
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LUANA GALVÃO MORÃO

**ESTUDO DE BIOSSORÇÃO E TESTE DE
IMOBILIZAÇÃO USANDO *Luffa cylindrica*
COMO ADSORVENTE E *Saccharomyces
cerevisiae* COMO AGENTE IMOBILIZADO
VISANDO ANALISAR A CAPACIDADE DE
REMOÇÃO DE CORANTES AZÓICOS EM
SOLUÇÃO.**

LUANA GALVÃO MORÃO

**ESTUDO DE BIOSSORÇÃO E TESTE DE IMOBILIZAÇÃO USANDO
Luffa cylindrica COMO ADSORVENTE E *Saccharomyces cerevisiae*
COMO AGENTE IMOBILIZADO VISANDO ANALISAR A
CAPACIDADE DE REMOÇÃO DE CORANTES AZÓICOS EM
SOLUÇÃO.**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Renato Corso

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Biociências da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” -
Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de
Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas.

Rio Claro
2011

620.1122 Morão, Luana Galvão

M829e Estudo de biossorção e teste de imobilização usando *Luffa Cylindrica* como adsorvente e *Saccharomyces Cerevisiae* como agente imobilizado visando analisar a capacidade de remoção de corantes azóicos em solução / Luana Galvão Morão. - Rio Claro : [s.n.], 2011
75.f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

Trabalho de conclusão de curso (licenciatura e bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro

Orientador: Carlos Renato Corso

1. Biodegradação. 2. Qualidade ambiental. 3. Biorremediação. I. Título.

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

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, primeiramente, a Deus, a minha família que sempre me apoiou e esteve ao meu lado em quaisquer momentos, aos meus professores de graduação, em especial, Prof. Dr. Flávio Henrique Caetano (professor e tutor do Pet Biologia) e Prof. Dr. Carlos Renato Corso (professor e orientador), e a todos os meus amigos que estiveram comigo e me deram muita força.

AGRADECIMENTOS

Ao professor, orientador e amigo Carlos Renato Corso pelo incentivo e apoio durante todo o processo de iniciação científica, com os diálogos e reflexões, estudos e pesquisas que me ajudaram a desenvolver e concluir meu trabalho, aos conhecimentos, experiências e realizações pessoais e profissionais.

Ao técnico do Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Roberto José Pedro que sempre me ajudava com os equipamentos, materiais e montagem de experimentos.

Aos amigos de laboratório Guilherme da Silva Lopes Fabris, Renato Montagnolli, Graziely Cristina dos Santos e Eduardo Kovalsky Mitter.

Ao professor e tutor do PET Biologia Flávio Henrique Caetano que sempre esteve muito presente na minha fase de graduação, bem como me apoiou e me ensinou a ser uma aluna responsável e uma grande profissional.

Aos meus pais que sempre estiveram muito presentes em minha vida, torceram e torcem por mim, pelas minhas realizações, sucesso e conquistas. Graças a eles me tornei essa pessoa determinada e madura.

Ao meu irmão e companheiro de casa Kauan que me apoiou nos momentos mais difíceis, provas, trabalhos, projetos, e também festas e passatempos.

Aos meus amigos e amigas, Mônica Mine, Vivian Raile, Raquel Melo e Felipe Niero Costa que sempre serão lembrados de uma forma única e especial.

Agradeço a Deus por ter me feito essa mulher, bióloga e profissional que me tornei, sempre seguindo com determinação, ética e muita força para continuar e lutar pelos próximos desafios e objetivos.

FIGURAS

Figura 1. Diferentes métodos de imobilização celular de microrganismos (KOURKOUTAS et al., 2004 apud COVIZZI et al., 2007).....	16
Figura 2. Conformação de uma esponja (<i>Luffa cylindrica</i>) natural (OGBONNA et al. 1994).....	19
Figura 3. Moinho de bolas (Depto. De Botânica).....	21
Figura 4. Balança analítica.....	21
Figura 5. B.O.D.....	21
Figura 6. Temperatura da B.O.D para os testes de bioissorção.....	21
Figura 7. Shaker utilizado 180 rpm.....	21
Figura 8. Espectrofotômetro.....	21
Figura 9. Centrífuga.....	22
Figura 10. <i>Luffa cylindrica</i> em pó.....	22
Figura 11. <i>Luffa cylindrica</i> em discos homogêneos.....	22
Figura 12. <i>Luffa cylindrica</i> em discos homogêneos após a bioissorção.....	22
Figura 13. Fermento liofilizado.....	22
Figura 14. Levedura liofilizada.....	22
Figura 15. Fórmula estrutural do Direct Red 23.....	23
Figura 16. Fórmula estrutural do Orange Procion H ₂ R.....	24
Figura 17. Preparo da solução de Direct Red 23 – 9 mL de água e 1 mL de corante, pH 2,5.....	30
Figura 18. Teste de bioissorção entre Direct Red 23 e <i>Luffa cylindrica</i> em discos.....	30
Figura 19. Teste de bioissorção entre Direct Red 23 e <i>Luffa cylindrica</i> em pó.....	30
Figura 20. Preparo da suspensão de leveduras liofilizadas 0,5%.....	30
Figura 21. Solução de leveduras livres após o teste de imobilização.....	31
Figura 22. Discos homogêneos após teste de imobilização e bioissorção.....	31

Figura 23. Teste de bio sorção entre Direct Red 23 e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> imobilizadas em <i>Luffa cylindrica</i> em pó.....	31
Figura 24. Teste de bio sorção entre Direct Red 23 e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> imobilizadas em <i>Luffa cylindrica</i> em discos.....	31
Figura 25. Espectro de absorção do corante Direct Red 23, pH 2,50, $\lambda_{\text{máx}}$.507 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	31
Figura 26. Espectro de absorção do corante Direct Red 23, pH 4,50, $\lambda_{\text{máx}}$.507 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	32
Figura 27. Espectro de absorção do corante Direct Red 23, pH 6,50, $\lambda_{\text{máx}}$.507 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	32
Figura 28. Espectro de absorção do corante Orange Procion H ₂ R, pH 2,50, , $\lambda_{\text{máx}}$.487,5 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	33
Figura 29. Espectro de absorção do corante Orange Procion H ₂ R, pH 4,50, $\lambda_{\text{máx}}$.487,5 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	33
Figura 30. Espectro de absorção do corante Orange Procion H ₂ R, pH 6,50, $\lambda_{\text{máx}}$.487,5 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	34
Figura 31. Reta padrão do corante Direct Red 23, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 507 nm= - 0,0286 +(0,0118 * concentração do corante).....	35
Figura 32. Reta padrão do corante Direct Red 23, pH 4,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 507 nm= 0,00731 +(0,011 * concentração do corante).....	35
Figura 33. Reta padrão do corante Direct Red 23, pH 6,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 507 nm= 0,02845 +(0,010 * concentração do corante).....	36
Figura 34. Reta padrão do corante Orange Procion H ₂ R, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 487,5 nm= 1,1263 +(0,000455 * concentração do corante).....	36
Figura 35. Reta padrão do corante Orange Procion H ₂ R, pH 4,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 487,5 nm= 0,01067 +(0,01153 * concentração do corante).....	37

Figura 36. Reta padrão do corante Orange Procion H ₂ R, pH 6,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 487,5 nm= 0,10051 +(0,01542 * concentração do corante).....	37
Figura 37. Espectro padrão do corante Direct Red 23 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5 cm. Absorbância 507nm.....	39
Figura 38. Espectro de absorção do corante Direct Red 23 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5 cm. Absorbância 507nm – discos.....	39
Figura 39. Espectro de absorção do corante Direct Red 23 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5 cm. Absorbância 507nm – pó.....	39
Figura 40. Representação gráfica das pesagens de <i>Luffa cylindrica</i> em discos homogêneos e em pó bem como suas médias aritméticas.....	41
Figura 41. Reta padrão do corante Direct Red 23, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 507 nm= - 0,0286 +(0,0118 * concentração do corante).....	42
Figura 42. Concentração de corante remanescente (após a biossorção -discos) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.....	44
Figura 43. Concentração de corante adsorvido (após a biossorção - discos) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.....	45
Figura 44. Concentração de corante remanescente (após a biossorção - pó) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.....	46
Figura 45. Concentração de corante adsorvido (após a biossorção -pó) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.....	47
Figura 46. Reta padrão para as leveduras, caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 2, 4, 6, 8, 10mg/mL - Absorbância 540 nm= 0,2495 +(0,18115 * concentração do corante).....	49
Figura 47. Reta Padrão do corante Direct Red 23, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL - Absorbância 507 nm= - 0,0286 +(0,0118 * concentração do corante).....	53

Figura 48. Espectro da biossorção entre células de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em <i>Luffa cylindrica</i> e Direct Red 23 – Disco, λ .540 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	54
Figura 49. Concentração de corante remanescente (após imobilização e biossorção - discos) em função da concentração inicial (total) de corante.....	55
Figura 50. Concentração de corante adsorvido (após imobilização e biossorção - discos) em função da concentração inicial (total) de corante.....	56
Figura 51. Espectro da biossorção entre células de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em <i>Luffa cylindrica</i> e Direct Red 23 – Disco, λ .540 nm e caminho óptico de 0,5cm.....	57
Figura 52. Concentração de corante remanescente (após imobilização e biossorção - pó) em função da concentração inicial (total) de corante.....	58
Figura 53. Concentração de corante adsorvido (após imobilização e biossorção - pó) em função da concentração inicial (total) de corante.....	59

TABELAS

Tabela 1. Características ideais desejáveis para a matriz ou suporte selecionado para imobilizar células microbianas (COVIZZI et al., 2007).....	15
Tabela 2. Volume de água e Corante diluídos a fim de manter um padrão gradual para análise espectrofotométrica.....	24
Tabela 3. Concentração do corante remanescente (Direct Red 23) no tubo contendo maior quantidade de <i>Luffa cylindrica</i>	38
Tabela 4. Pesagem da <i>Luffa cylindrica</i> nas conformações discos homogêneos e pó.....	40
Tabela 5. Análise das absorbâncias em 507 nm da reta padrão – pH 2,5.....	42
Tabela 6. Teste de bioissorção para os discos homogêneos.....	43
Tabela 7. Concentração de corante remanescente após o teste de bioissorção, para os discos.....	43
Tabela 8. Concentração de corante adsorvido no teste de bioissorção, para os discos.....	44
Tabela 9. Teste de bioissorção para o pó.....	45
Tabela 10. Concentração de corante remanescente após o teste de bioissorção, para o pó.....	46
Tabela 11. Concentração de corante adsorvido no teste de bioissorção, para o pó.....	47
Tabela 12. Reta padrão para levedura liofilizada – suspensão 0,5%.....	48
Tabela 13. Teste de imobilização com suspensão de levedura liofilizada 0,5% e 0,1 gramas de <i>Luffa cylindrica</i> (disco).....	50
Tabela 14. Teste de imobilização com suspensão de levedura liofilizada 0,5% e 0,1 gramas de <i>Luffa cylindrica</i> (pó).....	50
Tabela 15. Teste de imobilização do corante Direct Red 23 com <i>S. cerevisiae</i> imobilizado em <i>L. cylindrica</i> – Discos homogêneos.....	51
Tabela 16. Teste de imobilização do corante Direct Red 23 com <i>S. cerevisiae</i> imobilizado em <i>L. cylindrica</i> – Pó.....	51
Tabela 17. Análise das absorbâncias em 507 nm da Reta padrão – pH 2,5.....	52

Tabela 18. Teste de bioissorção, após imobilização para os discos homogêneos.....	53
Tabela 19. Concentração de corante remanescente no o teste de bioissorção, após imobilização, para os discos.....	54
Tabela 20. Concentração de corante adsorvido no teste de bioissorção, após imobilização, para os discos.....	55
Tabela 21. Teste de bioissorção para o pó, após imobilização.....	56
Tabela 22. Concentração de corante remanescente no teste de Bioissorção, após imobilização, para o pó.....	57
Tabela 23. Concentração de corante adsorvido no teste de bioissorção, após imobilização, para o pó.....	58

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Objetivos deste trabalho.....	2
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. A água.....	3
2.2. Tratamento de Efluentes Industriais.....	4
2.3. Imobilização de células em <i>Luffa cylindrica</i>	5
2.4. Corantes Azóicos.....	8
2.5. <i>Luffa cylindrica</i>	10
2.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Materiais.....	12
3.2. Métodos.....	15
3.2.1. Solução estoque.....	15
3.2.2. Preparo e características dos corantes.....	15
3.2.3. Teste de estabilidade dos corantes.....	16
3.2.4. Análises quantitativas.....	17
3.2.5. Reta padrão.....	17
3.2.6. Preparo da <i>Luffa cylindrica</i>	17
3.2.7. Pesagem da <i>Luffa cylindrica</i>	18
3.2.8. Teste de bio sorção dos corantes pelo UV-VIS.....	19
3.2.9. Preparo da suspensão de leveduras liofilizadas 0,5% – Dona Benta.....	19
3.2.10. Teste de imobilização da suspensão de leveduras liofilizada 0,5% e <i>Luffa cylindrica</i>	20
3.2.11. Análise espectrofotométrica da imobilização de leveduras liofilizadas.....	20
3.2.12. Teste de bio sorção com o corante Direct Red 23 e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> imobilizada em <i>Luffa cylindrica</i>	21
4. RESULTADOS.....	23
4.1. Teste de estabilidade dos corantes.....	23
4.2. Retas padrão dos dois corantes analisados.....	27
4.3. Teste de maior eficácia da bio sorção do corante Direct Red 23 nos pH's 2,5; 4,5 e 6,5.....	30

4.4. Preparo e pesagem da <i>Luffa cylindrica</i>	32
4.5. Teste de biossorção do corante Direct Red 23 e <i>Luffa cylindrica</i>	33
4.6. Teste de imobilização com suspensão de levedura liofilizada a 0,5% e <i>Luffa cylindrica</i> como suporte imobilizante.....	40
4.7. Teste de imobilização com células de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> imobilizadas em <i>Luffa cylindrica</i>	41
4.8. Teste de biossorção do corante Direct Red 23 utilizando células de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> imobilizadas em <i>Luffa cylindrica</i>	44
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1. INTRODUÇÃO

Existe uma diversidade de agentes químicos disponíveis, atualmente, que estão muito presentes na vida da sociedade, sendo que em muitos casos não se pode mais sobreviver sem a presença destes compostos. No entanto, muitas destas substâncias, depois de utilizadas e lançadas em efluentes, têm causado impactos adversos à saúde dos seres vivos, principalmente ao ser humano e ao meio ambiente.

Na maioria das vezes a maneira de descartar objetos e compostos que restam de tratamentos industriais, domésticos, dentre outros é lançar em efluentes que atingem, imediatamente, os ecossistemas aquáticos, maiores receptores de poluentes já que possuem uma série de mecanismos físicos, químicos e biológicos pelos quais os poluentes podem ser assimilados.

Ao atingir o ambiente aquático, alguns contaminantes, como os corantes têxteis sintéticos, acarretam vários efeitos como a interdição de passagem de radiação solar, prejudicando a biota vegetal aquática e consequentemente os demais organismos da cadeia alimentar, além da mortalidade, modificação reprodutiva, climática, sobrevivência e desenvolvimento dos organismos, provocando perturbação na estrutura do ecossistema, nos estágios sucessionais e podendo causar a diminuição dos processos de fotossíntese e o aumento da demanda bioquímica de oxigênio, provocada pela oxidação biológica desse material.

Conforme crescem as atividades industriais em decorrência de uma economia capitalista, consumista e que visa lucro, na maioria dos casos, a busca por tratamentos rápidos, de baixo custo, de resultado imediato e significativo, tem sido cada vez maior surgindo, assim, o interesse de se controlar a quantidade e qualidade dos resíduos industriais lançados no ambiente. Sabendo de toda preocupação que gera em torno de políticas ecologicamente corretas bem como qualidade ambiental, foram feitos testes que focaram a biorremediação como embasamento principal, sendo que a imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica* foi um processo secundário, não menos importante, também focado, posteriormente, no processo de biorremediação. A técnica de imobilização consiste de diversas maneiras de encapsular ou aprisionar as células em uma região definida de espaço. As células encapsuladas podem aumentar a eficácia em diversos tratamentos relacionados com a biossorção de alguns resíduos industriais. No caso, deste trabalho o que está em evidência da preocupação constante é o lançamento de corantes em efluentes e o tratamento destes através da biorremediação. Tendo em vista que a biorremediação pode ser feita por variados processos, como o processo de biossorção (adesão de moléculas de um fluido a uma superfície sólida

dependentes de temperatura, pH e outras variáveis) ou biodegradação, no presente momento abordamos apenas a bioadsorção, visando os parâmetros e características validadas e observando os melhores resultados.

Os corantes pertencentes aos processos de produção industrial constituem efluentes de lenta degradação que quando lançados no meio aquático acarretam um potencial carcinogênico, mutagênico e bioacumulativos que comprometem, de forma acentuada, tanto o equilíbrio ecológico como a saúde das comunidades afetadas.

Inicialmente foram realizados testes com dois corantes para análise de dados e coleta de melhores resultados. Posteriormente foram feitos testes de bioadsorção utilizando *Luffa cylindrica* como adsorvente. Já com os testes mais avançados, partiu-se para o teste de imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica*, sendo esta última utilizada, agora, como suporte imobilizante para, finalmente, aplicá-las ao processo de bioadsorção gerando uma análise comparativa entre a bioadsorção apenas com *Luffa cylindrica* e a bioadsorção com *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada em *Luffa cylindrica*.

Foram feitos testes e análises com os dois corantes em três pH's distintos e, com base nas análises, foi escolhido o corante que apresentou resultado de melhor qualidade, visibilidade e confiança. Além disso, foi utilizada *Luffa cylindrica* em duas conformações, sendo elas em pó e em discos homogêneos para que, posteriormente, fossem feitas análises comparativas levando-se em conta o percentual de remoção de corante no efluente.

1.1. Objetivos deste trabalho:

- Testes e análises feitas com os corantes Direct Red 23 e Orange Procion H₂R, em diferentes pH's para descobrir se há estabilidade ou não destes corantes;
- Seleção do melhor pH para o teste de bioadsorção;
- Seleção do melhor corante para testes posteriores;
- Análise comparativa de maior eficácia no teste de bioadsorção entre *Luffa cylindrica* em pó e em discos homogêneos;
- Análise comparativa, teste de maior eficácia, no teste de bioadsorção com *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica* (pó e discos homogêneos);
- Análise comparativa entre bioadsorção e bioadsorção após imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Água

A água compõe aproximadamente 70% da superfície terrestre e é de grande importância para todos os seres vivos, considerado o solvente universal, auxilia na prevenção de doenças, protege o organismo contra o envelhecimento, dentre outras aplicações. Porém, está havendo um grande desperdício desse recurso natural, uma vez que seu uso tem sido feito de maneira errônea, exagerada e não valorizada, já que vive-se num mundo capitalista com uma sociedade consumista e as atividades econômicas tem sido as mais exploratórias possíveis (ÁGUA: Wikipedia).

Atualmente, 69% da água potável é destinada para a agricultura, 22% para as indústrias e apenas 9% usado para o consumo humana. A poluição hídrica é um fator agravante e preocupante, uma vez que os rios têm sido contaminados e, conseqüentemente, poluídos por esgotos domésticos, efluentes industriais, resíduos hospitalares, agrotóxicos, entre outros elementos que alteram as propriedades físico-químicas da água. Mesmo assim o Brasil possui grande privilégio com relação à disponibilidade de água em seu território, já que possui 53% do manancial de água doce disponível na América do Sul e possui o maior rio do planeta (rio Amazonas) (CERQUEIRA, 2011).

