UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MICROBIOLOGIA APLICADA

ANÁLISE COMPARATIVA DA CAPACIDADE DE REMOÇÃO DO CORANTE DIRECT BLUE 71 EM SOLUÇÃO PELOS FUNGOS *Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus oryzae*

GRAZIELY CRISTINA DOS SANTOS

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

Abril - 2011

GRAZIELY CRISTINA DOS SANTOS

ANÁLISE COMPARATIVA DA CAPACIDADE DE REMOÇÃO DO CORANTE DIRECT BLUE 71 EM SOLUÇÃO PELOS FUNGOS *Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus oryzae*

Orientador: Prof. Dr. Carlos Renato Corso

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

Rio Claro - SP
Abril - 2011

589.2 Santos, Graziely Cristina dos
S237a Análise comparativa da capacidade de remoção do corante Direct Blue 71 em solução pelos fungos Phanerochaete chrysosporium e Aspergillus oryzae / Graziely Cristina dos Santos. - Rio Claro : [s.n.], 2011
116 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

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

1. Fungos. 2. Biodegradação. 3. Biossorção. 4. Corantes têxteis. 5. Forma paramorfogênica. 6. Azo. I. Título.

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

unesp **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

CAMPUS DE RIO CLARO

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE RIO CLARO

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ANÁLISE COMPARATIVA DA CAPACIDADE DE REMOÇÃO DO CORANTE DIRECT BLUE 71 EM SOLUÇÃO PELOS FUNGOS Phanerochaete chrysosporium E Aspergillus oryzae

AUTORA: GRAZIELY CRISTINA DOS SANTOS

ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS RENATO CORSO

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

Prof. Dr. CARLOS RENATO CORSO
Departamento de Bioquimica e Microbiologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

Profa. Dra. CASSIANA MARIA REGANHAN CONEGLIAN
Centro Superior de Educação Tecnológica - CESET - UNICAMP

Profa. Dra. SANDRA MARA MARTINS FRANCHETTI
Departamento de Bioquimica e Microbiologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

Data da realização: 12 de abril de 2011.

Àqueles que não mediram esforços para que mais esta conquista fosse alcançada.

Meus pais,

JAIR e CLEUSA

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado forças para concluir mais esta etapa.

Aos meus pais, que tanto lutaram para que eu tivesse chances de ter uma formação melhor. Sei que não foi fácil e dou muito valor a isso. Obrigada pelo esforço, pelo amor e pela vida dedicada à minha felicidade. Não tenho nem palavras para agradecer e dizer o que vocês representam na minha vida.

Ao meu irmão Michael e à família linda que ele formou, por estar sempre presente, me incentivando e torcendo por mim. E aproveitando, obrigada pelos sobrinhos lindos que me deu, por eles eu faço tudo.

Ao Prof. Dr. Carlos Renato Corso pela confiança, pela paciência e por tudo o que aprendi. Obrigada pela verdadeira orientação, por sentar ao meu lado e discutir resultados, por ficar horas procurando artigos ou qualquer coisa que fosse para ajudar na pesquisa e por tentar me tranquilizar sempre. Ah! E me desculpe pela teimosia.

Ao Beto, meu braço direito e esquerdo no laboratório, por tudo o que aprendi sobre técnicas e experimentos. Obrigada pelas dicas, por estar sempre disposto a ajudar, sempre mesmo.

Ao Douglas, por todo carinho, companheirismo e, principalmente, por toda paciência (e sei que precisou de muita). Obrigada por estar sempre ao meu lado, sempre preocupado com meu trabalho e comigo. Por cada palavra de incentivo, por estar sempre disposto a ouvir minhas reclamações e desabafos tentando me acalmar dizendo que tudo ia dar certo (e deu), por entender a minha ausência neste período tão importante, pela companhia e ajuda nos fins de semana de trabalho no laboratório e na qualificação, mesmo sem entender quase nada de microbiologia. Enfim, obrigada pela compreensão e dedicação.

