Graduação e Pesquisa em Ciências Biológicas**, Atibaia, SP, v. 3, p. 177, 1993.

CERON, P., CORSO, C. R., DOMINGOS, R. N. "Interação entre o corante azóico ICI Acid Yellow 23 e *Saccharomyces cerevisae* irradiado por ultra-som". **XVIII Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Santos, SP, v. 18, p. 198, 1995.

CERON, P. "Biosorção de corantes azóicos por leveduras irradiadas por ultra-som". Rio Claro, UNESP, 64p., **Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada)**, Instituto de Biociências, UNESP, 1996.

CHUNG, K., "The significance of azo-reduction in mutagenesis and carcinigenesis azo dyes". **Mutat. Res.**, v. 114, p. 269-281, 1983.

COIA-AHLMAN, S., GROFF, K. A., "Textile wastes". **Research Journal of the Water Polluition Control Federation**,Alexandria, v. 62, n. 4, p. 473-478, 1990.

COLLIER, S. W., STORM, J. E., BRONAUGH, R.L., "Reduction of azo dyes during in vitro percutaneos absorption". **Toxicology and Applied Pharmacoogy**, n. 118, p.73-79, 1993.

CONCHON, J. A. "Indústria têxtil e meio ambiente". **Química Têxtil**, Barueri, ano 18, n. 40, p. 13-16, 1995.

CONDE-SALAZAR, L., GUIMERAENS, D., ROMERO, I., HARTO, A. "Dermitis de contato or colorantes azóicos". **Medicina e Seguridad del Trabajo**, v. 31, n. 124, . 29-33, 1984.

CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E., ANGELIS, D. F., KIYAN, C., TERAMOTO, A., VALVASSORI, A. L. “Interação entre azo corantes e *Rhodotorula muscilaginosa*”. **XI Congresso Brasileiro de Microbiologia** v. 9, p. 26, 1981a.

CORSO, C. R.; ANGELIS, D. F.; OLIVEIRA J. E..; KIYAN, C. "Interaction between the diazo dye, Vermelho Reanil P&B, and *Neurospora crassa* Strain 74A ". **Applied Microbiology and Biotechnology,** v.13, p.64-66, 1981b.

CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E., ANGELIS, D. F., KIYAN, C., ZANÃO FILHO, S. "Interation between fiber reactive azo dyes and *Saccharomyces cerevisae* washed cells". **IX Congresso Latino Americano de Microbiologia**, v. 9, p. 301, 1983.

CORSO, C. R., CERON, P., FERRARI, R. "Aplicabilidade das Equações de Freundlich e Langmuir no equilíbrio adsortivo entre o corante reativo Procion Blue MXG e carvão de osso (Pedra Preta)". **16ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química**, v. 16, p. AB30, 1993.

CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E. "Investigation on the adsorption equilibra of reactive azo dye Procion Red H3B from aqueous solutions on *Saccharomyces cerevisae* cells". **1º Congresso Latinoamericano de Biotecnologia** Tucuman-Argentina v.1, p.L11, 1987.

CORSO, C.R.; MARCANTI, I.; YAMAOKA, E.M.T. "Applicability of the Equations of Freundlich and Langmuir to the Adsorption of the Azo Dye Procion Scarlet on Paramorphic Colonies of *Neurospora crassa*". **Brazilian J. Med. Bio. Res.,** v.20, p.623-626, 1987a.

CORSO, C. R., MARCANTI, I., YAMAOKA, E. M. T. "Investigação sobre o equilíbrio de adsorção do ICI corante reativo Pocion Blue MXG em solução aquosa com colônias paramórficas de *Neurosora crassa* linhagem 74A". **2nd International Environmental Chemisty Congress in Brazil**, v. 2, p. 111, 1987b.

CORSO, C. R., MARCANTI, I., YAMAOKA, E. M. T. "Aplicação de variedade paramorfogênica de *Aspergillus oryzae* na remoção de corante reativo e solução aquosa". **FENABIO 88**, v. 1, p. 96, 1988.

CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E., BARBOSA, J. R., TERAMOTO DE CAMARGO, A., MARCANTI, I., CERON, P. "Studies on colour removal from industrial effluent by *Saccharomyces cerevisae* cells". **3rd International Environmental Chemistry Congress in Brazil**, Salvador, Bahia, v. 3, p. 57, 1991.