Os adensamentos urbanos associados ao precário saneamento básico compõem um quadro de difícil equacionamento, em que crescem demandas por água para abastecimento público e eleva-se a geração de esgotos não-coletados e não-tratados, que ocasionalmente atingem os mananciais de abastecimento, requerendo maiores cuidados no tratamento da água para sua distribuição à população, agregando maiores ônus, sobretudo em termos de riscos à saúde pública. A cidade de São Paulo exemplifica muito bem essa situação, acarretando, inevitavelmente, o uso de águas residuárias, inclusive para abastecimento público (CUTOLO & ROCHA, 2002).

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 incorporado em nossa legislação (KUNZ & ZAMORA, 2002).

No caso da indústria, após o processo de produção, a água é devolvida ao meio ambiente na forma de efluentes industriais, que contêm grande parte dos produtos químicos

utilizados nas diversas fases dos processos produtivos. Uma vez que estes efluentes são devolvidos diretamente aos rios e lagos locais, a presença de poluentes e produtos químicos pode ocasionar danos para todas as populações e ecossistemas dependentes desta água (BNDES, 2004). A poluição de corpos d'água com compostos que provocam, além da poluição visual, alterações em ciclos biológicos afetando principalmente processos de fotossíntese, tem chamado muita atenção de vários órgãos que visam proteção ambiental bem como normas e requisitos para ejetar resíduos no ambiente, ou seja, conseqüentemente cresce o interesse na implantação de técnicas de tratamento de efluentes industriais pelas próprias indústrias.

Além deste fato, estudos têm mostrado que algumas classes de corantes, principalmente azocorantes, e seus subprodutos, podem ser carcinogênicos e/ou mutagênicos (BROWN & DEVITO, 1993).

2.2. Tratamentos de Efluentes Industriais

A grande diversidade e complexidade desses efluentes, aliadas a imposições da legislação que exigem tratamentos eficientes, têm levado ao desenvolvimento de novas tecnologias que buscam o tratamento melhor e mais adequado, considerando custos, tempo e eficiência dos processos existentes na reciclagem e eliminação de toxicidade (BUMPUS et al., 1986, p. 170 apud KAMIDA et al., 2005, p. 629 – 632) . Uma grande variedade de produtos químicos empregados como subprodutos durante a síntese e a manufatura dos corantes, bem como resíduos do tingimento que não fixaram-se às fibras, perfazem um total de 43000 toneladas anuais de pigmentos e corantes lançados como efluentes industriais (HOLME, 1984). É importante ressaltar que certas técnicas de tratamento resultam na quebra de compostos tóxicos em estruturas descoloridas mais nocivas a biota aquática e aos seres humanos (CASTELLEN, 1996). Um método que vem mostrando bons resultados é a adsorção que consiste no fenômeno no qual se tem um acúmulo de qualquer substância na superfície de um sólido (BARBOSA, J. R., 1995).

O setor têxtil apresenta um especial destaque, devido a seu grande parque industrial instalado gerar grandes volumes de efluentes, os quais, quando não corretamente tratados, podem causar sérios problemas de contaminação ambiental (O'NEIL et al., 1999). A cor é um dos indicadores mais óbvios da poluição da água e a alta descarga de corantes sintéticos pode ser muito prejudicial aos mananciais (NINGAM et al., 1996) não só pode estar alterando a estética natural dos rios, mas também porque esses produtos e subprodutos são tóxicos e

carcino-mutagênicos, tanto para os seres vivos aquáticos quanto para o homem (CORSO et al., 1997).

Atualmente existem inúmeros pesquisadores preocupados em buscar novas técnicas no tratamento de efluentes têxteis, como por exemplo, fotocatalise heterogênea, tratamento com ozônio, biodegradação, além de processos físicos, processos combinados e outros. Dentre os processos físicos mais utilizados no tratamento de efluentes e corantes têxteis, a adsorção com carvão ativado ainda vem sendo intensamente estudada (AL-DEGS et al., 2000).

O estudo de alguns agentes alternativos utilizando-se de biomassa como adsorvente também tem despertado atenção. Alguns artigos têm sido publicados utilizando carvão ativado de coco (KADIRVELU et al., 2000), bambu (WU et al., 1999), casca de eucaliptos (MORAIS et al., 1999) e quitosana (NO & MEYERS, 2000), como materiais adsorventes.

Fungos, principalmente os de decomposição branca (KUNZ et al., 2001), em combinação com métodos biológicos e químicos também têm sido testados e se mostrado bastante eficientes na descoloração de efluentes e corantes têxteis (PALMA et al., 1999).

Os efluentes de indústrias têxteis são usualmente tratados por meio de processos químicos e/ou físicos, os quais têm sido ineficientes para a remoção da cor, além de apresentarem problemas de adoção pelas indústrias. O tratamento destes resíduos por microrganismos imobilizados tem sido estudado, com ótimos resultados de rendimento e reprodutibilidade (COVIZZI et al., 2007). Entretanto, as investigações científicas na área têxtil ainda são escassas. São necessários esforços para encontrar técnicas de bioestimulação e biorremediação para incrementar os conhecimentos, de forma a modificar a realidade que apresenta o ambiente atingido pelos poluentes (KAMIDA & DURRANT, 2005).

2.3. Imobilização de células em *Luffa cylindrica*

As primeiras pesquisas sobre imobilização de células microbianas surgiram a partir das observações da capacidade de alguns microrganismos se fixarem naturalmente em superfícies de diferentes ambientes, desde caules de árvores como no caso de microrganismos fitopatogênicos, até cateteres hospitalares em se tratando de bactérias oportunistas (JUNTER; JOUENNE, 2004). A IC (Imobilização celular) consiste no confinamento físico das células em uma região definida de espaço, na qual são mantidas suas atividades catalíticas em processos de operação contínua ou descontínua possibilitando a reutilização das mesmas (FREEMAN; LILLY, 1998). As técnicas clássicas de IC podem ser classificadas em: a) naturais, as quais incluem a formação de biofilmes e a adesão/adsorção microbiana em

suportes sintéticos ou naturais, e b) artificiais, as quais incluem a encapsulação em matrizes como Alginato de cálcio ou uso de agentes ligantes (COVIZZI et al., 2007). Considerando que este trabalho enfoca a técnica de imobilização natural, apenas, Silva et. al (2006) dizem que a imobilização natural ocorre espontaneamente por meio de interações eletrostáticas. O tamanho do poro, a porosidade e o grau de hidrofobicidade da matriz interferem na intensidade da adesão celular.

O estado morfológico do microrganismo durante alguns processos influenciam diretamente a obtenção dos produtos microbianos de interesse, por diminuir o tempo de cultivo e aumentar o rendimento do processo (FENG et al., 2003).

Uma das alternativas encontradas para “engenheirar” a estrutura morfológica destes microrganismos é a imobilização celular (IC), de maneira que seja preservada a atividade catalítica desejada, para aplicação tanto em escala de laboratório quanto industrial. A tecnologia da IC se restringe à produção de metabólitos extracelulares ou a utilização de microrganismos como biocatalizadores (KOURKOUTAS et al., 2004; PRASAD et al., 2005), conforme a Tabela 1. A característica fundamental das células imobilizadas para o uso nestes processos é a sua alta resistência à exposição a compostos tóxicos e ambientes hostis (JUNTER; JOUENNE, 2004).

Muito dos materiais utilizados em imobilização são sintéticos e não- biodegradáveis, o que causa problemas no meio ambiente após sua utilização. Outros, por sua vez, são tóxicos ou mesmo conferindo ao produto propriedades indesejáveis tais como cor, sabor e aroma, o que os tornam inapropriados para imobilização principalmente na indústria de alimentos (GEMEINER et al., 1993; OGBONNA et al., 1996). Existe, assim, a necessidade da busca de materiais alternativos para serem usados como suporte. As qualidades esperadas dos materiais alternativos é que sejam renováveis, biodegradáveis, de baixo custo, bem como de fácil disponibilidade, particularmente em países em desenvolvimento. A bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) é de crescimento fácil em nosso país, é leve, cilíndrica e apresenta naturalmente uma arquitetura entrelaçada e altamente porosa. Essas características conferem a esse material um potencial de uso como suporte em imobilização (OGBONNA et al., 1996). Tem sido relatado o uso de diversos compostos de natureza celulósica que apresentam essas características. Entre eles citam-se o bagaço de cana, pedaços de madeira, pó- de - serra e casca de arroz (CHEUNG et al., 1986; CHOU & JASOVISKY, 1993).

Tabela 1. Características ideais desejáveis para a matriz ou suporte selecionado para imobilizar células microbianas.

Características	Referências
Ter grande área superficial com espaço intersticial para o crescimento celular.	DEVI S, SRIDHAR, 2000
Possuir grupos funcionais ligantes, no caso de adesão artificial.	FREEMAN; LILLY, 1998
Ser facilmente regenerável e possível de reuso.	CHAMPAGNE; LACROIX; SODINI-GALLOT, 1994
Proporcionar a viabilidade celular e atividade catalítica, por um longo período de tempo.	GARBAYO et al., 2003
Apresentar porosidade uniforme a fim de permitir trocas gasosas, entrada de substrato e fluxo de cofatores e produtos do metabolismo microbiano.	NORTON et al., 1995
Ter boa estabilidade mecânica, química, térmica e biológica.	DÍAZ et al., 2001
Não ser degradável facilmente por enzimas ou solventes envolvidos no processo.	BERGMAIER; CHAMPAGNE; LACROIX, 2005
Ser estável a mudanças drásticas de pressão, temperatura e pH do meio.	MOREIRA et al., 1998
Proporcionar imobilização fácil, acessível e viável para uso em escala industrial.	FENICE et al., 2000

Fonte: COVIZZI et al., 2007.

A figura 1 representa os diferentes tipos de imobilização celular que podem ser observados:

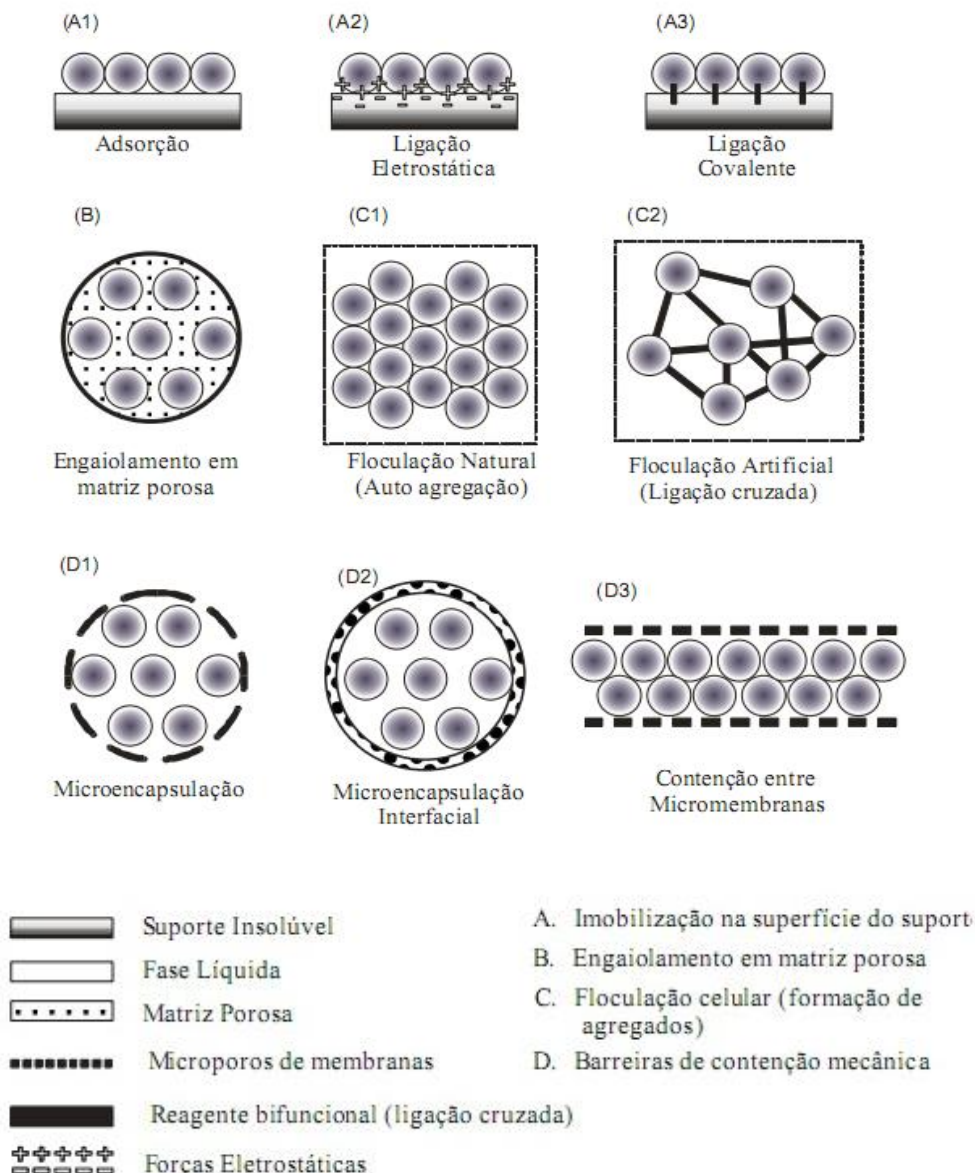


Figura 1. - Diferentes métodos de imobilização celular de microrganismos. Fonte: KOURKOUTAS et al., 2004 apud COVIZZI et al., 2007.

2.4 Corantes azóicos

Os corantes sintéticos são extensivamente utilizados na indústria têxtil, gráfica, fotográfica e como aditivos em derivados de petróleo. Podem ser classificados de acordo com sua estrutura química (antraquinona, azo e etc.) ou de acordo com o método pelo qual ele é fixado à fibra têxtil (ABRAHANT, 1977). Aproximadamente 10.000 diferentes corantes e pigmentos são usados industrialmente (BROWN & DEVITO, 1993), o que representa um consumo anual de cerca de 7×10^5 tons no mundo (HOLME, 1984) e 26.500 tons somente no Brasil (GUARATINI & ZANONI, 2000). A produção industrial de corantes no Brasil foi introduzida logo após a primeira Guerra Mundial e atualmente supre 60% da sua demanda doméstica. Seguindo uma tendência mundial, a indústria de corantes no Brasil é responsável por pelo menos 5.000 empregos e alto rendimento financeiro, tem dedicado grande esforço

para atender às regras de proteção ambiental, embora a aplicação destes corantes no processo de tintura contitua efetivamente um grande problema, uma vez que grande porcentagem dessas indústrias são pequenas empresas, tornando difícil a atividade de fiscalização (NILSON, 1993).

Sabe-se que a molécula de corante, utilizada no tingimento da fibra têxtil, geralmente é dividida em duas partes principais. A primeira parte chama-se grupo cromóforo, enquanto que a segunda parte é responsável pela fixação à fibra. Existem vários grupos cromóforos utilizados atualmente na síntese de corantes. No entanto, o grupo mais representativo e largamente empregado pertence à família dos azocorantes, que se caracterizam por apresentarem um ou mais grupamentos $-N=N-$ ligados a sistemas aromáticos. Os azocorantes representam cerca de 60% dos corantes atualmente utilizados no mundo, sendo extensivamente utilizados no tingimento de fibras têxteis (VANDEVIVERE et al., 1998).

Segundo Guaratini e Zanoni (2000), todo o processo de tintura envolve como operação final uma etapa de lavagem em banhos correntes para a retirada do excesso de corante original ou corante hidrolisado não fixado à fibra nas etapas precedentes. Atualmente, o mercado consumidor têm exigido uma tintura de ótima qualidade, resistente a lavagens, exposição ao sol, dentre outros aspectos e, em virtude dessa demanda vários milhões de compostos químicos coloridos têm sido sintetizados nos últimos 100 anos dos quais cerca de 10.000 são produzidos em escala industrial.

Uma associação internacional ETAD – Ecological and Toxicological Association of the Dyestuff Manufacturing Industry, criada desde 1974 com o intuito de minimizar os possíveis danos ao homem e ao meio ambiente tem realizado grande esforço para fiscalizar a fabricação mundial de corantes sintéticos (Enviromental safety, 1979). Além disso, admite-se que o maior problema ambiental seja gerado pela utilização ampla de azo corante, de reconhecido efeito carcinogênico e mutagênico, já que representa cerca de 60% dos corantes consumidos atualmente no mundo (SOUZA & PERALTA-ZAMORA, 2005).

Através da comparação direta entre a absorbância da amostra de um efluente e o padrão de qualidade requerido para coloração em rios, é possível avaliar o grau de contaminação previsto. Por conta de regras e normas a serem seguidas e a evolução ambientalista mundial, as técnicas de implantação de processos de remoção de corantes de efluentes tem tido cada vez mais destaque e interesse. Dentre os processamentos mais utilizados para tal fim destacam-se, principalmente, processo de adsorção, biodegradação, degradação química, eletroquímica e fotoquímica, precipitação e outras (GUARATINI & ZANONI, 2000).

2.5. *Luffa cylindrica*

A *Luffa cylindrica* é popularmente conhecida como bucha, esponja vegetal ou bucha paulistana. Pertencente a família das Curcubitaceae, mesma família do pepino, abóbora e melancia, a *Luffa cylindrica* é proveniente da Ásia, tipicamente tropical, necessitando de umidade, calor, solo fértil e drenável, enriquecido com matéria orgânica e irrigado regularmente. Esta planta é caracterizada como trepadeira de ciclo de vida anual, possui um caule ascendente e herbáceo, com gavinhas, folhas grandes, lobadas e dentadas recobertas por pêlos finos. A polinização é feita por abelhas que são atraídas pelas flores amarelas da planta. Os frutos são baga, grandes, podendo alcançar 35 cm, cilíndricos, alongados, lisos ou angulosos. Quando verdes são comestíveis e quando maduros tornam-se uma esponja fibrosa muito útil na higiene pessoal, limpeza geral, artesanato, excelente esfoliante para a pele, é completamente biodegradável, inofensiva ao meio ambiente, além de ser política e socialmente correta, pois estimula a agricultura familiar. Na indústria, suas fibras entram na fabricação de filtros e em isolamentos acústicos (PATRO, 2011). Os grandes atrativos desse material incluem o fato das fibras serem biodegradáveis, serem um recurso natural renovável, terem geralmente baixo custo e produzirem menor desgaste nos equipamentos de fabricação quando comparadas com as fibras sintéticas. Seu fruto tem um sistema vascular que, quando seca, forma uma manta tridimensional natural, em que as fibras estão dispostas em uma matriz que forma uma esteira multidirecional. A distribuição aleatória das fibras deste material é que podem ser usadas, com vantagem, em muitas aplicações, e, em princípio, os custos de produção podem vir a serem reduzidos pelo uso deste material de baixo custo. Devido à natureza esponjosa, a *Luffa cylindrica* tem se mostrado um ótimo suporte nos processos de imobilização de células microbianas porque, além de tudo o material é resistente a variações de pH, autoclavagem e temperatura e não apresenta toxicidade (NAGLIS & ALMEIDA, 1994; BOYNARD & ALMEIDA, 2000).

A literatura mostra que a *Luffa cylindrica* (bucha vegetal) já foi utilizada para a imobilização de *Zymomonas mobilis* para a produção de sorbitol (VIGNOLI et al., 2006) e *S. cerevisiae* (OGBONNA; MASHIMA; TANAKA, 2001) para produzir etanol, dentre outros processos.