A toda minha família (famílias Barco e Santos) pela torcida, pelas orações e por entender minha ausência nos almoços de família, sempre tão divertidos. Eles são a minha base e com certeza, sem eles tudo seria mais difícil.

A minha família de Rio Claro, Grace, Lucieli e Fabíola, pela amizade e carinho, pelas horas de conversa e conselhos, pela compreensão, conseguindo entender o meu momento “anti-social” enquanto escrevia. Meninas, obrigada por tudo, vocês me deram muita força pra chegar ao final.

Ao Lab. Multi, com certeza o melhor lab. para se trabalhar. Eduardo “Burns”, Renato “Bill”, Paulo “Chal”, Erica e Heide. Meninos, valeu pela imensa ajuda com a informática e o inglês, pelas dicas nos experimentos e na dissertação, pelas caronas e por toda a diversão proporcionada por trilhas sonoras, jogos e churras. Disso vocês entendem e eu adoro. Meninas, obrigada pela ajuda nos experimentos e nas análises, pela atenção, conversas, conselhos e apoio em momentos difíceis.

A todos os amigos da Pós em Microbilogia Aplicada, do Departamento de Bioquímica e Microbiologia e do Ceis. César e Angela companheiros de festas, conselheiros e grandes incentivadores. Vivi Lopes e Bia, obrigada pela amizade e confiança. Roberta, Kate, Vivi Vivi, Lu, Eduardo Morales, é difícil citar todos. Pessoal, valeu a convivência e ajuda.

A prof. Sandra e a Suely pelo auxílio com FTIR, Prof. Dejanira, Dilza, Marcio Ramos, Ronaldo, Zito e aos técnicos do Departamento, por toda ajuda na realização dos experimentos.

Aos amigos de Campo Mourão, especialmente Juliana, Maria Tereza, Mariana, Fran, Luiz Henrique “Couxa”, Carol e Rafa. Valeu pela amizade incondicional e incentivo.

Aos amigos de Rio Claro, Carlitcha, Carina, Marcão, Roger, PB, Dani e Xuxu. Obrigada por cada minuto ao lado de vocês. Milena, foi em Rio Claro que nossa amizade cresceu, portanto, aqui fica meu agradecimento por tudo o que fez por mim.

Aos amigos de Ponta Grossa, que mesmo distantes fisicamente se fizeram presentes na minha vida. Anaelisa, Geovan, Tati, Ariane, Leila, Vania, Suzana, Murillo, Ricardo “Japa”, Carlos e Vlad.

A família Mancebo Mazzetto, pela acolhida, pelo grande incentivo e apoio e pela amizade.

A CAPES pelo apoio financeiro.

“A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las.”

Aristóteles

RESUMO

Entre as questões ambientais mais discutidas pela sociedade, está a poluição pelos diversos ramos da indústria. As indústrias têxteis estão entre os responsáveis pela contaminação, pois, muitas vezes, eliminam seus efluentes sem tratamento adequado nos mananciais, portanto, sem a completa remoção dos corantes. Os corantes azóicos são os mais utilizados pela indústria têxtil e são caracterizados pela presença de grupos azo (N=N). Dos vários métodos de tratamento de efluentes existentes, o tratamento biológico tem sido amplamente estudado. Buscando uma maneira de melhorar o tratamento biológico, o presente trabalho teve como objetivo comparar a capacidade de biossorção e biodegradação do corante azóico Direct Blue 71 em solução pelos fungos *Phanerochaete chrysosporium* e A*spergillus oryzae,* na forma paramorfogênica. Para isso utilizou-se uma solução de corante DB71 a 100 µg/mL. Foram realizados testes de biossorção, por um período de 2 horas, com cinco diferentes concentrações de biomassa e três valores de pH, 2.5, 4.5 e 6.5, sendo que o pH 2.5 proporcionou a melhor condição para a biossorção. A adsorção do corante pela parede celular de ambos os fungos foi avaliado com o auxílio das isotermas de Freundlich, modelo seguido por *P. chrysosporium*, e Langmuir, seguido por *A. oryzae*. Para os testes de biodegradação, por 240 horas, utilizou-se apenas uma concentração de biomassa. Com espectrofotometria UV-VIS foi possível determinar porcentagem de descoloração e absorbância relativa do corante após realização dos testes de biossorção e biodegradação, respectivamente. Análises de FTIR permitiram a identificação de moléculas presentes na solução antes e após a biodegradação. Com *A. oryzae* obteve-se os melhores resultados de biossorção e biodegradação. Contudo, *P. chrysosporium* também se mostrou eficiente para os tratamentos avaliados. Portanto, tanto *A. oryzae* quanto *P. chrysosporium* possuem grande potencial na remoção de corantes dos efluentes. Assim, os resultados desta pesquisa podem contribuir para uma melhora no sistema de tratamento de efluentes das indústrias que utilizam corantes azóicos.