CORSO, C. R., DOMINGOS, R. N., EPIPHÂNIO, R., TREVISOLI, C. "Estudo da interação adsortiva entre carvão de osso e o corante Direct Violet 51 em

solução aquosa". **XXV Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados** v. 25, p. PII-32, 1997.

CORSO, C. R. “Aplicabilidade das equações de Freundlich e Langmuir e o estudo da toxicidade na interação biosortiva entre *Aspergillus oryzae* paramorfogênico e corantes azóicos em solução aquosa”. Rio Claro; UNESP, 1998. 115p. **Tese (Livre Docência em Biofísica)**, Universidade Estadual Paulista, 1998.

COSTA, A. C. A., LEITE, S. G. F. “Cadmium and zinc biosorption by *Chlorella homosphaera*”. **Biotecnology Letters,** v. 12, n. 12, p. 941-944, 1990.

CRIPPS, C.; BUMPUS, J. A. and AUST, S. D. "Biodegradation of Azo Dyes by *Phanerochaete chrysosporium*". **Applied and Environmetal Microbiology,** v.56, nº4, p.1114-1118, 1990.

CRISTOV, L.P.; DRIESSEL, B.V. and PLESSIS, C.A. du. "Fungal biomass from *Rhizomucor pusillus* as adsorbent of chromophores from a bleach plant effluent". **Process Biochemisy,** v.35, p.91-95, 1999.

DEL NUNZIO, M. J. "Produtos e processos compatíveis com o tratamento biológico de efluentes". **Revista Têxtil**, n. 1, p. 178-196, 1989.

DOHÁNYOS, M., MADEIRA, V., SEDLACEK, M. “Removal of organic dyes by activated sludge”.**Progress in Water Technology**, Oxford, v. 10, n. 5-6, p. 559-575, 1978.

DYER, J. R. **“Aplicações da Espectroscopia de Absorção aos Compostos Orgânicos”** Ed 2 Editora Edgard Blucher Ltda São Paulo p. 155, 1969.

EL-GEUNDI, M. S. "Color removal from textile effluents by adsorption techniques". **Water Research**, v. 25, n. 3, p. 271-273, 1991.

FAHL, P. “Estudo da interação biosortiva entre *Aspergillus oryzae* CCT 5321 paramorfogênico e os corantes Acid Yellow 25, Direct Blue 86 e Solução Binária Verde em meio aquoso”. Rio Claro, UNESP, 2002, 105p., **Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada)**, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2002.

FERRARI, R. CORSO, C. R., PEDRO, J. R., BARBOSA, J. R. "Remoção de corantes de efluentes industriais usando sub-produtos de baixo custo". **IV Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, v. IV, p. 48, 1992.

FUKUCHI, K., HAMAOKA, H., ARAI, Y. "Adsoption equilibria of organics solutes from dilute aqueous solutions on activated carbon". **Memoirs of the Faculty of Enginnering**, Kyushu University, v. 40, n. 1, p. 107-118, mar. 1980.

FUKUI, S., YOSHIMURA, Y., OGAWA, S. "Formation of non volatile potent mutagens in domestic sewage by chlorination". **CHEMOSPHERE**, v. 21, p. 705-716, 1990.

GIORDANO, J. “Corantes diretos e diretos tratados”, apostila integrante da disciplina de Química Têxtil Aplicada, **Faculdade de Tecnologia Têxtil de Americana (FATEC)**, p.1-27, s.d.

GOLDEN QUÍMICA DO BRASIL LTDA. **Curso de tingimento têxtil** : módulo 1, Guarulhos, Apostila, 2001a.

GREGORY, P. "Azo dyes: struture carcinogenicity relantionships". **Dyes and Pigments.** N. 7, 45-56, 1986.

GOURDON, R., BHENDE, S., RUS, E., SOFER, S. S. “Comparison of cadmium biosorption by gram positive and gram negative bacteria from actvated sludge”.**Biotechnology Letters**, v. 12, n. 11, p. 839-842, 1990.

HAGLER, A. N.; MENDONÇA-HAGLER, L. C. “Yeasts from marine and estuarine waters with different levels os poluition in the state of Rio de Janeiro, Brazil”. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 173-178, jan, 1981.

HOLME, I., "Ecological aspects of colour chemistry'. **Critical Reports on Applied Chemistry**, v. 7, p. 111-128, 1984.