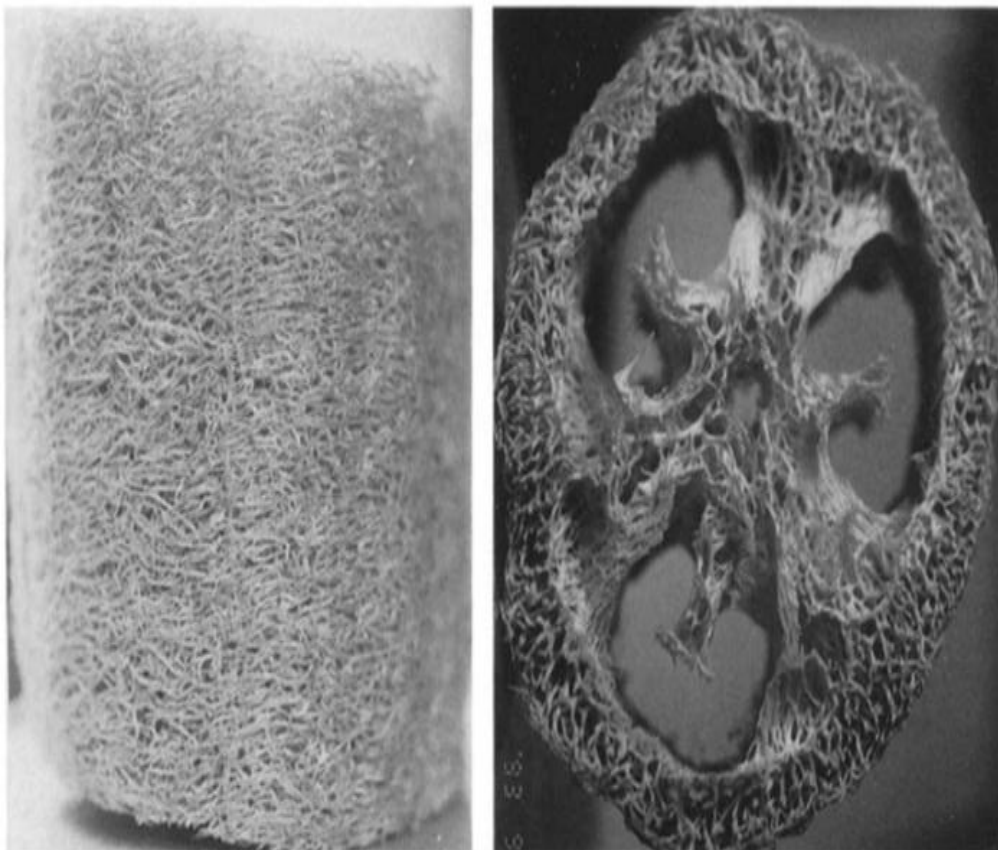


Figura 2. Conformação de uma esponja (*Luffa cylindrica*) natural.
Fonte: OGBONNA et al. 1994.

2.6. *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae é uma espécie de fungo unicelular e não filamentoso sendo assim uma levedura eucariótica que existem nas plantas, nos alimentos, no ar, no solo.

Associadas a essa levedura estão as produções de pães, bebidas alcoólicas, produção de dióxido de carbono (CO_2), dentre outras. Além disso, essa levedura tem sido muito aplicada em testes e estudos de biorremediação dentre outros tantos, vinculados às áreas ambientais e industriais (GRUPO DO IST, 2011).

Para o atual trabalho apresentado será utilizado levedura liofilizada. É válido lembrar que o processo de liofilização consiste no congelamento de uma substância e sublimação do gelo no vácuo; também denominado congelamento-secagem (TORTORA et al., 2008).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais:

Serão utilizadas diversas vidrarias como, por exemplo, béqueres, balões volumétricos, erlenmeyers, tubos de ensaio, além de cubetas de quartzo, tubos para centrífuga, pipetas, bastões de vidro, seringas descartáveis, peneiras, soluções tampão, água destilada, e outros materiais de uso comum.

Serão também utilizados os seguintes equipamentos: Vórtex, Peagâmetro Digimed modelo DMPH2, Agitador magnético, Balança Analítica ADA 210/L, refrigerador Cònsul 280 litros, Centrífuga Catel – 220V , Centrífuga MLW, Espectrofotômetro Shimadzu UV-240 1 PC, Estufa Fanem modelo CB2, Moinho de Bolas Marconi – 110V, cortador cilíndrico, B.O.D Marconi.

Além disso, os materiais que serão de uso principal para o experimento serão: Corante Direct Red 23, Acid Yellow 23, Orange Procion H₂R, *Luffa cylindrica* e Levedura liofilizada Dona Benta – Lote 153079 para obtenção da suspensão de leveduras 0,5% (*Saccharomyces cerevisae*).

Alguns equipamentos utilizados neste trabalho foram apresentados:



**Figura 3. Moinho de bolas.
(Depto. De Botânica)**



Figura 4. Balança analítica.



Figura 5. B.O.D.



**Figura 6. Temperatura da B.O.D.
para os testes de bioissorção.**



**Figura 7. Shaker utilizado 180
rpm.**



Figura 8. Espectrofotômetro.



Figura 9. Centrífuga.



Figura 10. *Luffa cylindrica* em pó.



Figura 11. *Luffa cylindrica* em discos homogêneos.



Figura 12. *Luffa cylindrica* em discos homogêneos após a biossorção.



Figura 13. Fermento liofilizado *Luffa cylindrica* em discos homogêneos.



Figura 14. Levedura liofilizada.

3.2. Métodos:

3.2.1. Solução estoque:

A solução estoque foi preparada pesando-se 0,100 gramas de corante em pó, posteriormente diluídos em 100 mL de água destilada, afim de que se obtivesse uma solução de concentração 1mg/mL.

3.2.2. Preparo e características dos corantes:

Foram selecionados dois corantes sintéticos que são de grande interesse na indústria têxtil, sendo eles Direct Red 23 e Orange Procion H₂R. Para os dois casos foram realizados testes em três pH's : 2,5; 4,5; 6,5 e em seguida partiu-se para análises comparativas por meio de espectrofotometria.

Feito este processo, o corante que demonstrou melhores resultados, reta padrão altamente confiável e pH estável foi escolhido para realizar as demais etapas do experimento.

Direct Red 23:

Sinônimos: Disodium 3-[(4-acetamidophenyl)azo]-4-hydroxy-7-[[[5-hydroxy-6-(phenylazo)-7-sulphonato-2-naphthyl]amino]carbonyl]amino]naphthalene-2-sulphonate.

Fórmula Molecular: C₃₅H₂₅N₇Na₂O₁₀S₂

Peso Molecular: 813,72

C.I. 29160

Fórmula Estrutural:

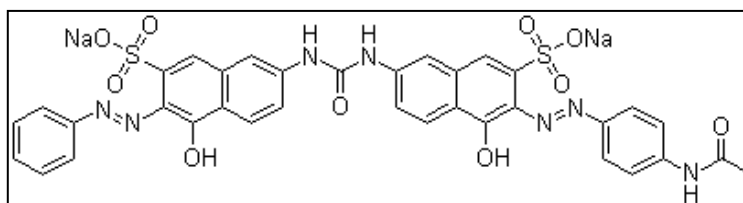


Figura 15. Fórmula estrutural do Direct Red 23.

Orange Procion H₂R:

Sinônimos: Reactive Orange 13; Kayacion Orange A-2R; Evercion Orange P-2R; Cibacron Orange P-2R; Begalive Orange P-2R; Sandalfix Orange H2R; Amaryl Brilliant Orange 2RX; Reactive Brilliant Orange H2R.

Fórmula Molecular: C₂₄H₁₅ClN₇Na₃O₁₀S₃

C.I.18270

Peso Molecular: 762.03411

Fórmula Estrutural:

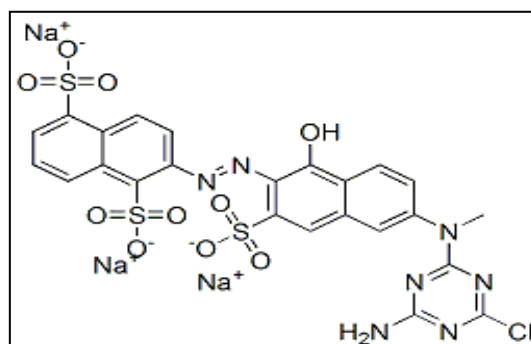


Figura 16. Fórmula estrutural do Orange Procion H₂R.

3.2.3. Teste de estabilidade dos corantes:

Foram feitas análises qualitativas onde os corantes que apresentavam, inicialmente, concentração de 1mg/mL foram diluídos de maneira adequada para os testes. Para este fim a água destilada foi preparada para três valores de pH já citados no item 3.2.2. ajustando-se o devido valor com H₂SO₄ 1M e NaOH 1M. Em seguida foram pipetadas, em cada tubo de ensaio, diferentes concentrações de água e corante. (Tabela 2)

Se o pH se apresentasse estável as varreduras espectrais ficariam sobrepostas, caso contrário deveria ser identificado o ponto isobéstico (PI) do gráfico gerado. O ponto isobéstico é o comprimento de onda onde a mudança de concentração não afeta a absorbância, evitando interferência. A partir daí seguiu-se para as etapas das análises quantitativas.

Tabela 2. Volume de água e Corante diluídos a fim de manter um padrão gradual para análise espectrofotométrica.

Tubo	Água (mL)	Corante (mL)
0	10,0	0,0
1	9,8	0,2
2	9,6	0,4
3	9,4	0,6
4	9,2	0,8
5	9,0	1,0

3.2.4. Análises quantitativas:

Partiu-se do princípio de varreduras espectrais realizadas com os corantes nos valores de pH 2,5; 4,5 e 6,5 na concentração de 100µg/mL de corante, nos comprimentos de onda 190 à 800 nm. Nesta faixa espectral verificou-se a estabilidade desses corantes e a partir desses dados observados, pôde-se determinar o comprimento de onda máximo de absorção de cada corante.

3.2.5. Reta padrão:

Seguindo o procedimento, e baseados na leitura espectral, foi feita a montagem da reta padrão para os três diferentes valores de pH's , sendo que as concentrações dos corantes foram testadas entre 20µg/mL e 100µg/mL. Realizadas todas essas análises descritas, foi feita a escolha do corante que respondeu melhor aos testes e o experimento prosseguiu com enfoque, somente neste corante e no melhor pH, onde se desenvolveu os testes de Biossorção com *Luffa cylindrica*.

3.2.6. Preparo da *Luffa cylindrica*:

A *Luffa cylindrica* foi comprada naturalmente, como as vendidas em supermercados e em outros locais de venda, e encontrava-se no seu formato original.

Foi aberta uma malha, de maneira que a *Luffa cylindrica* foi cortada e aberta como um tecido, na tentativa de uniformizar e homogeneizar seu formato e a disposição de suas fibras o máximo possível. Posteriormente, a malha de *Luffa cylindrica* foi perfurada com um cortador cilíndrico o qual possibilitava a obtenção de discos quase homogêneos e com um tamanho padronizado de 12 mm de diâmetro X 3 mm de altura (Figura IX).

Com os resíduos provenientes do corte dos discos na malha de *Luffa cylindrica*, foram recortados pedaços de maneira a ficarem menores possíveis. Esses pedaços foram colocados em béqueres e submetidos à estufa, numa temperatura de 55°C a fim de obter alta secagem do material, porém com cuidado para que não fossem modificadas sua estrutura inicial, ou seja, natural. Os pedaços de *Luffa cylindrica* ficaram na estufa durante 24 horas a 55 °C e, posteriormente, foram levados ao moinho de bolas (Departamento de Botânica – UNESP Rio Claro –SP, Instituto de Biociências).

Sendo assim, os pedaços foram moídos por, aproximadamente, 15 minutos e, ao serem retirados, foram peneirados. A granulação utilizada nos testes e obtida após o peneiramento do pó de *Luffa cylindrica* foi de $0,14 \text{ mm} < X < 0,21 \text{ mm}$. Feito esses procedimentos a *Luffa cylindrica* já se encontrava em duas conformações distintas e prontas para serem utilizadas na etapas seguintes do experimento.

3.2.7. Pesagem da *Luffa cylindrica*:

Ocorreram dois tipos de pesagem, sendo uma para o teste de bioadsorção do corante e *Luffa cylindrica* e a outra seria para o teste de imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica*, antecedendo a etapa do segundo teste de bioadsorção. Inicialmente pesou-se os discos homogêneos, de maneira que atingissem a pesagem desejada para o teste de imobilização, utilizando uma quantidade fixa 0,1 gramas. É válido dizer que os discos obtidos eram quase que homogêneos, porém a *Luffa cylindrica* é um emaranhado de fibras celulósicas e estas não geram um padrão de distribuição pela malha utilizada e cortada, de maneira que a pesagem, geralmente, alcançava um valor próximo a 0,1 gramas. Após a primeira pesagem, os tubos de ensaio para o primeiro teste de bioadsorção foram preparados e em cada um era adicionada uma quantidade gradual de discos homogêneos, ou seja, pesava-se e adicionava-se um disco, três discos, cinco discos, sete discos e, finalmente, nove discos. Ao pesar todos os discos homogêneos, em duplicata, a *Luffa cylindrica* em pó passou a ser pesada, de maneira que a quantidade de pó que seria adicionada em cada tubo de ensaio era o mesmo valor referente à pesagem dos discos homogêneos. Em outras palavras, ao pesar um disco, anotava-se o valor e pesava-se a mesma quantidade de *Luffa cylindrica* em pó, a fim de se realizar uma análise comparativa, posteriormente, entre as duas conformações.

Após pesadas e adicionadas em seus respectivos tubos de ensaio, seguiu-se o procedimento e a nova etapa: Teste de bioadsorção do corante Direct Red 23 em contato com *Luffa cylindrica* em pó e em discos homogêneos.

3.2.8. Teste de bioadsorção dos corantes pelo UV-VIS:

Foram enumerados e identificados os tubos de ensaio que seguiram este procedimento, sendo que nesse caso todo o processo fora realizado em duplicatas para maior confiabilidade e precisão dos resultados.

O conteúdo dos tubos de ensaio continha o volume fixo de 10 mL de solução de corante, sendo 9 mL de água destilada, ajustada nos três pH's citados no trabalho, e 1 mL de corante. Todavia, em cada tubo a quantidade de *Luffa cylindrica* foi alterada gradualmente, conforme fora explicado anteriormente (um, três, cinco, sete e nove discos homogêneos). Esse processo foi realizado tanto para os discos quanto para o pó, sendo que tudo (solução de corante e *Luffa cylindrica*) ficaram em contato.

Após 120 (cento e vinte) minutos em contato e, dentro de uma B.O.D a 30 °C, os tubos contendo o pó de *Luffa cylindrica* foram centrifugados por 20 minutos para eliminar o pó (que ficou retido no fundo do tubo), bem como os tubos contendo discos homogêneos. Em seguida foi retirada uma alíquota, por vez, de cada tubo colocando-a numa cubeta de quartzo de 0,5 cm e analisou-se o que ocorreu através de espectrofotometria (190 – 800 nm).

Conforme realizados os testes de bioadsorção, através de espectrofotometria, foram feitas análises comparativas entre taxa bioadsorção de pó e discos homogêneos.

3.2.9. Preparo da suspensão de leveduras liofilizadas 0,5% – Dona Benta

Após a escolha do corante e feita as análises de estabilidade em pH's diferentes, teste de Bioadsorção com *Luffa cylindrica* e análise do melhor pH para remoção do corante, partiu-se para a análise bioadsorção vinculada a imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica* a fim de testar se havia ou não um aumento do poder adsorção.

Esta etapa iniciou-se com a preparação de uma suspensão de leveduras liofilizadas a 0,5%. É válido dizer que a *Saccharomyces cerevisiae* foi obtida através de fermento liofilizado da marca Dona Benta. Sabe-se que além da levedura outras substâncias são constituintes deste fermento como, por exemplo, o monoestearato de sorbatina que é usado como conservante, mas que de acordo com algumas análises espectrofotométricas, sabe-se que não há alteração no processo e nem necessidade de lavagem do material para eliminar impurezas, mesmo porque a levedura já é liofilizada.

Foi pesado 0,5 grama de fermento Dona Benta liofilizado e realizou-se uma diluição deste conteúdo em água destilada, de maneira a completar o volume de 100 mL (no balão

volumétrico), com água destilada, já que a suspensão utilizada foi de 0,5%. A suspensão foi etiquetada (nome, data) e guardada em geladeira para sua posterior utilização.

3.2.10. Teste de imobilização da suspensão de leveduras liofilizada 0,5% e *Luffa cylindrica*:

Posteriormente ao processo de preparo da suspensão de leveduras a 0,5% foram colocados, em tubos de ensaio, diferentes quantidades de água e diferentes quantidades de suspensão, de maneira a completar 10 mL (tabela II) feitos em duplicata e, em seguida, foram adicionados, em cada tubo, a quantidade fixa de 0,1 gramas de *Luffa cylindrica*, disponível em pó e em discos homogêneos. Além disso, foram preparados dois controles que continham 10 mL de suspensão sem *Luffa cylindrica* e o outro apenas com água destilada e *Luffa cylindrica* tanto em pó como em discos homogêneos, a fim de que fosse analisado, através da leitura da absorbância, e verificado se o material, a *Luffa cylindrica*, liberava algum tipo de substância que poderia alterar a leitura ou os resultados dos testes.

Esse contato entre suspensão de leveduras e *Luffa cylindrica* foi de 24 horas submetidas por agitação, no shaker a 180 rpm em temperatura ambiente, aproximadamente 22 °C. Esse foi o período crítico em que pôde ou não ocorrer a imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica*, ou seja, as células de leveduras poderiam ficar aderidas na *Luffa cylindrica* ou não.

3.2.11. Análise espectrofotométrica da imobilização de leveduras liofilizadas:

Todos estes testes de imobilização foram analisados em espectrofotômetro, num comprimento de onda de 540 nm. As absorbâncias de todos os tubos analisados neste comprimento de onda e a média aritmética das duplicatas foram apresentadas no item “Resultados” deste trabalho. Feito todo esse processo, partiu-se para a associação dos testes: Biossorção do corante escolhido e Teste de Imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica*.

3.2.12. Teste de bioissorção com o corante Direct Red 23 e *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada em *Luffa cylindrica*:

Foi realizado todo o ajuste do experimento no pH com a melhor capacidade bioissorativa (2,5) para determinado corante. O teste de bioissorção, porém agora com células de *Saccharomyces cerevisiae* aderidas em *Luffa cylindrica*, tudo em contato com o corante Direct Red 23 foi realizado durante 120 minutos numa B.O.D em 30 °C e, em seguida, fora observado se houve aumento na bioissorção ou não através de análises comparativas com o teste de Bioissorção entre corante e *Luffa cylindrica*.

Algumas figuras abaixo representam determinadas etapas dos testes que foram realizados:



Figura 17. Preparo da solução de Direct Red 23 – 9 mL de água e 1 mL de corante, pH 2,5.

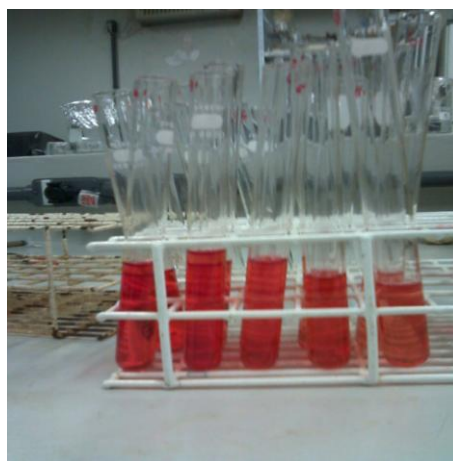


Figura 18. Teste de bioissorção entre Direct Red 23 e *Luffa cylindrica* em discos.