Palavras-chave: *Aspergillus oryzae*. *Phanerochaete chrysosporium*. Corantes azóicos. Biodegradação. Biossorção. Forma paramorfogênica.

ABSTRACT

Among many environmental issues discussed in society, all sorts of pollution from industrial branches arise as an important matter. Textile industries are responsible by such contamination, since they often eliminate their effluents in the environment without proper treatment, therefore, without complete dye removal. Azo dyes are frequently used in textile industry and characterized by the presence of azo groups (N = N). Of the various methods of wastewater treatment available, biological treatment has been extensively studied. Thus, to improve biological treatment in textile industries, this study aimed to compare the ability of biosorption and biodegradation of Azo dye Direct Blue 71 solution by *Phanerochaete chrysosporium* and *Aspergillus oryzae* fungi in paramorfogenic form. In order to achieve this, a 100 µg/mL DB7 dye solution was used. Biosorption tests were performed within two hours with five different biomass concentrations and three pH values, 2.5, 4.5 and 6.5. It was observed that pH 2.5 solutions presented best biosorption conditions. The dye adsorption through studied fungi cell wall was evaluated with the Freundlich isotherm model for *P. chrysosporium*, and Langmuir for *A. oryzae*. For the biodegradation tests in 240 hours, it was used only one biomass concentration. Through an UV-VIS spectrophotometry the percentage of relative absorbance and dye discoloration was determined after biosorption and biodegradation tests respectively. FTIR analysis allowed molecular compounds identification in solution before and after biodegradation. The best results were obtained with *A. oryzae* in both biosorption and biodegradation. Yet even then *P. chrysosporium* was also efficient in all treatments. Hence, both *A. oryzae* and *P. chrysosporium* have great potential of dye removal in wastewaters. These results may contribute to improve effluent treatment systems in textile industries.

Keywords: *Aspergillus oryzae. Phanerochaete chrysosporium*. Azo dyes. Biodegradation. Biosorption. Paramorfogenic form.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular do corante azóico Direct Blue 71..... 23

Figura 2: Balança comercial do segmento de corantes e pigmentos no Brasil... 25

Figura 3: *Phanerochaete chrysosporium* em meio Malte 2% modificado..... 28

Figura 4: *Aspergillus oryzae* em meio Malte 2%..... 38

Figura 5: Esquema do processo de paramorfogênese, segundo Marcanti-Contato (1997), adaptado para *Phanerochaete chrysosporium*..... 41

Figura 6: Esquema do processo de paramorfogênese, segundo Marcanti-Contato (1997), para *Aspergillus oryzae.*..... 42

Figura 7: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5)..... 52

Figura 8: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71,em solução com pH 2.5, em diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL)..... 53

Figura 9: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71,em solução com pH 4.5, em diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL)..... 54

Figura 10: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71,em solução com pH 6.5, em diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL)..... 55