HUNGER, K., JUNG, R. "Toxicology and ecology of organic colorants". **Chimia**, v. 45, n. 10, p. 297-300, 1991.

IDAKA, E., OGAWA, T., YATOME, C., HORITSU, H. "Behavior of activated sludge with dyes". **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 35, p. 729-734, 1985.

ITOH, K.; YATOME, C. and OGAWA, T. "Biodegradation of Anthraquinone Dyes by *Bacillus subtilis*". **Environmental Contamination and Toxicology,** v.50, p.522-527, 1993.

JESUS. G. J. "Estudo da interação biosortiva entre corantes azóicos e *Neurospora crassa* 74 A paramorfogênico". 103p. **Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada)**, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.

JESUS, G. J., FRANCHETTI, S. M. M., CORSO, C. R. "Estudo da Biodegradação de Compostos Azóicos de Efluentes da Indústria Têxtil". **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 69 (supl.), p.149-152, 2002.

KANEKO, S. "Adsorption of several dyes from aqueous solutions on silica containing complex-oxide gels". **Separaton Science and Toxicology**, v. 17, n. 13-14, p. 1499-1510, 1982/3.

KIRBY, N.; MULLAN, G. M. and MARCHANT, R. "Decolourisation of an Artificial Textile Efluet by *Phanerochaete chrysosporium*". **Biotechnology Letters,** v.17, nº7 p.761-764, 1995.

KRIJGSHELD, K. R., GEN, A. V. “Assessment of the impact of the emission of certain organochorine compounds on the aquatic environment”. **CHEMOSPHERE**, v. 15, n. 7, p. 825-860, 1986.

KRUG, D.; ZIEGLER,H.; STRAUBE,G. "Degradation of phenolic compounds by the yeast *Candida tropicalis* HP15". **J. Basic Microbiol,** v.25, nº2, p.103-110, 1985.

KRUG, D.; STRAUBE, G. “Degradation of phenolic compounds by the yeast *Candida tropicalis* HP15”. **J. Basic Microbiol**, v.26, n.5, p.271-281, 1986.

KUDLICH, M., KECK, A., KLEIN, J., STOLZ, A. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 63, p. 3691, 1997.

KUNDU, R.,PRASAD V. V. S., MANSURI, A. P. "Toxicity o diluted dyeing and printing industry effluent t a penaied prawn, *Parapenaopsis soulptilis* (Heler)". **Acta Hydochimica and Hydrobiol.** v. 17, n.1, p. 87-93, 1989.

LOODER, J. "The yeast: a Taxonomic study". **North Holland Publish Company**, Amsterdan, London, 1970.

LUEF, E., PREY, T., KUBICEK, C. P. “Biosorption of zinc by fungal mycelial wastes”. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 34, p. 688-692, 1991.

MAJUMDAR, S. B., SPROUL, O. J. "Technical and economic aspects of water and waste water ozonation: a critical review". **Water research**, n. 8, p. 253-560, 1974.

MANSON, R. P., PETERSON, F. J., HOLTZMAN, J. L., "The formation of na azo anion free radical metabilite during the microsomal azo reduction of sulfonazo III". **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 74, p. 532-540, 1977

MARCANTI, I. "Aplicabilidade das isotermas de Freundlich e Langmuir na interação adsortiva entre *Aspergillus niger* IZ9 paramorfogênico e corantes azóicos básicos, ácidos, diretos e reativos: influência do pH e temperatura". Rio Claro UNESP, 1988, p. 98, **Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal)**, Instituto de Biociências, UNESP, 1988.

MARCANTI-CONTATO, I., CORSO, C. R. "Remoção de corantes têxteis de meio líquido por *Aspergillus niger*". **III Simpósio de Pós Graduação e Pesquisa em Ciências Biológicas**, Atibaia, SP, v. 3, p. 175, 1993.

MARCANTI-CONTATO, I. “Emprego de *Aspergillus niger* Paramorfogênico Para a Avaliação do Grau de Interferência dos Aditivos Químicos na Biosorção de Corantes Têxteis de Efluentes Industriais”. Rio Claro UNESP, 1995, 173p **Tese (Doutorado em Biologia Vegetal),** Universidade Estadual Paulista, 1995a.

MARCANTI-CONTATO, I., CORSO, C. R. "Remoção de corantes têxteis de efluente industrial por biomassa fúngica". **XVIII Congresso Brasileiro de Microbiologia**,Santos, SP, v. 18, p. 222, 1995b.