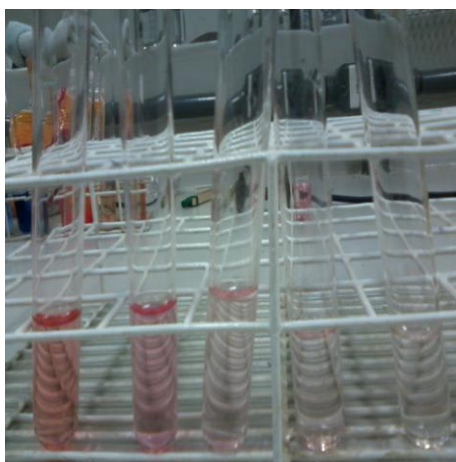


Figura 19. Teste de bioissorção entre Direct Red 23 e *Luffa cylindrica* em pó.



Figura 20. Preparo da suspensão de leveduras liofilizadas 0,5%.

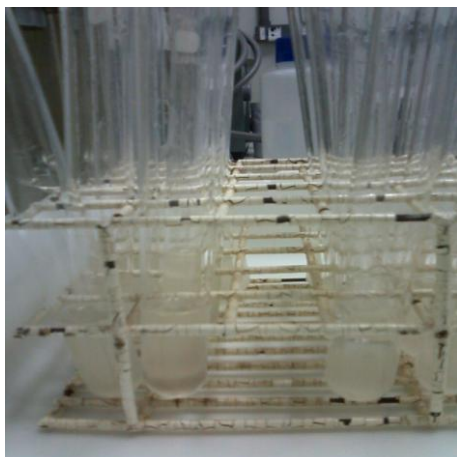


Figura 21. Solução de leveduras livres após o teste de imobilização.



Figura 22. Discos homogêneos após teste de imobilização e biossorção.

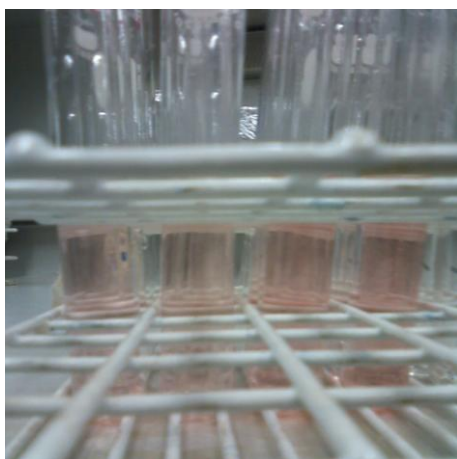


Figura 23. Teste de biossorção entre Direct Red 23 e *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica* em pó.



Figura 24. Teste de biossorção entre Direct Red 23 e *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica* em discos.

4. RESULTADOS

4.1. Teste de estabilidade dos corantes:

Com base na varredura feita por espectrofotometria de cada corante escolhido nos três pH's, é possível verificar se determinado corante é estável em todos os pH's testados ou não. Se o corante se apresentar estável, graficamente, será observada uma curva padrão em todos os pontos da varredura e então o experimento será realizado e os dados serão obtidos pelo ponto do comprimento de onda máximo deste corante. Porém, se, graficamente, na varredura espectral forem registrados pontos distintos de comprimentos de onda em diferentes pH's, este corante será instável e será preciso a análise e realização de cálculos para encontrar o ponto isobéstico (PI) do gráfico e fazer todas as análises e coletas de dados baseados neste ponto, que corresponderá a determinado comprimento de onda.

Com base nisso foram feitos as análises das varreduras para os três corantes nos três pH's referidos.

- **Varredura do corante Direct Red 23:**

pH = 2,5

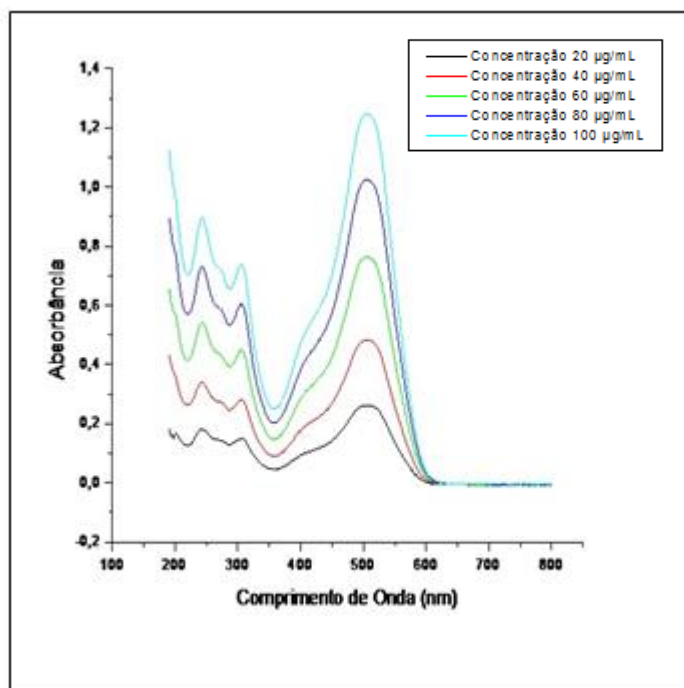


Figura 25. Espectro de absorção do corante Direct Red 23, pH 2,50, $\lambda_{\text{máx}}$ -507 nm e caminho óptico de 0,5cm.

pH = 4,5

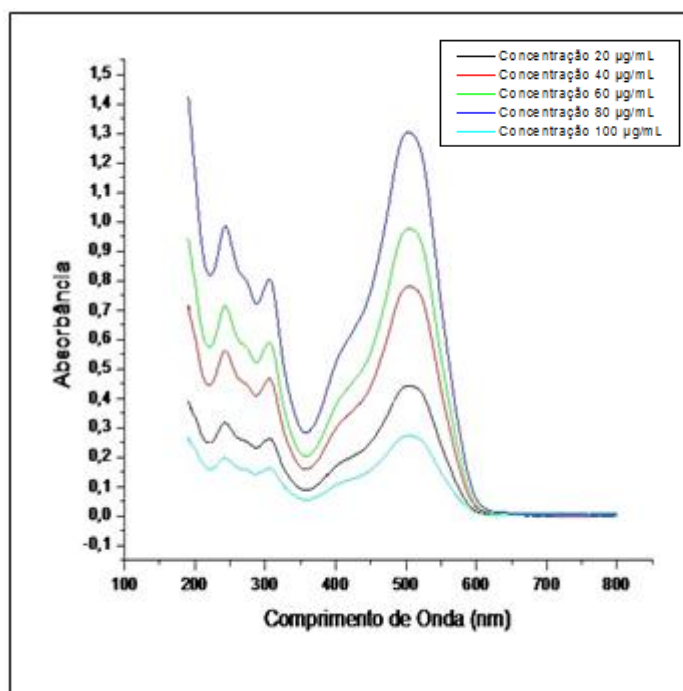


Figura 26. Espectro de absorção do corante Direct Red 23, pH 4,50, $\lambda_{\text{máx}}$ 507 nm e caminho óptico de 0,5cm.

pH = 6,5

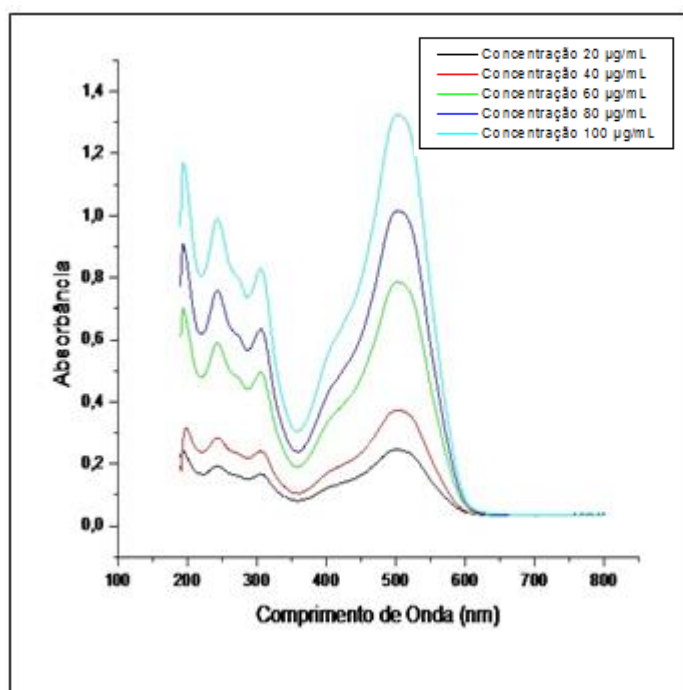


Figura 27. Espectro de absorção do corante Direct Red 23, pH 6,50, $\lambda_{\text{máx}}$ 507 nm e caminho óptico de 0,5cm.

- Varredura do Corante Orange Procion H2R:

pH = 2,5

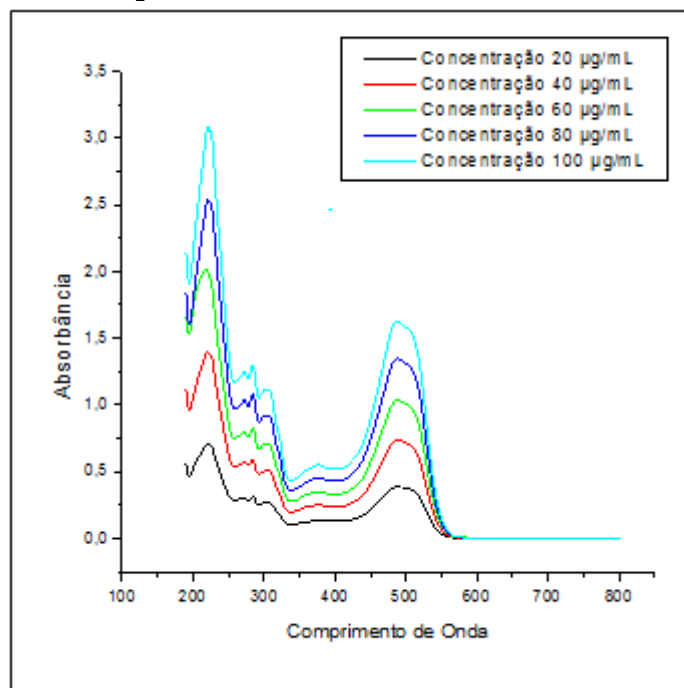


Figura 28. Espectro de absorção do corante Orange Procion H₂R, pH 2,50, , $\lambda_{\text{máx.}}$ 487,5 nm e caminho óptico de 0,5cm.

pH = 4,5

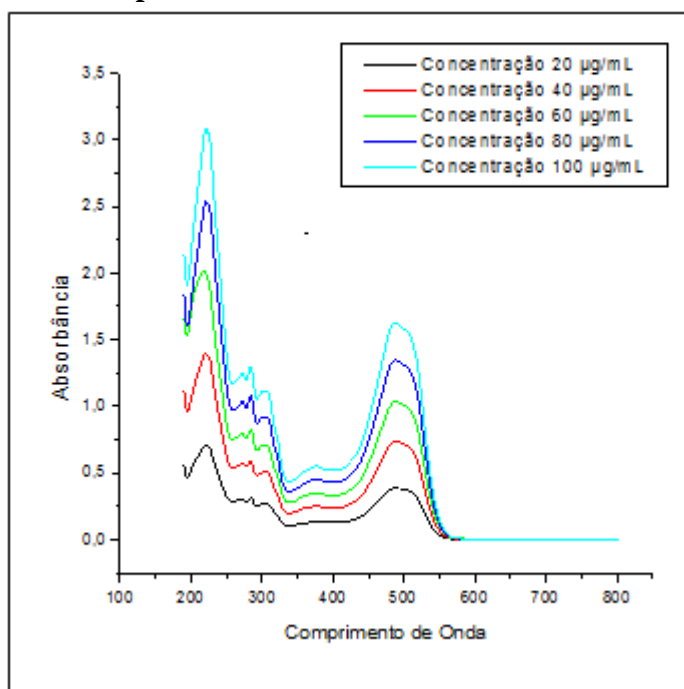


Figura 29. Espectro de absorção do corante Orange Procion H₂R, pH 4,50, , $\lambda_{\text{máx.}}$ 487,5 nm e caminho óptico de 0,5cm.

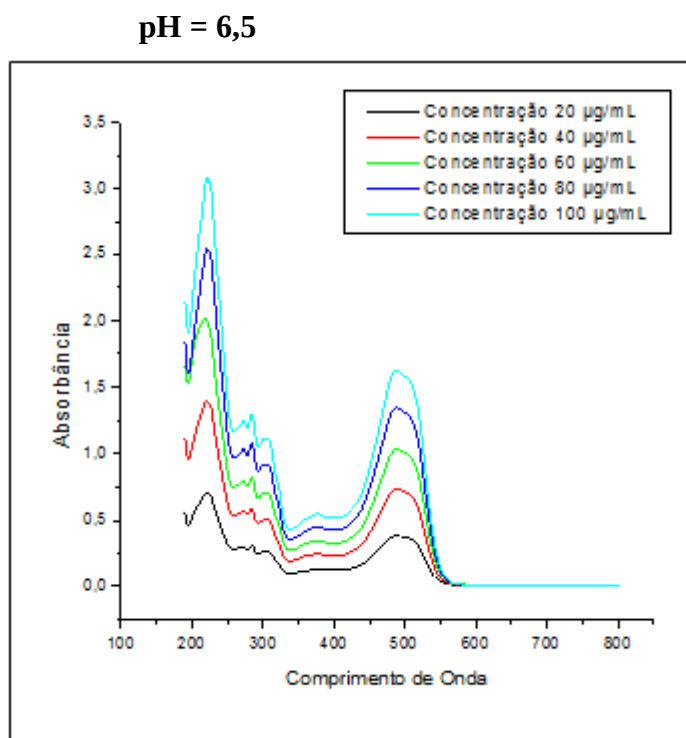


Figura 30. Espectro de absorção do corante Orange Procion H₂R, pH 6,50, $\lambda_{\text{máx.}}$ 487,5 nm e caminho óptico de 0,5cm.

Conforme pode-se observar nos gráficos tem-se a varredura espectral dos dois corantes nos três pH's. Porém para melhor compreensão da estabilidade ou não dos corantes e para afirmar esse pressuposto, é válido identificar a reta padrão destes em cada pH, bem como a equação das retas, já que, se acordo com estudos, pesquisas e conceitos, o corante só será classificado como estável se os valores de inclinação das retas forem iguais ou, pelo menos, muito próximos.

4.2. Retas padrão dos dois corantes analisados:

- Retas padrão para o corante Direct Red 23 para os seguintes pH's: 2,5; 4,5 e 6,5.

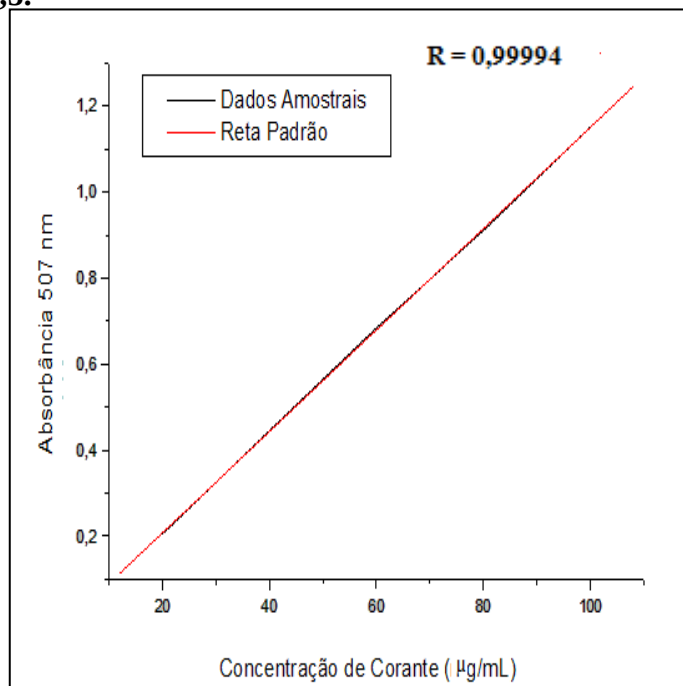


Figura 31. Reta padrão do corante Direct Red 23, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorbância 507 nm= - 0,0286 +(0,0118 * concentração do corante)

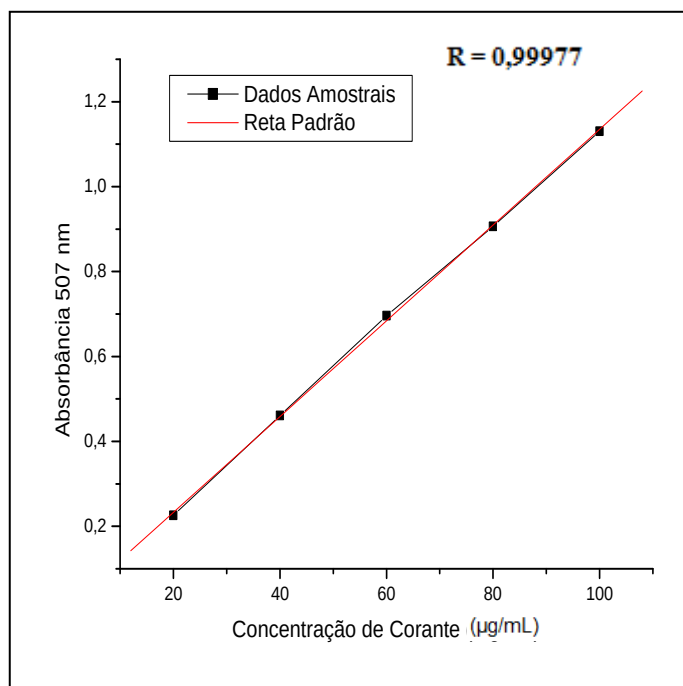


Figura 32. Reta padrão do corante Direct Red 23, pH 4,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorbância 507 nm= 0,00731 +(0,011 * concentração do corante)

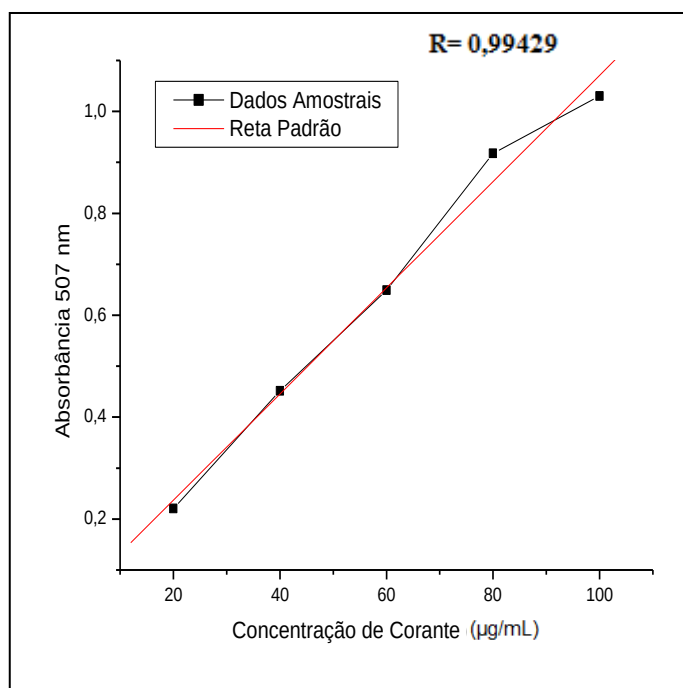


Figura 33. Retra padrão do corante Direct Red 23, pH 6,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorvância 507 nm= 0,02845 +(0,010 * concentração do corante)

- Retas Padrão para o Corante Orange Procion H₂R para os seguintes pH's: 2,5; 4,5 e 6,5.