Figura 11: Correlação entre a concentração de *P. chrysosporium* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 2.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1..... 57

Figura 12: Correlação entre a concentração de *P. chrysosporium* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 4.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1..... 57

Figura 13: Correlação entre a concentração de *P. chrysosporium* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 6.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1..... 58

Figura 14: Análise comparativa da biossorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com *P. chrysosporium* a 30°C ± 1..... 60

Figura 15: Correlação entre a concentração de *A. oryzae* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 2.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1..... 61

Figura 16: Correlação entre a concentração de *A. oryzae* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 4.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1..... 61

Figura 17: Correlação entre a concentração de *A. oryzae* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 6.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1..... 62

Figura 18: Análise comparativa da biossorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com *A. oryzae* a 30°C ± 1..... 64

Figura 19: Solução controle e sobrenadante das soluções de corante com pH 2.5, 4.5 e 6.5 após tratamento com 5,17 mg/mL de *P. chrysosporium* na forma paramorfogênica..... 66

Figura 20: Solução controle e sobrenadante das soluções de corante com pH 2.5, 4.5 e 6.5 após tratamento com 5,5 mg/mL de *A.oryzae* na forma paramorfogênica..... 67

Figura 21: Análise comparativa da biossorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com 5,17 mg/mL de *P. chrysosporium* e 5,5 mg/mL de *A. oryzae* a 30°C ± 1..... 67

Figura 22: *P. chrysosporium* antes e após o processo de biossorção..... 68

Figura 23: *A. oryzae* antes e após o processo de biossorção..... 68

Figura 24: Isoterma de adsorção de Freundlich para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 2,5..... 70

Figura 25: Isoterma de adsorção de Langmuir para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 2,5..... 70

Figura 26: Isoterma de adsorção de Freundlich para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 4,5..... 71

Figura 27: Isoterma de adsorção de Langmuir para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 4,5..... 71

Figura 28: Isoterma de adsorção de Freundlich para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 6,5..... 72

Figura 29: Isoterma de adsorção de Langmuir para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 6,5..... 72

Figura 30: Isoterma de adsorção de Freundlich para *A. oryzae* e o corante

DB71 em solução com pH 2,5..... 73

Figura 31: Isoterma de adsorção de Langmuir para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 2,5..... 74

Figura 32: Isoterma de adsorção de Freundlich para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 4,5..... 74

Figura 33: Isoterma de adsorção de Langmuir para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 4,5..... 75

Figura 34: Isoterma de adsorção de Freundlich para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 6,5..... 75

Figura 35: Isoterma de adsorção de Langmuir para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 6,5..... 76

Figura 36: Imagem com aumento de 20x, em lupa, dos pellets de *A. oryzae* e *P. chrysosporium* antes do processo de biossorção do corante DB71 em solução..... 78

Figura 37: Imagem com aumento de 32x, em lupa, dos pellets de *A. oryzae* e *P. chrysosporium* após o processo de biossorção do corante DB71 em solução..... 79

Figura 38: Imagem microscópica, com aumento de 400x, dos pellets de *A. oryzae* e de *P. chrysosporium* antes do processo de biossorção do corante DB71 em solução..... 79

Figura 39: Imagem microscópica, com aumento de 400x, dos pellets de *A. oryzae* e de *P. chrysosporium* após o processo de biossorção do corante DB71 em solução..... 80

Figura 40: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução com pH 2.5, à concentração de 100 µg/mL..... 81

Figura 41: Absorbâncias dos grupos cromóforo (583 nm) e azo (320 nm) e absorbância relativa a cada 24 horas, iniciando pelo controle, após tratamento do corante DB71 por *P. chrysosporium*..... 82

Figura 42: Absorbâncias dos grupos cromóforo (583 nm) e azo (320 nm) e absorbância relativa a cada 24 horas, iniciando pelo controle, após tratamento do corante DB71 por *A. oryzae*..... 83