MARCANTI-CONTATO, I., CORSO, C. R. "Studies of adsorptive interation between *Aspergillus niger* and the reactive azo dye Procion Blue MXG". **Eclética Química**, v. 21, p. 97-102, 1996.

MARCANTI-CONTATO, I., CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E. "Induction of physical paramorfogênesis in *Aspergilus sp*". **Revista de Microbiologia**, v. 28, p. 65-67, 1997.

MARTIN, R. J., IWUGO, K. O. "The effects of pH and suspended solids in the removal of organics from waters and wastewater by the activated carbon adsorption process. **Water Research**, v. 16, p. 73-83, 1982.

MCKAY, G., OTTERBUN, M. S., SWEENEY, A. G. "The removal of colour from effluent using various adsorbents: some preliminary economic considerations". **Journal of Society Dyes Colourists**, v. 94, n. 4, p. 47-268, 1978.

MCKAY, G., GEUNDI, M. E., NASSAR, M. M. "Equilibrium studies during the removal of dyestuffs from aquous solutions using bagasse pith". **Water Research**, Exeter, v. 21, n. 12, p. 1513-1520, 1987.

MOKRZYCKA, B., PRZYBINSKI, J. "Determination of the suitability of some polish active carbons for adsorption of selected dyes". **Tech. Wlok.**, n. 6, p. 158-163, 1991.

MOORE, W. J. **"FÍSICO QUÍMICA"** Ed. 2 Ao Livro Técnico S.A Rio de Janeiro p. 1001, 1968.

MOREIRA, R. F. P. M., SOARES, J. L., JOSE, H. J., RODRIGUES, A. E. "The Removal of Reative Dyes Usin High-Ash Char". **Braz. J. Chem. Eng.** v. 18, n. 3, São Paulo, 2001.

NAGARA, T. N., DESIRAJU, T. "Effects of chronic consumption of Metanil Yellow by developing and adults rats brain levels of noradrenaline dopamine and serotoin, on acetylcline esterase activity and operant conditioning". **Fd. Chem. Toxic.** v. 31, n. 1, p. 41-44, 1993.

NASSAR, M. M., El-GEUNDI, M. S. "Comparative cost of colour removal from textile effluents using natural adsorbents". **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Oxford, v. 50, n. 2, p. 257-264, 1991.

NAWAR, S. S., DOMA, H. S. "Removal of dyes from effluents using low-cost agricultural by products". **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 79, p. 271-279, 1989

NEAL, G. E., BUTLER, W.H. "A comparison induced in rat liver by feeding low levels of Aflatoxin $B^1$ or na azo dye". **Br. J. Cancer.** V. 37, p. 55-60, 1978.

NEIHEISEL T. W. "Toxicity reduction at municipal wastewater treatment plants". **Water Pollut. Control Fed.** v. 60, n. 1, p. 57-67, 1988.

NICKLAS, P. "Sources and occurrence of organic micropollutants in wastewater and sewage sludge in Goeteborg, Sweden", **Treat. Use Sewage Sludge Liq. Agric. Wastes** (Proceedings Symp.), p. 405-411, 1991.

NILSSON, R., KVANT, M. "Develment of new chemicalsi order to educe dosage and prevent high sal residues". **Recycl. Chem. Water Wastewater Treat.**, n. 50, p. 323-332 1986.

NILSSON, R., NORDLNDER, R., BIRGITTA, M., BELLIN, L. "Asthma, rhinitis, and dermatitis in workers exposed to reactive dyes". **British Journal of Industrial Medicine**, n. 50, p. 65-70, 1993.

NIU, H., XU, X.S., WANG, J. H., VOLESKY, B. “Removal of Lead from aqueous solutions by *Penicillium* biomass”. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 42, p. 785-787, 1993.

NOTHENBERG, M. “A Invasão Asiática Força Exportação Brasileira”. **Química e Derivados**, v. 317, p. 22-27, 1994.

OLIVEIRA, J. E., CORSO, C. R., ANGELIS, D. F., KIYAN, C. "The applicability of the equations of Freundlich and Langmuir to the adsorption equilibra of the acid azo dye Amaranth on *Saccharomyces boulardii* cells, in aqueous solutions"., **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 15, n. 1, p. 91, 1982.