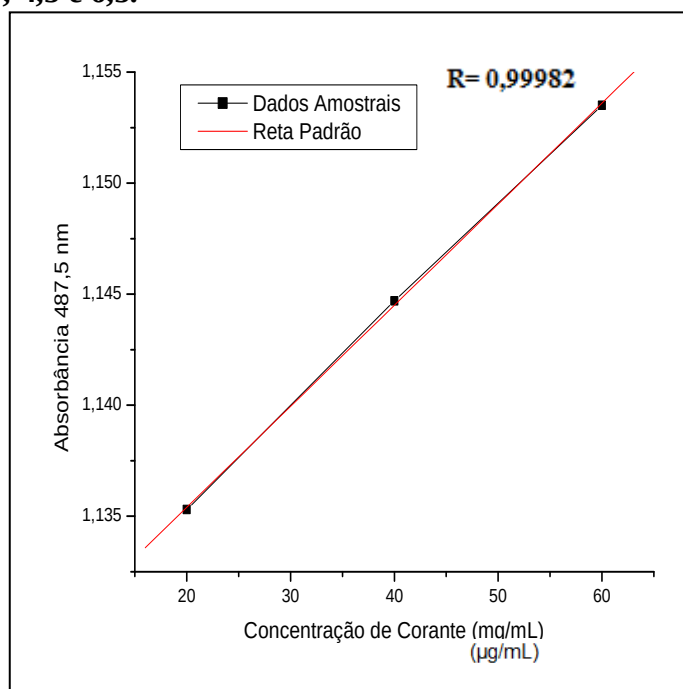


Figura 34. Retra padrão do corante Orange Procion H₂R, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorvância 487,5 nm= 1,1263 +(0,000455 * concentração do corante)

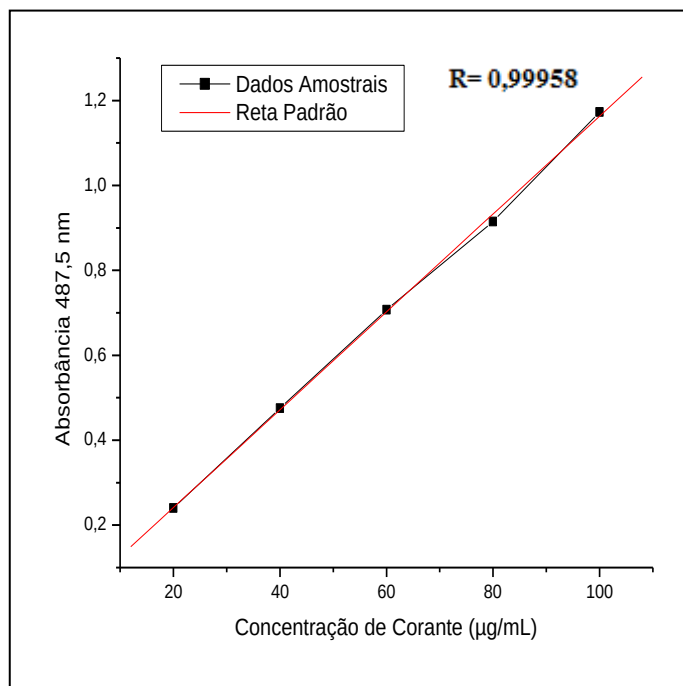


Figura 35. Reta padrão do corante Orange Procion H₂R, pH 4,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorvância 487,5 nm= 0,01067 +(0,01153 * concentração do corante)

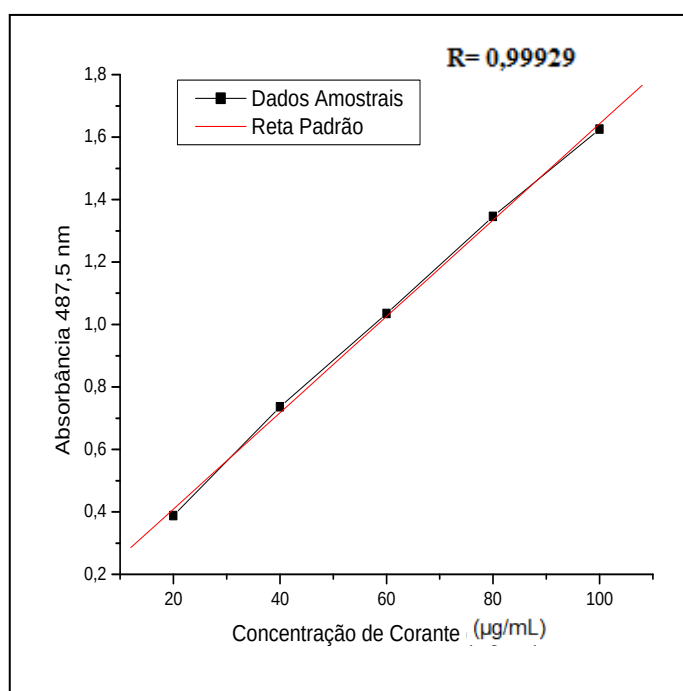


Figura 36. Reta padrão do corante Orange Procion H₂R, pH 6,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorvância 487,5 nm= 0,10051 +(0,01542 * concentração do corante)

4.3. Teste de maior eficácia da bio sorção do corante Direct Red 23 nos pH's 2,5; 4,5 e 6,5:

O corante que foi utilizado a partir desta etapa e nos processos seguintes do trabalho, como bio sorção e imobilização, foi escolhido ao obter-se as retas padrão de cada um deles para os três pH's diferentes. Uma vez que o Orange Procion H₂R apresentou valores de inclinação da reta muito discrepantes foi considerado um corante instável cuja manipulação seria dificultada. Portanto, a partir desta etapa, seguiu-se o trabalho com o corante Direct Red 23, sendo necessário a realização de um teste piloto para analisar, para este caso, qual pH mostrar-se-ia mais eficaz no processo de bio sorção do Direct Red 23. A tabela 3 apresenta os resultados deste teste inicial para a bio sorção nos três pH's estudados e concluiu-se que o pH que apresentou maior eficácia foi o 2,5, de acordo com a tabela de concentração de corante remanescente, ou seja, que não ficou aderido na *Luffa cylindrica*.

Tabela 3. Concentração do corante remanescente (Direct Red 23) no tubo contendo maior quantidade de *Luffa cylindrica*.

pH	Concentração de corante remanescente para o pó (µg/mL)	Concentração de corante remanescente para os discos (µg/mL)
2,5	34,50	50,58
4,5	71,46	77,31
6,5	70,70	76,51

A seguir, apresentam-se os espectros de bio sorção do teste piloto que mostrou maior eficácia no pH 2,5 tanto para os discos homogêneos quanto para o pó, comparados com o controle (varredura espectral):

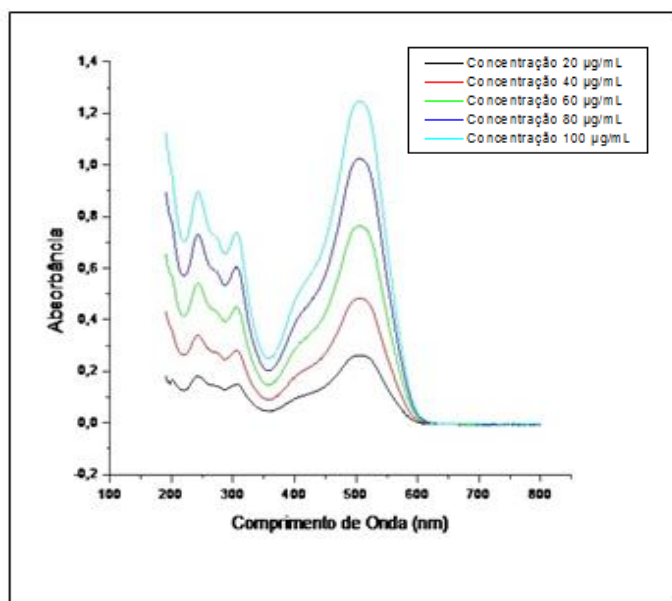


Figura 37. Espectro padrão do corante Direct Red 23 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5 cm. Absorbância 507nm.

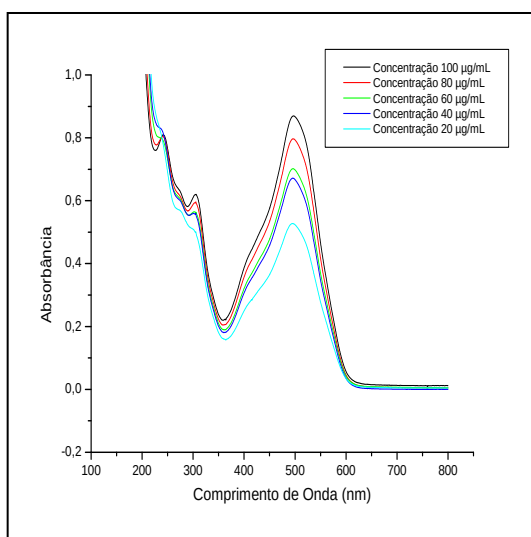


Figura 38. Espectro de absorção do corante Direct Red 23 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5 cm. Absorbância 507nm - discos.

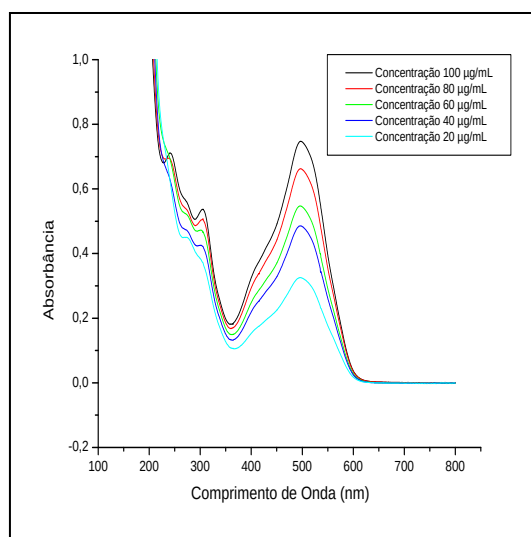


Figura 39. Espectro de absorção do corante Direct Red 23 nas seguintes concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5 cm. Absorbância 507nm - pó.

Após essas análises, todos os experimentos de biossorção e imobilização foram realizados apenas no pH 2,5.

4.4. Preparo e pesagem da *Luffa cylindrica*:

Após a obtenção das duas conformações de *Luffa cylindrica* deu-se início a pesagem dos discos homogêneos a fim de se obter pesos, aproximadamente, semelhantes para poder realizar a análise comparativa de maior eficácia no teste de bioissorção e no teste de imobilização. É válido dizer, novamente, que a *Luffa cylindrica* ou esponja vegetal é constituída por muitas fibras celulósicas entrelaçadas e, embora o preparo da malha tenha sido feito de maneira a deixá-la mais homogênea possível, isso não ocorre e mesmo para os pesos das duplicatas são observados pesos quase semelhantes, porém não iguais, de acordo com a distinta conformação das fibras em cada disco homogêneo obtido. Após o peso dos discos, o pó foi pesado de maneira a obter o mesmo valor que fora obtido para os primeiros. Na tabela 4 estão apresentadas as pesagens obtidas no experimento.

Tabela 4. Pesagem da *Luffa cylindrica* nas conformações discos homogêneos e pó.

Quantidade de discos homogêneos	Pesagem dos discos homogêneos (duplicata) -gramas	Pesagem do pó (duplicata), semelhante aos discos - gramas	Média Aritmética (gramas)
1	0,043	0,043	0,040
	0,037	0,037	
3	0,094	0,094	0,094
	0,093	0,093	
5	0,169	0,169	0,171
	0,172	0,172	
7	0,231	0,231	0,240
	0,248	0,248	
9	0,272	0,272	0,270
	0,268	0,268	

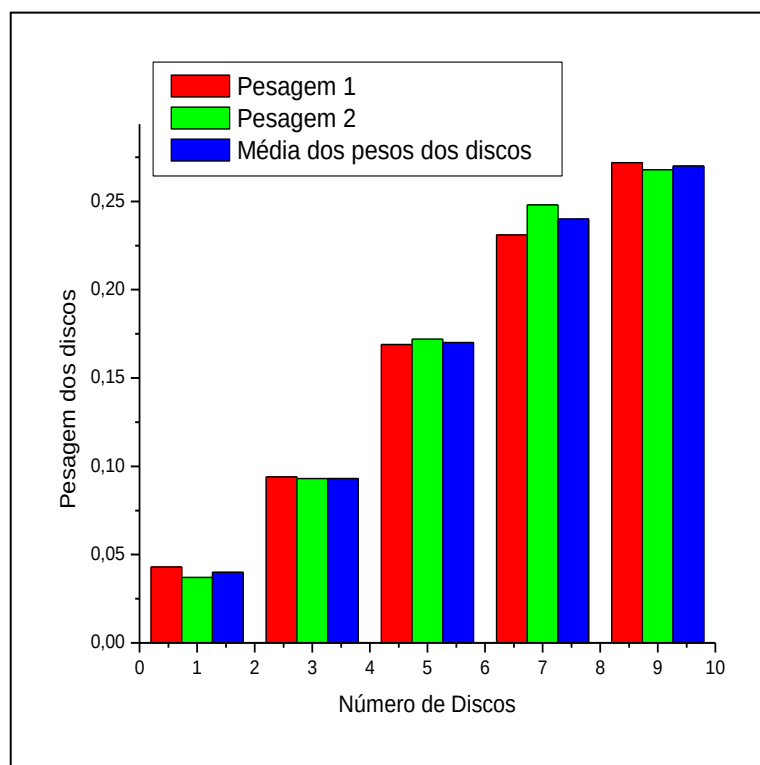


Figura 40. Representação gráfica das pesagens de *Luffa cylindrica* em discos homogêneos e em pó bem como suas médias aritméticas.

4.5. Teste de bio sorção do corante Direct Red 23 e *Luffa cylindrica*:

O teste de bio sorção foi feito por análise espectrofotométrica tanto para os discos homogêneos quanto para o pó.

No preparo da solução de corante colocou-se 9 partes de água destilada no pH 2,5 e 1 parte de corante, ou seja, 9 mL de água e 1 mL de corante. Nas tabelas 5 e 6 estão apresentadas as absorvâncias obtidas na análise espectrofotométrica no comprimento de onda máximo, que foi de 507 nm, bem como a média aritmética das duplicatas, para os discos e para o pó; respectivamente.

Após este teste as absorvâncias foram comparadas com as absorvâncias obtidas para a reta padrão do Direct Red, pH 2,5, que está representada acima no item 4.2, porém para facilitar a visualização dos dados e resultados, será apresentada novamente neste item.

Tabela 5. Análise das absorvâncias em 507 nm da reta padrão – pH 2,5.

Concentração de Corante (µg/mL)	Absorvância 507 nm
20	0,20433
40	0,4455
60	0,6845
80	0,9105
100	1,1516

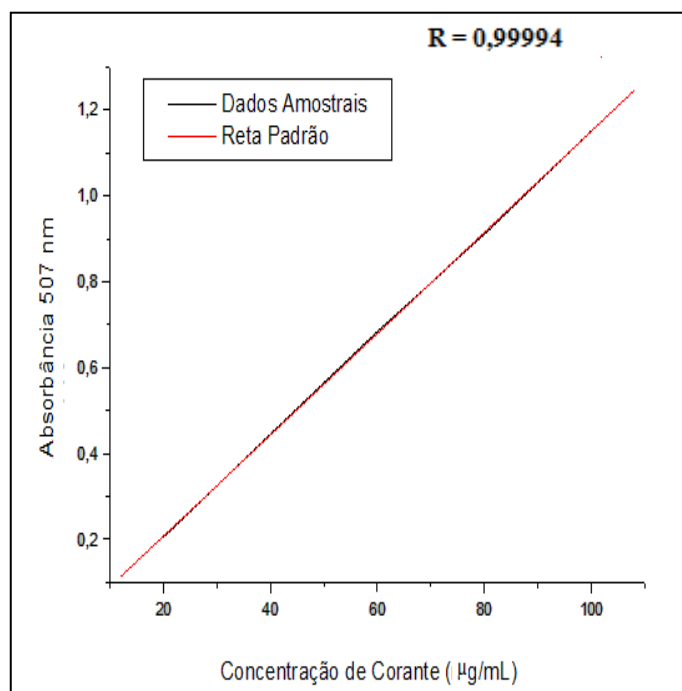


Figura 41. Reta padrão do corante Direct Red 23, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorvância 507 nm= - 0,0286 +(0,0118 * concentração do corante)
R= 0,99994

Considerando a equação da reta padrão $Y = -0,0286 + 0,0118 * X$, temos que Y corresponderá ao valor das absorvâncias obtidas para cada tubo de ensaio no teste de bioadsorção, ou seja, Y foi substituído pela média aritmética do valor lido das absorvâncias apresentadas nas tabelas 6 e 9, para os discos e pó; respectivamente. Ao realizar a substituição, foi encontrado o valor de X que correspondia à concentração de corante remanescente, ou seja, a concentração de corante que, no processo de bioadsorção, não ficou aderido ao adsorvente, neste caso, a *Luffa cylindrica*.

Conforme é sabido, foi utilizada uma concentração fixa de corante no teste (100 µg/mL), variando apenas a quantidade de *Luffa cylindrica* nos tubos teste. Para encontrar a concentração de corante adsorvido, portanto, bastou subtrair a concentração inicial (100µg/

mL) da concentração de corante remanescente encontrada e obteve-se o valor da concentração de corante adsorvido.

- **Teste de bioissorção com discos homogêneos de *Luffa cylindrica*:**

Tabela 6. Teste de bioissorção para os discos homogêneos.

Abs _{507 nm} – teste 1	Abs _{507 nm} – duplicata	Média Aritmética das Abs.
0,8746	0,9113	0,89
0,6719	0,5993	0,64
0,4864	0,4360	0,46
0,4266	0,3752	0,40
0,3278	0,3162	0,32

Tabela 7. Concentração de corante remanescente após o teste de bioissorção, para os discos.

Quantidade de discos homogêneos – Biomassa (gramas)	Concentração de Corante Remanescente (µg/mL) após o teste de Bioissorção
1 – 0,040	77,84746
3 – 0,094	56,66102
5 – 0,171	41,40678
7 – 0,240	36,32203
9 – 0,270	29,54237

Os valores ao lado dos pontos, no gráfico, representam a quantidade de biomassa (em gramas) em que se obteve determinados valores de concentração.