Figura 43: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução com pH 2.5, após 240 horas de interação com o fungo *P. chrysosporium* a 30°C ± 1,

com varreduras realizadas após 24, 144 e 240 horas..... 84

Figura 44: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução, com pH 2.5, após 240 horas de interação com o fungo *A. oryzae* a 30°C ± 1, com varreduras realizadas após 24, 144 e 240 horas..... 85

Figura 45: Espectro de FTIR na região de 4000 a 400 cm^{-1} da solução controle do corante Direct Blue 71 na forma de pastilha com KBr..... 87

Figura 46: Espectro de FTIR na região de 2000 a 400 cm^{-1} das soluções, em forma de pastilha com KBr, do controle do corante Direct Blue 71 e dos sobrenadantes do tratamento após 24 horas com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*..... 90

Figura 47: Espectro de FTIR na região de 1280 a 1100 cm^{-1} da solução controle do corante DB71 após desconvolução Lorentziana..... 93

Figura 48: Espectro de FTIR na região de 1280 a 1150 cm^{-1} da solução do corante DB71 tratada em 24 horas com *P. chrysosporium* após desconvolução Lorentziana..... 94

Figura 49: Espectro de FTIR na região de 1280 a 1100 cm^{-1} da solução do corante DB71 tratada em 24 horas com *A. oryzae* após desconvolução Lorentziana..... 95

Figura 50: Espectro de FTIR na região de 2000 a 400 cm^{-1} das soluções, em forma de pastilha com KBr, do controle do corante Direct Blue 71 e dos sobrenadantes do tratamento após 144 horas com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*..... 96

Figura 51: Espectro de FTIR na região de 2000 a 400 cm^{-1} das soluções, em forma de pastilha com KBr, do controle do corante Direct Blue 71 e dos sobrenadantes do tratamento após 240 horas com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*..... 98

Figura 52: Caminho proposto para a degradação do corante DB71 após tratamento com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*..... 100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos corantes segundo as classes químicas..... 21

Tabela 2: Classificação dos corantes segundo a utilização por substrato..... 22

Tabela 3: Vantagens e desvantagens de métodos utilizados na remoção de corantes têxteis..... 28

Tabela 4: Peso seco dos pellets de *P. chrysosporium* e *A. oryzae*..... 50

Tabela 5: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 2,5 após teste de Biossorção com *P. chrysosporium* na forma paramorfogência..... 58

Tabela 6: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 4,5 após teste de Biossorção com *P. chrysosporium* na forma paramorfogência..... 59

Tabela 7: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 6,5 após teste de Biossorção com *P. chrysosporium* na forma paramorfogência..... 59

Tabela 8: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 2,5 após teste de Biossorção com *A. oryzae* na forma paramorfogência..... 62

Tabela 9: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 4,5 após teste de Biossorção com *A. oryzae* na forma paramorfogência..... 63

Tabela 10: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 6,5 após teste de Biossorção com *A. oryzae* na forma paramorfogência..... 63

Tabela 11: Coeficientes de correlação (R) das isotermas de adsorção obtidos a partir das Equações de Freundlich e Langmuir..... 76

Tabela 12: Bandas originais da solução controle do corante Direct Blue 71..... 88

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15

2. OBJETIVOS 18

2.1 Objetivo Geral: 18
2.2 Objetivos específicos: 18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 19
3.1 Corantes têxteis 19
3.1.2 Classificação dos corantes 20
3.1.3 Direct Blue 71 23
3.2 Indústria têxtil 24
3.3 Poluição da água por indústrias têxteis 26
3.4 Tratamento de efluentes têxteis 27
3.5 Tratamento biológico de corantes azóicos por fungos 30
3.5.1 Biodegradação 30
3.5.2 Biossorção 31
3.5.2.1 Isotermas de adsorção 32
3.6 *Phanerochaete chrysosporium* 33
3.7 *Aspergillus oryzae* 34
4. MATERIAL E MÉTODOS 37