OLIVEIRA, J. E., ANGELIS, D. F., CORSO, C. R., RIYAN, C. "Investigation on the adsorption equilibra of the acid azo dye Amaranth (C.I. 16.185) from aqueous solutions on *Saccharomyces uvarum* IZ 1904 cells". **Naturalia**, v. 8, p. 211-217, 1983.

OLIVEIRA, J. E., CORSO, C. R., RODRIGUES, G. S. "A mobilidade eletroforética de células de *Candida brumptii*". **8º Encontro Regional de Química**, Araraquara, v. 8, p. 46, 1989a.

OLIVEIRA, J. E., CORSO, C. R., RODRIGUES, G. S. "Compeitive adsorption of two reactive azo dye onto *Candida brumptii* cells"., **8º Encontro de Química**, Araraquara, v. 8, p. 67, 1989b.

PAGGA, U., BROWN, D. “The degradation of dyestuffs: part II- Behaviour of dyestuffs aerobc biodegradation tests”.**Chemosphere**, Londres, v. 15, n. 4, p. 479-491, 1986.

PERINEAU, F., QUIERZY, M. T., GASET, A. "Adsorption de surfactants ioniques et non ioniques sur laine carbonissé". **Bulletin Scientific ITF**, v. 11, n.42, p. 1-8, 1982.

POOTS, V. J. P., MCKAY, G., HEALY, J. J. "The removal of acid dye from effluent using natural adsorbents". **Water Research**, Oxford, v. 10, p. 1061-1066, 1976.

PORTER, J. J., SNIDER, E. H. "Long-term biodegradability of textile chemicals". **Journal WPCF**, v. 48, n. 9, p. 2198-210, 1976.

POUCHERT, C.; BEHNKE, J.; SWESSEL, D.; MUCCIO, J.; LEIN, C.; **The Aldrich Library of FT-IR Spectra** Ed. 2, Library of Congress Catalog Card Number 97-073684 ISBN 0-941633-39-X v. 1, p. 1623, 1997.

RODRIGUES, T. A. “Estudo da Interação Biosortiva entre o Corante Reativo Procion Blue MXG e as Linhagens CCB 004, CCB 010 e CCB 650 de *Pleorotus ostreatus* Paramorfogênico”. UNESP 102p. **Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)**, Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.

SAVOY, N. M. M., Ação da difenilamina na obtenção de lipídeos em *Candida utilis, Candida solani* e *Torula utilis.* UNESP 125p. **Dissertação (Mestrado em Ciênicas Biológicas)**, Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1981.

SHAUL, G.M.; DEMPSEY, C.R.; DOSTAL, K.A. "Removal of Azo Dyes by the Actived Sludge Process". **Industial Wastes and Toxics Technology Division,** 40th Annual Purdue Industrial Waste Conference Purdue University, Indiana, p.1-17, 1985.

SHAUL, G. M.; LIEBERMAN, R. J.; DEMPSE, C. R. and DOSTAL, K. A. "Fate of Azo Dyes in the Active Sludge Process". **Industrial Wastes and Roxics Technology Division** and **Department of Civil & Environmental Engineering,** 41st Annual Purdue Industrial Waste Conference Purdue University, Indiana, p.1-19, 1986.

SHAUL, G. M. "Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process". **Chemosphere**, v. 22, n. 1-2, . 107-119, 1991.

SHARF, J. M. **"Métodos Recomendados para o Exame de Alimentos"** Ed. Polígono, São Paulo p.257, 1978.
SILVA, H. S. "Princípios de tratamento de efluentes líquidos"., **Química Têxtil.**, Barueri, ano 18, n. 39, p. 56-65, 1995.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **"Spectrometric Identification of Organic Compounds"** Ed. 3 Editora Guanabara S. A. Rio de Janeiro p. 299, 1987.

SPADARO, J. T., GOLD, M. J. L., RENGANATHAN, V. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 58, p. 2397, 1992.

STRAUB, R. F., VOYSKNER, R.D., KEEVER, J. T., "Determination of amine originating from azo dyes by hydrogen-palladim reduction combined whith gas chromatography mass spectrometry". **Anal. Chem**, n. 65, p. 2131-2136, 1993.

TATUM, E. L., BARRAT, R. W., CUTTER JR, V. M. "Chemical induction of colonial paramorphs in *Neurospora crassa* and *Syncephalastrum*". **Science**, v. 109, n. 20, p. 509-511, 1949.