Graficamente temos que:

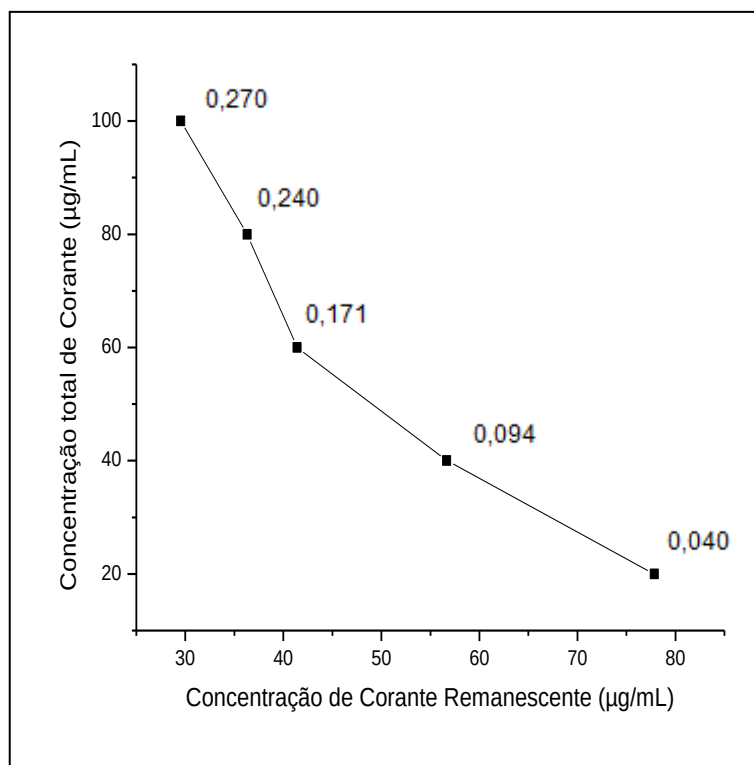


Figura 42. Concentração de corante remanescente (após a bioissorção -discos) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.

Tabela 8. Concentração de corante adsorvido no teste de bioissorção, para os discos.

Quantidade de discos – Biomassa (g)	Concentração de corante adsorvido (µg/mL)
1 – 0,040	22,15254
3 – 0,094	43,33898
5 – 0,171	58,59322
7 – 0,240	63,67797
9 – 0,270	70,45763

Graficamente temos que:

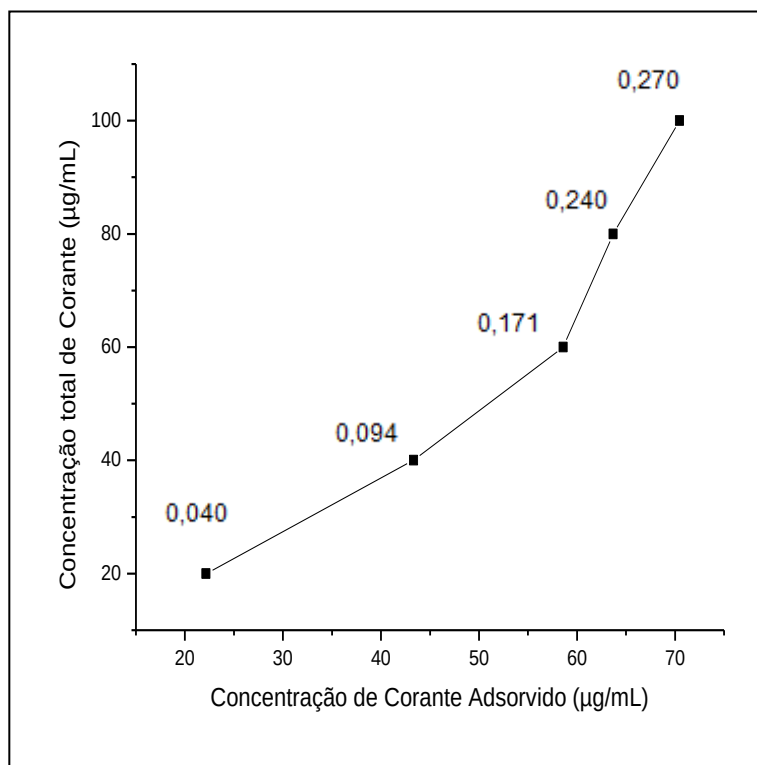


Figura 43. Concentração de corante adsorvido (após a biossorção - discos) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.

- **Teste de biossorção com pó de *Luffa cylindrica*:**

Tabela 9. Teste de biossorção para o pó.

Abs 507 nm – teste 1	Abs 507 nm – duplicata	Média Aritmética das Abs.
0,8315	0,8553	0,84
0,5909	0,5602	0,58
0,2294	0,2311	0,23
0,1399	0,1970	0,17
0,0269	0,0265	0,03

Tabela 10. Concentração de corante remanescente após o teste de bioissorção, para o pó.

Quantidade de pó equivalente aos discos homogêneos – Biomassa (gramas)	Concentração de Corante Remanescente ($\mu\text{g/mL}$) após o teste de Bioissorção
1 – 0,040	68,76271
3 – 0,094	46,72881
5 – 0,171	17,0678
7 – 0,240	12,0339
9 – 0,270	0,118644

Graficamente temos que:

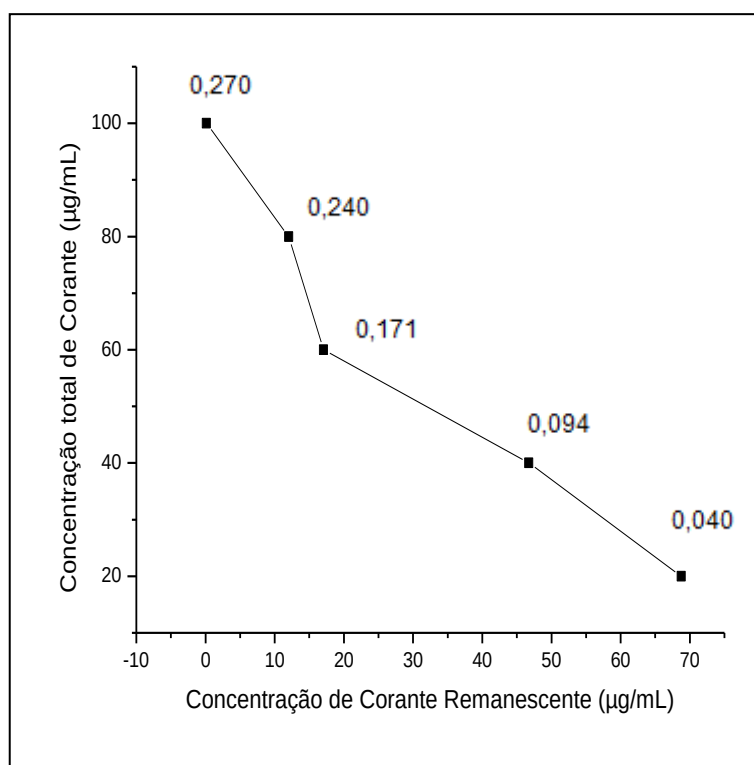


Figura 44. Concentração de corante remanescente (após a bioissorção - pó) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.

Tabela 11. Concentração de corante adsorvido no teste de bioissorção, para o pó.

Quantidade de pó equivalente aos discos – Biomassa (gramas)	Concentração de corante adsorvido ($\mu\text{g/mL}$)
1 – 0,040	31,23729
3 – 0,094	53,27119
5 – 0,171	82,9322
7 – 0,240	87,9661
9 – 0,270	99,88136

Graficamente temos que:

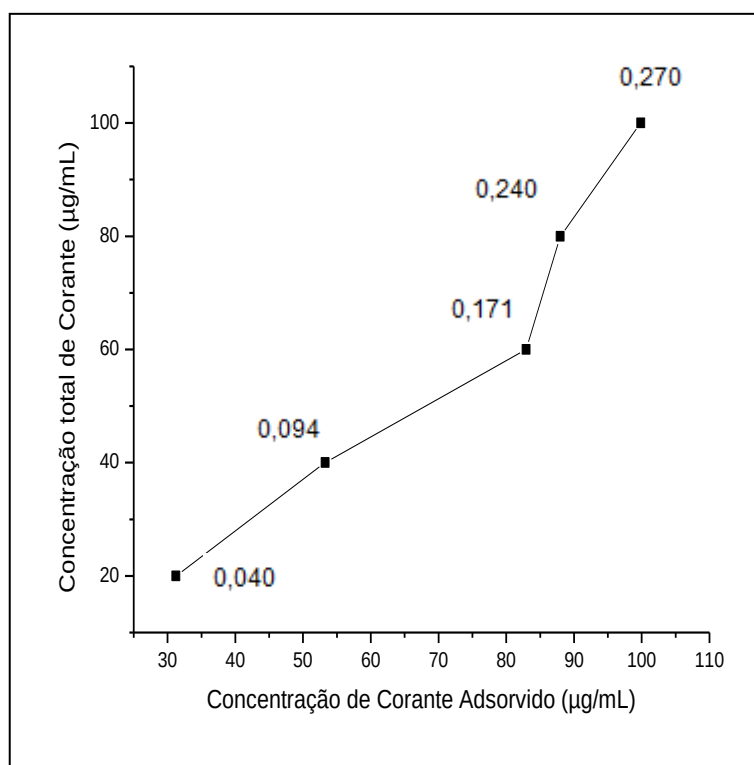


Figura 45. Concentração de corante adsorvido (após a bioissorção -pó) em função da concentração inicial (total) de corante, pH = 2,5.

4.6. Teste de imobilização com suspensão de levedura liofilizada a 0,5% e *Luffa cylindrica* como suporte imobilizante:

O teste de imobilização foi realizado a fim de se aplicar a levedura imobilizada em *Luffa cylindrica* no teste de bioissorção e verificar se há maior eficácia no teste do que apenas a bioissorção entre corante e *Luffa cylindrica*.

Conforme detalhado na metodologia, todos os tubos de ensaio contendo suspensão de leveduras 0,5% em diferentes concentrações em contato com a quantidade fixa de 0,1 gramas de *Luffa cylindrica* bem como os tubos controle foram submetidos a agitação no shaker a 180 rpm, durante 24 horas. Passado esse tempo, primeiramente foram analisados, por espectrofotometria, os tubos que compunham a reta padrão para a suspensão de leveduras, numa absorbância de 540 nm. A tabela 12 mostra a concentração de suspensão de leveduras (mg/mL) a 0,5% bem como o volume de água destilada e as absorbâncias obtidas na análise espectrofotométrica.

Tabela 12. Reta padrão para levedura liofilizada – suspensão 0,5%.

Volume de Suspensão de Leveduras 0,5% (mg/mL)	Volume de Água Destilada (mL)	Abs. 540 nm
2	8	0,452
4	6	1,225
6	4	1,276
8	2	1,706
10	0	2,023

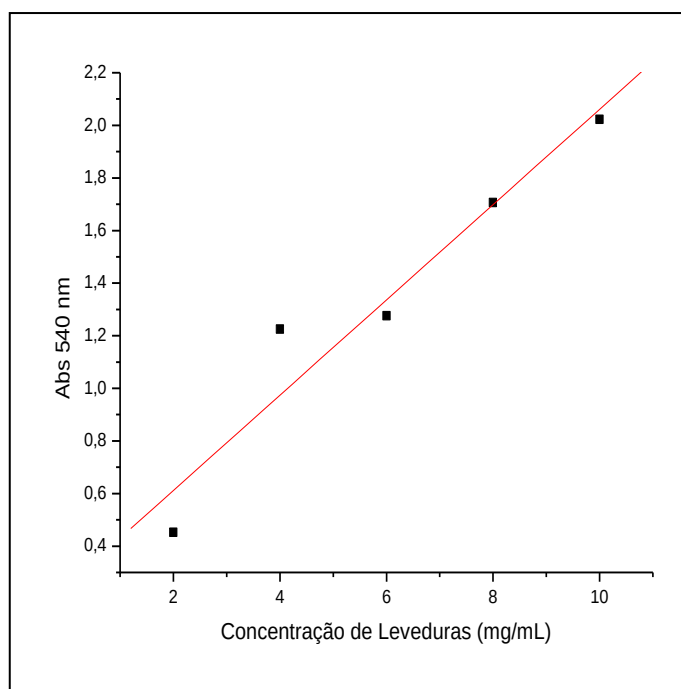


Figura 46. Reta padrão para as leveduras, caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 2, 4, 6, 8, 10mg/mL.

Absorbância 540 nm= $0,2495 + (0,18115 * \text{concentração do corante})$

R= 0,96613

4.7. Teste de imobilização com células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica*:

Depois de peneirados e colocados em tubos de ensaio para o teste de biossorção o conteúdo peneirado, sendo ele pó ou discos homogêneos, foram separados para a etapa de biossorção. Paralelamente a isso, a suspensão de leveduras liofilizada a 0,5%, que foi peneirada, ou seja, o conteúdo que passou através da peneira, foi submetido à leitura das absorbâncias de maneira que o valor obtido seria a absorbância daquilo que não ficou imobilizado (aderido) no suporte ou agente imobilizante, neste caso, a *Luffa cylindrica*.

- **Análises de imobilização para os discos homogêneos**

Tabela 13. Teste de imobilização com suspensão de levedura liofilizada 0,5% e 0,1 gramas de *Luffa cylindrica* (disco).

Concentração de Leveduras (mg/mL) – em duplicata	Abs. 540 nm	Média Aritmética das Absorbâncias
2	0,162 0,117	0,1395
4	0,262 0,287	0,2745
6	0,496 0,591	0,5435
8	0,897 0,692	0,7945
10	0,731 0,564	0,6475

Tabela 14. Teste de imobilização com suspensão de levedura liofilizada 0,5% e 0,1 gramas de *Luffa cylindrica* (pó).

Concentração de Leveduras (mg/mL) – em duplicata	Abs. 540 nm	Média Aritmética das Absorbâncias
2	0,165 0,124	0,1445
4	0,198 0,239	0,2185
6	0,254 0,251	0,2525
8	0,502 0,43	0,4660
10	0,253 0,265	0,2590

Conforme fora feito no primeiro teste de Biossorção, neste caso foi feito o mesmo procedimento: Obteve-se a equação da reta da levedura $Y = 0,2495 + 0,18115 * X$.

O Y foi substituído pela média das absorbâncias encontradas no teste de imobilização, nas tabelas 13 e 14 para os discos e pó, respectivamente. Ao substituir Y pelas absorbâncias, encontramos o X que correspondeu à concentração de leveduras livres, neste caso, ou seja, aquelas leveduras que não foram imobilizadas e peneiradas em *Luffa cylindrica*.

Contudo, se conseguimos a concentração de leveduras livres bem como a concentração de leveduras que havia inicialmente, antes da imobilização, ao realizar uma subtração, obteve-se a concentração de leveduras que foram imobilizadas.

Tabela 15. Teste de imobilização do corante Direct Red 23 com *S. cerevisiae* imobilizado em *L. cylindrica* – Discos homogêneos.

Concentração de leveduras na suspensão inicial (mg/mL)	Concentração de leveduras livres na suspensão (mg/mL)
2	0
4	0,138007
6	1,622964
8	3,008556
10	2,197074

Tabela 16. Teste de imobilização do corante Direct Red 23 com *S. cerevisiae* imobilizado em *L. cylindrica* – Pó.

Concentração de leveduras na suspensão inicial (mg/mL)	Concentração de leveduras livres na suspensão (mg/mL)
2	0
4	0
6	0,016561
8	1,195142
10	0,052443

Após todas as análises foi feita uma correlação:

$\text{Correlação: [levedura inicial]} - [\text{leveduras livres}] = [\text{leveduras imobilizadas}]$

Então temos que:

- Para os Discos Homogêneos:
 1. $2 - 0 = 2\text{mg/mL}$ de leveduras imobilizadas
 2. $4 - 0,138007 = 3,86\text{ mg/mL}$ leveduras imobilizadas
 3. $6 - 1,622964 = 4,38\text{ mg/mL}$ leveduras imobilizadas
 4. $8 - 3,008556 = 5,0\text{ mg/mL}$ leveduras imobilizadas
 5. $10 - 2,197074 = 7,80\text{ mg/mL}$ leveduras imobilizadas

- Para o Pó:
 1. $2 - 0 = 2\text{mg/mL}$ de leveduras imobilizadas
 2. $4 - 0 = 4\text{mg/mL}$ de leveduras imobilizadas
 3. $6 - 0,017 = 5,98\text{mg/mL}$ leveduras imobilizadas
 4. $8 - 1,195142 = 6,80\text{ mg/mL}$ leveduras imobilizadas
 5. $10 - 0,052443 = 9,95\text{ mg/mL}$ leveduras imobilizadas

4.8. Teste de bioissorção do corante Direct Red 23 utilizando células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica*:

Considerando a etapa final deste trabalho, partiu-se para o teste de bioissorção, desta vez, utilizando células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica* no pH 2,5.

Novamente utilizou-se a reta padrão do corante Direct Red 23 para o pH 2,5 bem como a equação da reta, que serão novamente apresentadas neste item, facilitando as análises e visualizações. A substituição dos valores na equação da reta ocorreu da mesma forma como na bioissorção utilizando apenas *Luffa cylindrica* como adsorvente e obteve-se o valor da concentração de corante remanescente, posteriormente subtraída do valor da concentração inicial de corante ($100\mu\text{g/mL}$) e obteve-se o valor da concentração de corante adsorvido.

Tabela 17. Análise das absorbâncias em 507 nm da Reta padrão – pH 2,5

Concentração de Corante ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância 507 nm
20	0,20433
40	0,4455
60	0,6845
80	0,9105
100	1,1516

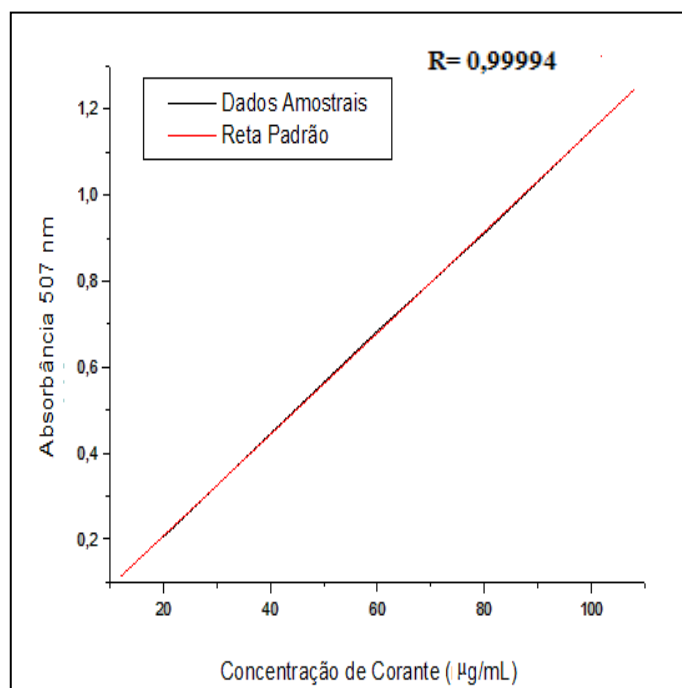


Figura 47. Reta Padrão do corante Direct Red 23, pH 2,50 e caminho óptico de 0,5cm, para as concentrações: 20, 40, 60 80, 100µmg/mL.
Absorbância 507 nm= - 0,0286 +(0,0118 * concentração do corante)

- **Teste de bio sorção, após imobilização, com discos homogêneos de *Luffa cylindrica*:**

Tabela 18. Teste de bio sorção, após imobilização para os discos homogêneos.