4.1 Equipamentos 37
4.2 Obtenção da forma paramorfogênica de *Aspergillus oryzae* e de *Phanerochaete chrysosporium* 37
4.2.1 Micro-organismos 37
4.2.2 Meios de cultivo 39
4.3 Obtenção de peso seco dos pellets de *P. chrysosporium* e *A. oryzae* 43
4.4 Corante Direct Blue 71 (DB71) 43
4.4.1 Preparo da solução estoque 44
4.4.2 Teste de estabilidade em função do pH 44
4.4.3 Análise quantitativa 45
4.5 Teste de biossortividade 45
4.5.1 Isotermas de adsorção 46
4.6 Teste de biodegradação do corante 47
4.6.1 Análises de espectrofotometria UV-VIS 47
4.6.2 Análises de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 48

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 50
5.1 Obtenção de Peso seco dos pellets de *P. chrysosporium* e *A. oryzae* 50
5.2 Teste de Estabilidade em função do pH 51
5.3 Análise quantitativa 52
5.4 Teste de biossortividade 56
5.4.1 Isotermas de adsorção 69
5.5 Teste de biodegradação do corante 80
5.5.1 Espectrofotometria UV-VIS 80
5.5.2 Análises de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 86
6. CONCLUSÃO 102
7. REFERÊNCIAS 104

1. INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas, a sociedade tem se tornado cada vez mais sensível às questões ambientais. Um dos problemas que mais preocupam a população é a escassez de água potável. Essa pode ser uma questão controversa se for verificar a quantidade de água existente na Terra. De acordo com a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), um bilhão e 200 milhões de pessoas (35% da população mundial) não têm acesso à água tratada. Um bilhão e 800 milhões de pessoas (43% da população mundial) não contam com serviços adequados de saneamento básico. A poluição e a falta de tratamento adequado da água agravam ainda mais este problema.

Hoje, a humanidade tem grande preocupação com os potenciais efeitos adversos das indústrias no ambiente, embora a resposta em algumas partes do mundo tenha sido muito mais rápida e mais intensa do que em outros (HASAN, c2011).

As indústrias têxteis colaboram com a poluição por descartarem nos rios seus efluentes que, geralmente, apresentam resquícios de corantes ou ainda produtos de sua degradação que são prejudiciais ao ambiente. Elas são responsáveis pela geração de grande quantidade de resíduos de difícil de degradação, incluindo os corantes e, consequentemente, dificuldade de tratamento e disposição final.

Os corantes são compostos visíveis. Assim, mesmo com a menor liberação no ambiente podem causar o aparecimento de cor nos rios, atraindo a atenção das autoridades públicas e locais, além de dificultar a penetração da luz solar, reduzindo

a reação de fotossíntese dos organismos ali presentes (HASAN, c2011; WANG et al. 2005). Por este motivo, exigências são feitas às indústrias para que haja a redução da liberação destas substâncias no ambiente.

Uma abordagem alternativa para resolver o problema da cor em efluentes têxteis tem envolvido o desenvolvimento de métodos de tratamento para remoção dos corantes.

Os corantes azóicos são muito utilizados na indústria têxtil. Eles apresentam em suas estruturas químicas grupos azo (-N=N-) que, quando degradados, podem liberar substâncias tóxicas, como as aminas, aos organismos e ao ambiente. Para descobrir uma maneira de diminuir este tipo de contaminação, estudos avaliam uma forma de retirar estes contaminantes do efluente, antes de descartá-lo nos rios, por meio de tratamento biológico.

Processos de biossorção e biodegradação de corantes com o auxílio de fungos, que possuem uma grande versatilidade metabólica, são capazes de remover ou degradar estruturas complexas como aquelas de corantes azóicos.

Corso e Almeida (2009) utilizaram *Aspergillus oryzae*, em sua forma paramorfogênica (pellets), como biorremediador de corantes têxteis e demonstraram que ocorreram não só a biossorção como também a diminuição da toxicidade dos corantes tratados.