TERAMOTO DE CAMARGO, A., CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E., ANGELIS, D. F., KIYAN, C. "Interação entre compostos azóicos e *Rhodtorula rubra* e *Torulopsis candida*"., **IX Congresso Latino Americano de Microbiologia**, v. 9, p. 302, 1983.

TERAMOTO DE CAMARGO, A., CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E., ANGELIS, D. F., KIYAN, C. "Interação entre compostos azóicos e *Rhodotorula rubra* e *Torulopsis candida*". **Ciência e Cultura** v. 36, n. 7, p. 646, 1984.

TERAMOTO DE CAMARGO, A. "Remoção dos corantes azóicos Amaranto CI 16.185 (Vermelho Ácido 27) e Crisoidina CI 11.270 (Laranja Básico 2) em soluções aquosas por leveduras do gênero *Candida*". Rio claro UNESP 1987, 122p. **Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal)**, Instituto de Biociências UNESP, 1987.

TERAMOTO DE CAMARGO, A. "Estudo de otimização do processo de biosorção de corantes azóicos reativos por leveduras do gênero *Candida*" Rio

claro, UNESP, 1996, 173p. **Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)**, Universidade Estadual Paulista, 1996.

THANH, N.C.; SIMARD, R.E. "Biological treatment of wastewater by yeasts". **Journal Wate Polluition Control Federation,** v.25, nº4, p.674-680,1973.
TICE, R. R. "The cytogenetic evaluation of in vivo genotoxic and citotoxic activity using rodent smai cels". **Cell Biol. Toxicol.**, v. 4, n. 4, . 475-486, 1988.

TONOGAI, Y., ITO, Y., IWAIDA, M., TATI, M., OCE, Y., HOI, M. "Studies on the toxicity of coal-tar dyes III. Reso of acute toxicity to fish caused by coal-tar dyes and their industrial effluents". **Journal of Toxicological Sciences**, n. 5, p.23-33, 1980.

USSMAN, M. "A tecnologia da matéria viva nos têxteis". **Química Têxtil**, Barueri, ano 24, n. 62, p. 32-41, 2001.

ULLMANN´s Encyclopedia of Industrial Chemistry. Ed. Barbara Elvers, Stephen Hawkins, Michael Ravenscroft, Gail Schulz, ed. 5, Federal Republic of Germany, VCH, Cap. 39, in **"Intermediates, dyes and apllicatons"**, 4p, 1989.

VILASECA VALLE, M. M. "The microbial population in activated sludge in a textile wastewater treatment plant". **Bol. INTEXTAR**, Inst. Invest. Text. Coop. Ind. N. 94, p. 73-83, 1988.

WAHLE, B. "New enviroment- friendly surfactantes for textile processing". **Textilveredlung**, v. 25, n. 6, p. 199-205, 1990.

WALER, G.M.; WEATHERLEY, L.R. "Biodegradation and biosorption of acid anthraquinone dye". **Environmental Pollution,** v.108, p.219-223, 1999

WARING, D. R.; HALLAS, G. **"The Chemistry and Application of Dyes"** Ed. 2 Plenum Publishing Corporation New York p. 413, 1994.

ZHANG, W. "Treatment of textile dyeing wastewater wit poly-ferric sulfate and coagulant". **Shanghal Huanjing Kexue**, v. 10, n. 5, p. 9-13, 1991.

ZHU, T., "Application of poly-ferricsulfate to treatment of wastewater from the bleaching dyeing industry". **Huaxue Shijie**, v. 32, n. 8, p. 355-57, 1991.

ZHOU, W.; ZIMMERMANN, W. "Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinoycetes". **Federation of European Microbiological Microbiological Societes,** v.107, p.157-162,1993.

ZIMMERMANN, T., KULA, H. G., LEISINGER, T. "Properties of purified Orange II Azoreductase, the enzime initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF 46". **Eur. J. Biochem.** V. 129, n. 1, p. 197-203, 1982.

ZOLLINGER, H. "**Color chemistry**, **Synthesis, Properties and Aplications of Orgnics Dyes and Pigments"**. Weinheim, New York, VCH p. 367, 1987.

ZOLLINGER, H., "40 years of dye chemistry past experience and future prospects". **Melliand Textilber**, v.69, n. 9, p. E325-E328, 644-649, 1988.