Abs 507 nm – teste 1	Abs 507 nm – duplicata	Média Aritmética das Abs.
0,1488	0,2466	0,1977
0,1748	0,1167	0,1458
0,0842	0,0911	0,0877
0,0465	0,0366	0,0416
0,0343	0,0281	0,0312

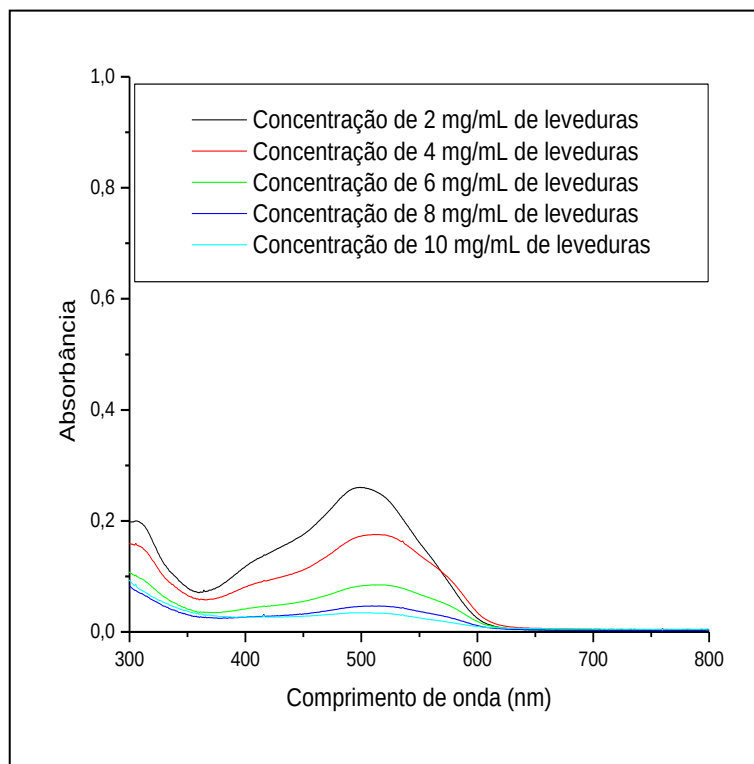


Figura 48. Espectro da biossorção entre células de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica* e Direct Red 23 – Disco, λ .540 nm e caminho óptico de 0,5cm.

Tabela 19. Concentração de corante remanescente no teste de biossorção, após imobilização, para os discos.

Concentração inicial da Suspensão de Leveduras 0,5% (mg/mL)	Concentração de Corante Remanescente (μ g/mL) após o teste de Biossorção
2	19,17797
4	14,77542
6	9,851695
8	5,944915
10	5,067797

Os valores ao lado dos pontos, no gráfico, representam a concentração de leveduras (em mg/mL) em que se obteve determinados valores de concentração de corante.

Graficamente temos que:

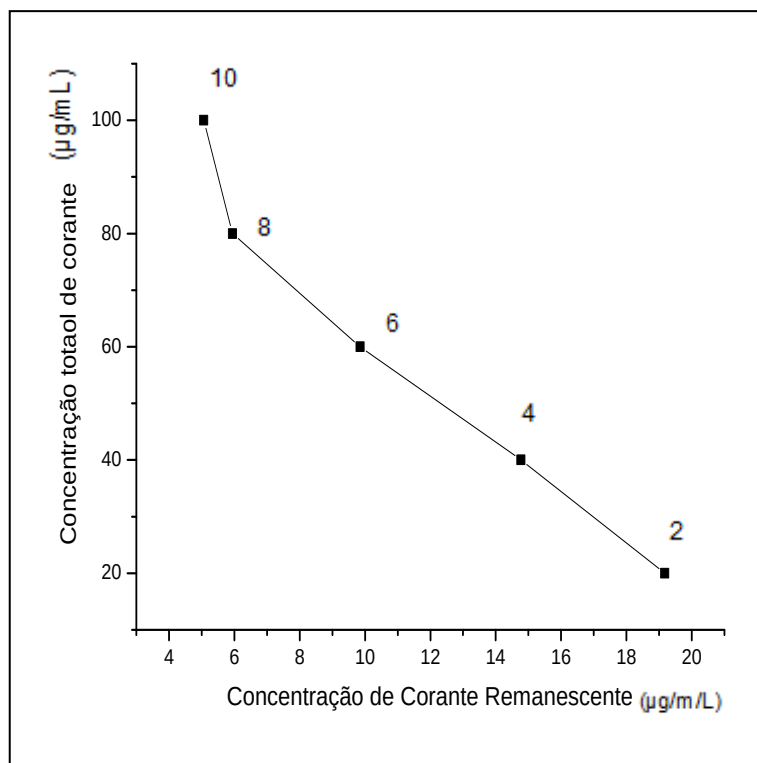


Figura 49. Concentração de corante remanescente (após imobilização e bioissorção - discos) em função da concentração inicial (total) de corante.

Tabela 20. Concentração de corante adsorvido no teste de bioissorção, após imobilização, para os discos.

Concentração inicial da Suspensão de Leveduras 0,5% (mg/mL)	Concentração de corante adsorvido (µg/mL)
2	80,8220
4	85,22458
6	90,14831
8	94,05508
10	94,9322

Graficamente temos que:

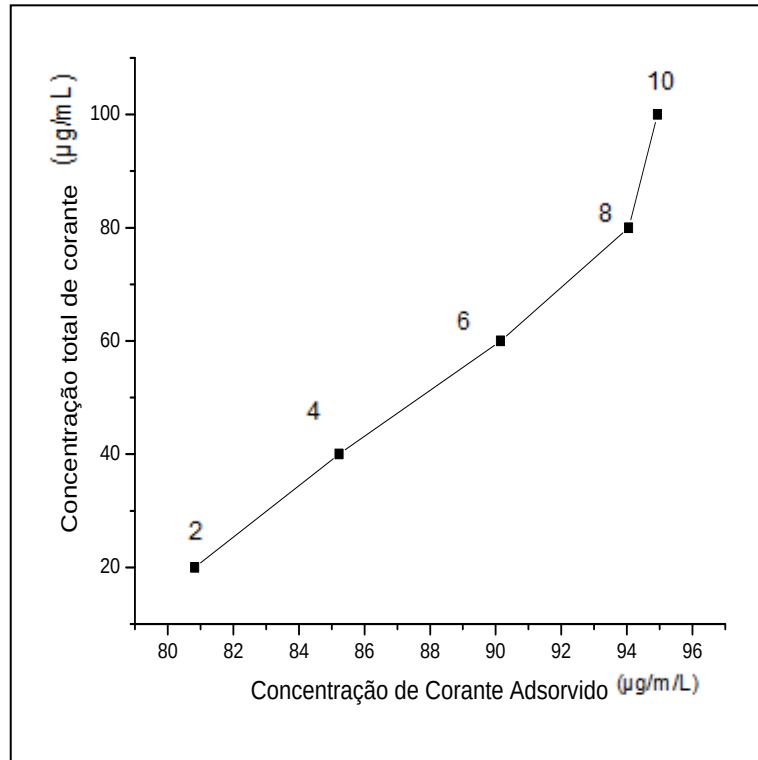


Figura 50. Concentração de corante adsorvido (após imobilização e bioadsorção - discos) em função da concentração inicial (total) de corante

- **Teste de bioadsorção, após imobilização, com pó de *Luffa cylindrica*:**

Tabela 21. Teste de bioadsorção para o pó, após imobilização.

Abs 507 nm – teste 1	Abs 507 nm – duplicata	Média Aritmética das Abs.
0,2574	0,0493	0,1534
0,1031	0,1245	0,1138
0,0388	0,0307	0,0348
0,0185	0,0151	0,0168
0,0099	0,0089	0,0094

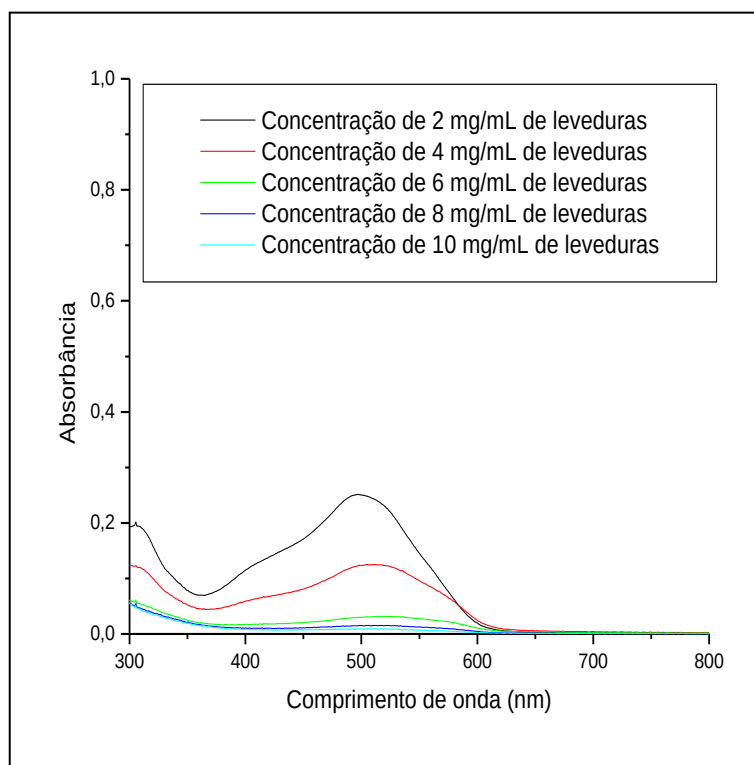


Figura 51. Espectro da biossorção entre células de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica* e Direct Red 23 – Pó, λ .540 nm e caminho óptico de 0,5cm.

Tabela 22. Concentração de corante remanescente no teste de Biossorção, após imobilização, para o pó.

Concentração inicial da Suspensão de Leveduras 0,5% (mg/mL)	Concentração de Corante Remanescente (μ g/mL) após o teste de Biossorção
2	15,41949
4	12,0678
6	5,368644
8	3,847458
10	3,220339

Graficamente temos que:

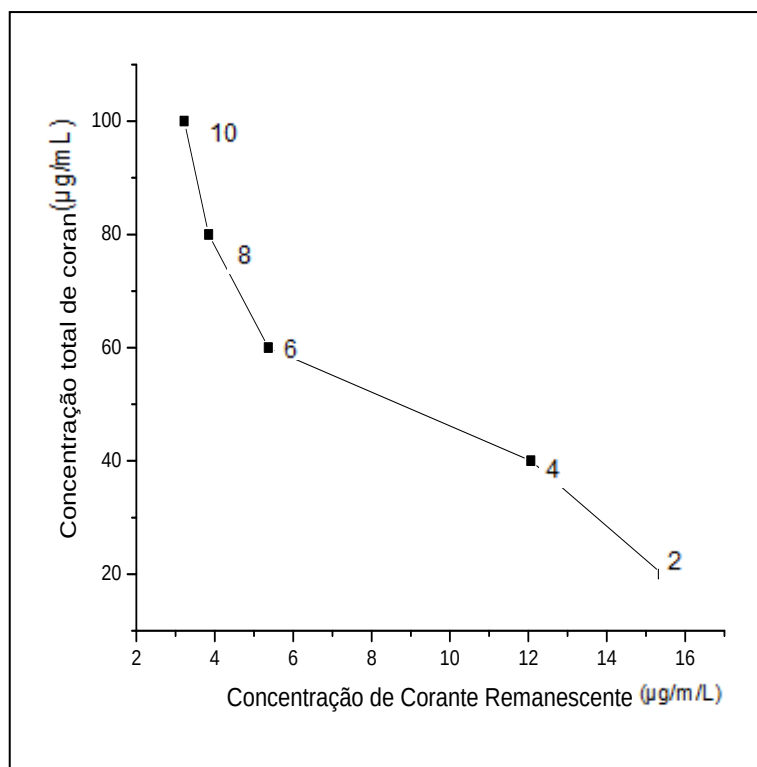


Figura 52. Concentração de Corante Remanescente (após imobilização e biossorção - pó) em função da Concentração inicial (total) de Corante.

Tabela 23. Concentração de corante adsorvido no teste de biossorção, após imobilização, para o pó.

Concentração inicial da Suspensão de Leveduras 0,5% (mg/mL)	Concentração de corante adsorvido (µg/mL)
2	84,5805
4	87,9322
6	94,63136
8	96,15254
10	96,77966

Graficamente temos que:

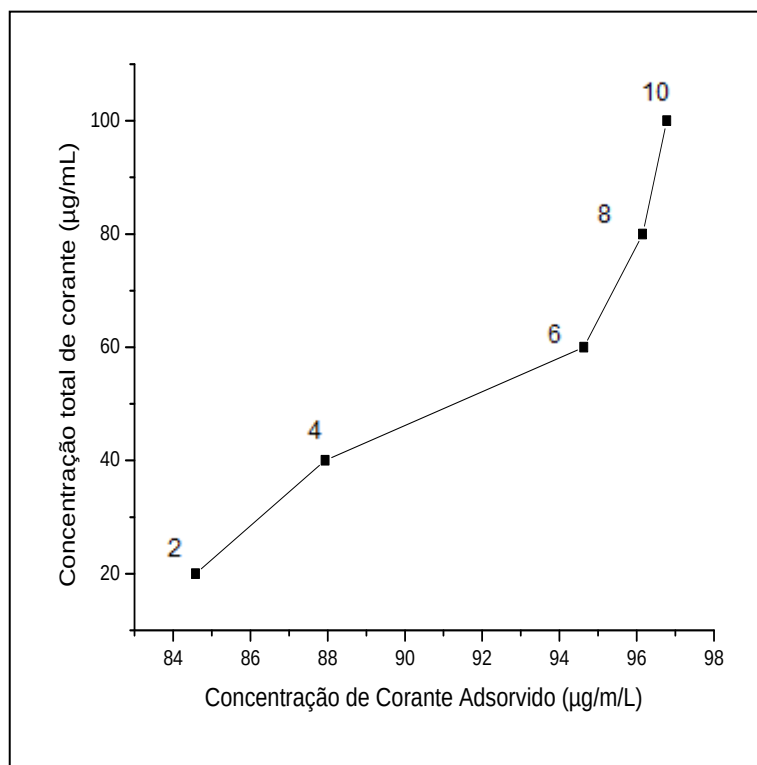


Figura 53. Concentração de Corante Adsorvido (após imobilização e biossorção - pó) em função da Concentração inicial (total) de Corante.

5. DISCUSSÃO

Considerando todos os resultados obtidos, após a leitura das varreduras espectrais bem como a obtenção das retas padrão de cada corante estudado, nos três pH's referidos, 2,5; 4,5 e 6,5, concluiu – se que o corante escolhido para os seguintes testes seria o Direct Red 23, de acordo com alta estabilidade, precisão de dados, varredura e reta padrão. É válido lembrar que o corante Orange Procion H₂R apresentou instabilidade, uma vez que os valores de inclinação da reta, na equação, foram muito diferentes, sendo de 0,000455 para o pH 2,5; 0,01153 para o pH 4,5 e 0,01542 para o pH 6,5. Enquanto isso o corante Direct Red 23 apresentou valores muito próximos, sendo 0,0118 para o pH 2,5; 0,011 para o pH 4,5 e 0,010 para o pH 6,5. Podemos, também, inferir, ao analisar as varreduras, que o comprimento de onda de máxima absorbância do Direct Red 23 é de 507 nm e Orange Procion H₂R é de 487,5 nm.

Já, finalmente, no teste piloto de bioadsorção, com o corante Direct Red 23, observou-se que o pH que mostrou maior eficácia no processo de remoção foi o 2,5, de acordo com a tabela 3, onde a menor concentração de corante remanescente apresentada é no pH 2,5, sendo de 34, 50 µg/mL e 50,58 µg/mL para os testes de bioadsorção com *Luffa cylindrica* em pó e em discos homogêneos, respectivamente. Em outras palavras significa que as moléculas do corante ficaram mais retidas na *Luffa cylindrica* no pH 2,5, principalmente na conformação em pó, uma vez que apresenta maior superfície de contato, ou seja, maior disponibilidade para a aderência das moléculas de corante. É válido dizer que ao observar que o melhor pH para o processo de bioadsorção foi o 2,5 bem como que o corante escolhido foi o Direct Red 23, nas etapas seguintes só foram analisados e utilizados dados e testes obtidos neste pH e com este corante, citados.

Sabe-se a *Luffa cylindrica* é um emaranhado de fibras celulósicas que se dispõe de maneira multidirecional e não homogênea. Portanto, nas pesagens, tanto para o teste de bioadsorção quanto para o teste de imobilização, considerando que foram realizados em duplicata, foi extremamente impossível obter a mesma pesagem dos discos homogêneos, uma vez que embora tenham tamanhos padronizados – 12 mm de diâmetro X 3 mm de altura, a conformação de fibras em cada disco era distinta e explica a alteração no valor das pesagens. Mesmo assim, pode-se dizer que 0,1 gramas, para o teste de imobilização eram, em média, 3 discos. Já para os discos que eram pesados para o teste de bioadsorção entre Direct Red 23 e *Luffa cylindrica*, apenas, o valor das pesagens de 1, 3, 5, 7 e 9

discos, em duplicata, era sempre muito próximo e também foram feitas médias aritméticas dos dois valores que eram obtidos, conforme nota-se na tabela 4 e figura 40.

O teste foi de bioissorção entre Direct Red 23 e *Luffa cylindrica*, foi feito com uma concentração fixa de corante diluído em água destilada no pH 2,5, o qual compunha 9 mL de água e 1 mL de corante. Após 120 minutos de contato e em B.O.D a 30 °C, a leitura das absorbâncias, em 507 nm, foi feita e comparada.

No teste de bioissorção para os discos homogêneos, de acordo com as absorbâncias obtidas na tabela 6, observou-se que a absorbância diminuiu cada vez mais, seguindo um parâmetro inversamente proporcional com a quantidade de discos, que vão aumentando em cada tubo teste. Observa-se, por exemplo, que no tubo 1 a média da absorbância foi de 0,89, contendo um disco, enquanto no tubo 5 a média da absorbância foi de 0,32, contendo 9 discos. Pode-se inferir que está havendo bioissorção, ou seja, a *Luffa cylindrica* esta atuando como um adsorvente potencial na remoção do corante Direct Red 23, sendo que à medida que sua quantidade aumenta, a remoção é ainda maior.

A comprovação do processo de bioissorção ocorre quando observa-se as tabelas 7 e 8 bem como as figuras 42 e 44, onde tem-se a concentração de corante remanescente obtida da substituição do valor das médias das absorbâncias na equação da reta padrão, para o corante Direct Red 23, conforme já foram descritos no item “Resultados”.

Ao observar a tabela 7 nota-se que a concentração de corante remanescente é cada vez menor à medida que aumenta a quantidade de discos. Em outras palavras, à medida que aumenta a quantidade de discos adicionados em cada tubo, ocorre cada vez mais uma interação do material com as moléculas do corante convergindo para a adsorção deste, consequentemente, diminuindo a concentração de corante remanescente na solução.

Por esse motivo, o gráfico que representa a concentração de corante inicial em função da concentração de corante remanescente é uma “curva” em declínio, uma vez que essa concentração é cada vez menor. Em contrapartida, o que se observa na tabela 8 e figura 43 é que há um aumento da concentração de corante adsorvido devido ao fato de adições de discos que aumentam o nível bioissorativo e, consequentemente, geram um gráfico de curva gradualmente crescente.

Para o teste de bioissorção com a *Luffa cylindrica* em pó, o princípio bem como os processos ocorrentes são os mesmos explicados anteriormente, porém, nota-se, na tabela 9, que as absorbâncias obtidas foram menores do que as apresentadas na bioissorção com os discos homogêneos. No tubo 1, a média aritmética da absorbância, 507 nm, chega a 0,84, enquanto no tubo 5, a média é de 0,03. Esses dados mostram que houve uma

biossorção muito significativa e bem mais eficiente do que a biossorção feita com os discos homogêneos, já que para uma mesma concentração de corante e mesma quantidade (pesagem) de *Luffa cylindrica* em pó, a absorbância é menor. Em outras palavras, a eficácia do processo de biossorção do corante Direct Red 23 é maior quando utiliza-se *Luffa cylindrica* em pó, uma vez que tem maior superfície de contato entre o adsorvente e as moléculas do corante utilizado, possibilitando baixas taxas de corante remanescente, que demonstram que ocorreu muito mais adsorção entre as moléculas e o material.