Martins et al. (2001), Paszczynski e Crawford (1995), Cripps et al. (1990) entre outros, avaliaram o potencial biodegradativo de corantes pelo fungo da decomposição branca *Phanerochaete chrysosporium*.

P. chrysosporium é um fungo lignolítico e está entre os basidiomicetos mais estudados com capacidade para degradar compostos persistentes. Seu potencial para biodegradação já foi bastante observado. *A. oryzae* é intensamente utilizado para produção de alimentos e bebidas fermentadas. O saquê, bebida tradicional do Japão, é produzido a partir da fermentação de arroz por *A. oryzae*. Embora seja conhecido por sua importância para as indústrias alimentícias e de bebidas, ainda não se encontram muitas informações sobre o seu uso na biodegradação de poluentes como os corantes. Por este motivo, *A. oryzae* foi escolhido para avaliação

e comparação da capacidade biossortiva e biodegradativa com *P. chrysosporium*, já conhecido por sua eficiência nestes processos.

Visando buscar uma alternativa para o tratamento de efluentes têxteis, este trabalho se propôs a estudar o tratamento biológico do corante têxtil azóico Direct Blue 71 como uma alternativa para sua remoção da solução, diminuindo seu potencial poluidor. Para isso foram utilizados dois fungos filamentosos, na forma paramorfogênica, sendo *Aspergillus oryzae* anamórfico e *Phanerochaete chrysosporium* um basidiomiceto, com o intuito de comparar a efetividade de ambos. A forma paramorfogênica é utilizada por facilitar a quantificação de biomassa necessária para os tratamentos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

- Comparar a capacidade de biossorção e biodegradação do corante azóico Direct Blue 71 em solução pelos fungos *Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus oryzae,* na forma paramorfogênica.

2.2 Objetivos específicos:

- Identificar em qual pH (2.5, 4.5 ou 6.5) a biossorção ocorrerá de maneira mais efetiva;

- Determinar como ocorre o processo de biossorção entre as moléculas de corante e os fungos na forma paramorfogência, analisando-se as isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir;

- Avaliar a ocorrência de biodegradação por meio da análise de alterações nos espectros obtidos com espectrofotometria UV-VIS (Ultravioleta – Visível) e FTIR (Infravermelho com Transformada de Fourier);

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Corantes têxteis

Corantes e pigmentos orgânicos podem ser definidos como substâncias intensamente coloridas, pois absorvem seletivamente a luz visível e que, quando aplicadas a um material, lhe conferem cor. Os corantes são retidos no material por adsorção, retenção mecânica ou por ligações químicas iônicas ou covalentes (ABIQUIM, c2011; KIMURA et al., 1999).

No ano de 1856, em Londres, Willian Henry Perkin criou o primeiro corante sintético ao tentar sintetizar quinino, um medicamento para a malária. Aos dezenove anos de idade Perkin deixa o Colégio Real de Química e rapidamente comercializa sua anilina roxa, iniciando assim a indústria de corantes sintéticos. Perkin, juntamente com empresários da Grã-Bretanha e França, dominou a indústria de corantes sintéticos por oito anos. Durante este período, as empresas britânicas e francesas introduziram a maioria dos outros corantes sintéticos inovadores para o mercado e mantiveram a maior participação no mercado global (MURMANN, 2003).

A composição química dos corantes constitui-se de grupos cromóforos tais como nitro, nitroso, azo e carbonila, além dos anéis de quinonas e de grupos auxocromos tais como etila, nitro, amino, sulfônico, hidroxila, metóxi, etóxi, cloro e bromo. Estes são doadores ou receptores de elétrons, e possuem o potencial de alterar a configuração de cargas da molécula intensificando a cor do cromóforo. A estabilidade da molécula do corante é diretamente associada à força de ligação química dos átomos componentes dos grupos cromóforos e auxocromos (ZEE, 2002; KIMURA et al., 1999).