Já para o teste de imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica*, o desafio maior deste teste foi que não havia nenhum protocolo ou artigo que definia uma metodologia ideal para a imobilização feita com *Luffa cylindrica*. Em decorrência foram feitos inúmeros testes e tentativas a fim de encontrar um bom resultado, que fosse significativo e eficaz para a técnica de imobilização.

Contudo, a imobilização procedeu com 0,1 gramas de *Luffa cylindrica* em pó e em discos homogêneos, sendo que variava os volumes de água e suspensão de leveduras liofilizadas 0,5%, adicionados. Após 24 horas em contato foram lidas as absorbâncias da reta padrão para as leveduras, conforme observa-se na tabela 12 bem como as soluções restantes do peneiramento da *Luffa cylindrica* com o que ficou aderido nela.

Observando as tabelas 13 e 14, nota-se que para o teste de imobilização, as médias aritméticas das absorbâncias obtidas, em 540 nm, foram aumentando e decaiu no último tubo, mas mesmo assim não há um padrão que estipule uma proporcionalidade para as absorbâncias obtidas. O esperado era que, quanto maior o volume de suspensão de leveduras que fosse sendo adicionado, maior seria a imobilização. De fato isso ocorreu, porém quando observa-se a leitura das absorbâncias da concentração de suspensão de células livres, ou seja, daquilo que passou pela peneira, nota-se uma discrepância. Provavelmente isso pode ser explicado de acordo com a disposição não homogênea e multidirecional das fibras celulósicas da *Luffa cylindrica* e, dependendo da sua disposição, otimizará a aderência ao material ou não. Mesmo assim é possível notar que as médias aritméticas das absorbâncias obtidas na imobilização de *Saccharomyces cerevisiae* com o pó são menores, ou seja, já prova que a imobilização é mais eficiente quando utiliza-se *Luffa cylindrica* em pó.

Para comprovar essa inferência, as médias aritméticas das absorbâncias encontradas para a suspensão de leveduras livres, nos testes com discos e com o pó, foram substituídas na equação da reta padrão da suspensão de leveduras liofilizadas a 0,5%. Com isso, foi encontrado o valor das concentrações de leveduras livres na suspensão.

Notou-se um aumento das concentrações de células livres à medida que foi aumentando o volume de suspensão que era adicionado em cada tubo teste. No caso da imobilização com os discos observa-se que no tubo 1, onde havia 2 mL de suspensão de leveduras, a concentração de células livres foi de zero, enquanto que no tubo 5, onde havia 10 mL de suspensão de leveduras, a concentração de células livres foi de 2,19 mg/mL. Já para o pó, notou-se que nos tubos 1 e 2 a concentração de células livres foi de zero, enquanto que no tubo 5 a concentração de células livres foi de 0,05 mg/mL, ou seja houve um alto grau de imobilização chegando a zero ou a quase zero a concentração de células livres na solução analisada. Isso corroborou com o que era esperado, já que, novamente, o pó apresentou-se mais eficaz no processo em detrimento dos discos, pois, ainda que a imobilização ocorra em ambos os casos, o pó possui maior superfície de contato, gerando maior aderência de células de *Saccharomyces cerevisiae* no material.

Finalmente pode-se inferir, com esses dados, que houve imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* em *Luffa cylindrica*, uma vez que a concentração de células inicial foi alterada e diminuiu muito quando comparou-se com a concentração de células livres após o processo de imobilização, tanto para os discos quanto para o pó, ainda que o pó seja mais eficiente, reunindo maior número de células imobilizadas para uma mesma quantidade de material.

Todavia, nota-se também que à medida que o volume adicionado de suspensão de leveduras aumenta, num dado momento, aumenta a concentração de células livres em suspensão, provando que deve haver um grau de saturação entre o suporte (*Luffa cylindrica*) e as células que serão imobilizadas, e quando ocorre essa saturação, não há mais imobilização, a não ser que seja adicionado uma quantidade maior de suporte, caso contrário, observa-se um aumento da concentração de células livres na suspensão.

Através da correlação apresentada no item “Resultados”, obteve-se, também, os valores das concentrações de células imobilizadas e verifica-se que são crescentes e que o pó imobiliza muito mais células para uma mesma quantidade (0,1 gramas).

Contudo segue-se para o teste de biossorção do corante Direct Red 23 com células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica* (pó e discos homogêneos). São observados os mesmo procedimentos que foram descritos no processo da biossorção do corante apenas com a *Luffa cylindrica*. O único diferencial é que o adsorvente, neste caso, foram as leveduras imobilizadas em um suporte – *Luffa cylindrica*. Como já se sabe, a *Luffa cylindrica* possui um papel potencial como adsorvente. Nas tabelas 18 e 21 observa-se as absorbâncias bem como as médias aritméticas destas nos testes de

biossorção tanto para os discos quanto para o pó e notam-se valores muito inferiores àqueles apresentados na biossorção utilizando apenas *Luffa cylindrica* como adsorvente. Neste caso obteve-se, no tubo 1, dos discos, uma absorbância de 0,19 e no tubo 5 uma absorbância de 0,03. Já para o pó, o tubo 1 apresentou absorbância de 0,03 e o tubo 5 foi de 0,009. É nítido e completamente perceptível que o processo de biossorção realizado com células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em *Luffa cylindrica* é muito mais eficiente e remove quantidades maiores de moléculas de corante, para uma mesma concentração. A biossorção com pó e células imobilizadas é ainda maior haja visto as absorbâncias obtidas muito baixas bem como as concentrações de corante remanescente. Já as concentrações de corante adsorvido são muito mais altas do que quaisquer outras obtidas e é possível confirmar esse pressuposto ao observar a tabela 23 que apresenta as concentrações de corante adsorvido. Nota-se que no tubo 5 quase 100% de corante existente na solução foi adsorvido por esse processo de biossorção.

6. CONCLUSÃO

Considerando todos os resultados e discussões obtidos neste trabalho, conclui-se que o corante Orange Procion H2R foi testado e descartado devido a seus valores da inclinação da reta, na equação, apresentarem discrepantemente corroborando com a idéia de instabilidade.

De acordo com as análises das varreduras espectrais, retas padrão, fórmulas moleculares e estruturais bem como outras características dos corantes, o Direct Red 23 foi o corante selecionado para os testes, uma vez que se mostrou o mais estável com resultados altamente precisos e significativos.

O pH selecionado para os testes realizados foi o 2,5 porque apresentou maior eficácia nos testes piloto de bioissorção.

Em relação ao teste de bioissorção com *Luffa cylindrica* em pó e em discos homogêneos, notou-se que ambos têm potencial bioissorativo, embora a conformação em pó seja mais eficaz removendo muito mais moléculas de corante, para uma mesma quantidade utilizada em discos homogêneos.

A *Luffa cylindrica* também se apresentou como um ótimo suporte ou agente imobilizante no teste de Imobilização, sendo que, mais uma vez, a conformação em pó assume maior eficácia no processo, ou seja, imobilizou maior número de células de leveduras para uma mesma quantidade utilizada em discos homogêneos (0,1 gramas) e quando aplicou-se as leveduras imobilizadas em *Luffa cylindrica* no teste de bioissorção observou-se melhora na remoção do corante Direct Red 23 da solução tanto para os discos homogêneos quanto para o pó. Todavia, notou-se que o pó, novamente, apresentou maior eficácia no processo removendo grandes quantidades, quase totais, de corante na solução, ou seja, obteve-se as menores concentrações de corante remanescente e as maiores concentrações de corante adsorvido.

Contudo, conclui-se que a *Luffa cylindrica* é um agente potencial tanto para adsorvente como para suporte de imobilização bem como as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* apresentam alto poder bioissorativo para efluentes têxteis.

Além disso, este trabalho conclui um dos objetivos cruciais para as metas atuais de bioissorção que é encontrar um agente imobilizante que obtenha elevado grau de imobilização para microrganismos, em especial as leveduras, que apresentam um elevado potencial adsorativo, porém quando utilizadas em suspensão dificultam o processo no momento de separação entre efluente e biomassa. Quando encontra-se um suporte

imobilizante potencial para tais células é de extremo interesse uma vez que elas deixam de ficar em suspensão e aderem a um suporte que decanta no fundo dos biorreatores e outros tanques possíveis utilizados em técnicas de bioadsorção, promovendo uma separação fácil e prática entre efluente e biomassa, além de potencializar o processo ao utilizar um suporte imobilizante que também apresenta grau adsorativo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRAHANT, E. N.; Dyes and Their Intermediates. **Edward Arnold Ltd.**, London, 1977.
2. **ÁGUA**: Wikipedia. Apresenta um conjunto de informações específicas para determinado assunto. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/%C3%81gua>. Acesso em 13 jul .2011.
3. AL-DEGS, Y.; KHRAISHEH, M. A. M.; ALLEN, S. J.; AHMAD, M. N. Effect of Carbon on the Removal of Reactive Dyes from Textile Effluent. **Water Research**, v. 34, n. 3, p. 927, 2000.
4. **ANÁLISE instrumental aplicada a polímeros**. Apresenta informações químicas específicas e conceitos gerais. Disponível em: http://chasqueweb.ufrgs.br/~ruth.santana/analise_instrumental/aula5b.html. Acesso em: 18 set. 2011.
5. BARBOSA, J. R. **Estudo da interação biossorbitiva entre os corantes Direct Red 23 e Reative Procion Red HE7B e células de *Saccharomyces cerevisiae***, UNESP, p. 93, Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada). Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro-SP, 1995.
6. BOYNARD, C. A. & D'ALAMEID, J. R. M. Polym. Plast. **Technol. & Eng.**, v. 39, p. 489, 2000.
7. BROWN, M. A.; DEVITO, S.C. Predicting azo dye toxicity. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol**, v. 23, p. 249, 1993.
8. CASTELLEN, M. S. **Estudo da toxicidade na interação entre turfa irradiada por ultra-som e corantes azóicos em solução aquosa**, UNESP, 43p. (Monografia Bacharelado em Ecologia). Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro-SP, 1996.

9. CERQUEIRA, W. **Água**. Equipe Brasil Escola. Apresenta textos sobre várias temáticas vinculadas ao ensino desde Artes até Sociologia. Disponível em: <http://www.brasilecola.com/geografia/agua.htm>. Acesso em 23 mar. 2011.
10. CHEUNG, I. H. S.; GISHEN, M.; GHOSH, P. EPAMMANT, N. B. Continuous ethanol-production in an immobilized whole cell fermenter using untreated sugarcane bagasse as carrier. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 23, n. 6, p. 413-416, Mar., 1986.
11. CHOU, C. C.; JASOVISKY, G. A. Advantages of Ecosorb precoats in liquid sugar production. **International Sugar Journal**, Glamorgan, v. 95, n. 1138, p. 425-430, 1993.
12. CORREIA, I. S. **Biologia**. Grupo de Ciências Biológicas do IST, online, 2011. Apresenta informações específicas sobre assuntos de biologia e outros. Disponível em: <http://www.e-escola.pt/pagina.asp?id=1298&canal=biologia>. Acesso em: 18 set. 2011.
13. CORSO, C. R.; DOMINGOS, R.N; EPIPHANIO, R.; TREVISOLI, C. Estudo da interação adsorbtiva entre carvão de osso e o corante Direct Violet 51 em solução aquosa. **In: Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados**, 25., 1997, São Carlos, 1997, p. 32.
14. COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, R. Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 28, n.2, p. 143-160, jul./dez., 2007.
15. CUTOLO, S. A.; ROCHA, A. A. Reflexões sobre o uso de águas residuárias na cidade de São Paulo. **Saúde e Sociedade**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 89-105, 2002.
16. FENG, K-C.; ROU, T-M.; LIU, B-L.; TZENG, Y-M.; CHANG, Y-N. Effect of fungal pellet size on the high yield production of destruxin B by *Metarhizium anisopliae*. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 34, n. 1, p. 22-25, 2003.

17. FREEMAN, A.; LILLY, M. D. Effect of processing parameters on the feasibility and operational stability of immobilized viable microbial cells. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 23, n. 5, p. 335-345, 1998.
18. GEMEINER, P.; STEFUCA, V.; BALES, V. Biochemical engineering of biocatalytic immobilized on cellulosic materials. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v.15, p. 551-556, 1993.
19. GUARATINI, C.C.I; ZANONI, M.V.B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v.23, n. 1, p. 71 – 78, 2000.
20. HOLME, I. Ecological aspects of colour chemistry. In: J. Griffiths, Editor, **Developments in the Chemistry and Technology of Organic Dyes**, Blackwell Scientific, Oxford. Critical reports on applied chemistry, v. 7, p.111-128, 1984.
21. HOUK, V. S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents. **Wat. Res.**, v. 91, p. 277, 1992.
22. JUNTER, G. A.; JOUENNE, T. Immobilized viable microbial cells: from the process to the proteome in leader or the cart before the horse. **Biotechnology Advances**, New York, v. 22, n. 8, p. 633-658, 2004.
23. KADIRVELU, K.; PALANIVAL, M.; KALPANA, R.; RAJESWARI, S. Activated carbon from an agricultural by product, for the treatment of dyeing industry waste water. **Biores.Technol.**, v. 74, p. 263 – 265, 2000.
24. KAMIDA, H. M.; DURRANT, L. R. Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, Piracicaba, v. 28, p. 629 – 632, 2005.
25. KOURKOUTAS, Y.; MCERLEAN, C.; KANELLAKI, M.; HACK, C. J.; MARCHANT, R.; BANAT, I. M.; KOUTINAS, A. A. High-temperature wine making using the thermotolerant yeast strain *Kluyveromyces marxianus* IMB3. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 112, n. 1, p. 25-35, 2004.

26. KUNZ, A.; REGINATTO, V.; DURAN, N. Combined treatment of textile effluent using the sequence *Phanerochaete chrysosporium*-ozone. **Chemosphere**, v. 44, p. 281, 2001.
27. KUNZ, A.; ZAMORA, P. P. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 78-82, 2002.
28. MORAIS, L. C.; FREITAS, O. M.; GONÇALVES, E. P.; Vasconcelos, L. T.; BECA, C. G. G. Reactive dyes removal from wastewaters by adsorption on eucalyptus bark: variables that define the process. **Wat. Res.**, v. 33, p. 979 – 988, 1999.
29. NAGLIS, M. M. M. & D´ALMEID, J. R. M. - “Aspectos do Emprego de Fibras Naturais Como Reforço em Compósitos: Análise da Morfologia da *Luffa Cilíndrica*”, **In: Anais do MICROMAT**, 4., 1994, São Carlos – SP, 1994, p. 575.
30. NICOLET, L.; ROTT, U. Recirculation of powdered activated carbon for the adsorption of dyes in municipal wastewater treatment plants. **Wat. Sci Technol.**, v. 40, p. 191, 1999.
31. NILSON, R. **Brit. J. Ind. Med.**, v. 28, p. 169, 1993.
32. NINGAM, P.; BANAT, I.M.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. **Process Biochemistry**, London, v. 31, n.5, p. 435- 442, 1996.
33. NO, H.K.; MEYERS, S.P. Application of chitosan for treatment of wastewaters. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 1, p. 163, 2000.
34. O’NEIL, C.; HAWKES, F.R.; HAWKES, D.L., LOURENCO, N.D.; PINHHEIRO, H.M.; DELEE, W. Colour in textile effluents – sources, measurement, discharge consents and simulation. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, v. 74, p. 1009, 1999.

35. OGBONNA, J. C.; MASHIMA, H.; TANAKA, H. Scale up of fuel ethanol production from sugar beet juice using loofa sponge immobilized bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 76, n. 1, p. 1-8, 2001.
36. OGBONNA, J. C.; TOMIYAMA, S.; TANAKA, H. Development of a method for immobilization of no flocculating cells in loofa (*Luffa cylindrica*) sponge. **Process Biochemistry**, London, v. 31, n. 8, p. 737-744, 1996.
37. PALMA, C.; MOREIRA, M. T.; MIELGO, I.; FEIJO, G.; Lema, J.M. Use of a fungal bioreactor as a post treatment step for continuous decolorization of dyes. **Wat. Sci. Technol.**, v. 40, p. 131, 1999.
38. PATRO, R. **Bucha – *Luffa cylindrica***. Apresenta textos explicativos sobre alguns tipos de plantas, bem como sua produção, cultivo e interesse econômico. Disponível em: <http://www.jardineiro.net/br/banco/luffa_cylindrica.php>. Acesso em: 20 mar. 2011.
39. PRASAD, K. K.; MOHAN, S. V.; BHASKAR, Y. V.; RAMANAIAH, S. V.; BABU, V. L.; PATI, B. R.; SARMA, P. N. Laccase production using *Pleurotus ostreatus* 1804 immobilized on PUF cubes in batch and packed bed reactors: influence of culture conditions. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, n. 3, p. 301-307, 2005.
40. SEMINÁRIO de recursos hídricos - Rio de Janeiro 15-16 Julho: BNDES online, 2004. Apresenta discussões e questionamentos relacionados a exploração, consumo e conservação de recursos hídricos. 2004. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/conhecimento/seminario/hidrico_9.pdf>. Acesso em: 10 de Maio de 2008.
41. SILVA, A. J.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea. **Anaerobe**, London, v. 12, n. 2, p. 93-98, 2006.

42. SRIVASTAVA, S. J.; SINGH, N.D.; SRIVASTAVA, A. K.; SINHA, R. Acute toxicity of malachite Green and its effects on certain blood parameters of a catfish, *Heteropneustes fossilis*. **Aquat. Toxicol.**, v. 31, p. 241–247, 1995.
43. SOUZA, C. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P. **Quim. Nova**, v. 28, p. 226, 2005.
44. VANDEVIVERE, P.V.; BIANCHI, R.; VERSTRAETE, W. Treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry: review of emerging technologies. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, v. 72, p. 289 – 302, 1998.
45. VIGNOLI, J. A.; CELLIGOI, M. A. P. C.; SILVA, R. S. F. Development of a statistical model for sorbitol production by free and immobilized *Zymomonas mobilis* in loofa sponge *Luffa cylindrica*. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 240-243, 2006.
46. WU, F. C.; TSENG, R. L.; JUANG, R. S. Preparation of activated carbons from bamboo and their adsorption abilities for dyes and phenol. **J. Environ. Sci. Health A**, v. 34, p. 1753 – 1775, 1999.
47. Apresenta um banco de dados Online de Produtos Químicos, bem como suas características e fórmulas. Disponível em: <http://www.chemblink.com/products/1934-21-0.htm>. Acesso em: 25 mar. 2011.
48. Apresenta informações relacionadas à química. Disponível em: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB3931699.ht. Acesso em: 29 mar. 2011.
49. CAMMAROTA, M.C; COELHO, M.A.Z. “Tratamento enzimático para remoção de cor de efluentes da indústria têxtil”. **Revista Química Têxtil**, Barueri, n.65, p.40-47, 2001.
50. TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia., oitava edição. Porto Alegre – RS: Editora Atmed, 2008. Glossário, p. 853.

Aluno (a): Luana Galvão Morão

Orientador: Prof. Dr. Carlos Renato Corso