A classe de corantes, com maior número de representantes (60 a 70%) é a dos azóicos, por isso constituem a maior parte dos efluentes de indústrias têxteis e são mais estudados do que qualquer outra classe (HUNGER, 2003; ZEE, 2002). Além da aplicação têxtil, essa classe de corantes ainda é bastante utilizada nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e de cosméticos (RAFII et al. *apud* OLIVEIRA, 2005).

A principal característica dos corantes azóicos é a ligação de anéis aromáticos por grupos azo (–N=N–) que, somada às substituições sulfonadas, contribuem para a resistência dos corantes aos processos de degradação química e microbiológica (DELLAMATRICE, 2005; MARTINS et al., 2001; STOLZ, 2001, HU e WU 2001).

Os corantes azo contêm pelo menos um grupo azo, mas pode conter dois (diazo), três (triazo), ou, mais raramente, quatro (tetrazo) ou mais (poliazo) grupos azo (HUNGER, 2003).

A complexa estrutura aromática dos corantes é resistente à luz, a atividade biológica, ao ozônio e outras condições ambientais degradativas. Deste modo tratamentos convencionais de águas residuárias continuam ineficazes. Além disso, corantes azóicos aniônicos e não iônicos liberam aminas tóxicas devido à clivagem dos grupos azóicos reativos (JOSHI et al., 2004).

3.1.2 Classificação dos corantes

Para identificar os mesmos corantes, comercializados com diferentes nomes, utiliza-se o Colour Index (CI), publicação da *American Association of Textile Chemists and Colorists* e da *British Society of Dyers and Colorists*, que contém uma lista organizada de nomes e números para designar os diversos tipos. Os números de Colour Index são atribuídos quando a estrutura química é definida e conhecida (ABIQUIM, c2011).

Os corantes podem ser divididos em várias classes baseadas em sua constituição química ou de acordo com o modo pelo qual ocorre a fixação às fibras têxteis (ALMEIDA, 2008; HUNGER, 2003).

A classificação dos corantes segundo as classes químicas, assim como a classificação por aplicação, está apresentada na Tabela 1. A Tabela 2 apresenta a classificação segundo a utilização por substrato.

Pelo Colour Index, os corantes e pigmentos podem ser classificados em 26 tipos, segundo os critérios das classes químicas, e em 20 tipos, segundo aplicações, além de algumas subdivisões (ABIQUIM, c2011).

Tabela 1: Classificação dos corantes segundo as classes químicas

Classe	Classificação por aplicação
Acridina	Básicos, pigmentos orgânicos
Aminocetona	À tina, mordentes
Antraquinona	Ácidos, mordentes, à tina, dispersos, azóicos, básicos, diretos, reativos, pigmentos orgânicos
Ao enxofre	Enxofre, à cuba
Azina	Ácidos, básicos, solventes, pigmentos orgânicos
Azo	Ácidos, diretos, dispersos, básicos, mordentes, reativos
Azóico	Básicos, naftóis
Bases de oxidação	Corantes especiais para tingimento de pelo, pelegos, cabelos
Difenilmetano	Ácidos, básicos, mordentes
Estilbeno	Diretos, reativos, branqueadores ópticos
Ftalocianina	Pigmentos orgânicos, ácidos, diretos, azóicos, à cuba, reativos, solventes

Classe	Classificação por aplicação
Indamina e Indofenol	Básicos, solventes
Indigóide	À tina, pigmentos orgânicos
Metina e Polimetina	Básicos, dispersos
Nitro	Ácidos, dispersos, mordentes
Nitroso	Ácidos, dispersos, mordentes
Oxazina	Básicos, mordentes, pigmentos orgânicos
Quinolina	Ácidos, básicos
Tiazina	Básicos, mordentes
Tiazol	Branqueadores ópticos, básicos, diretos
Triarilmetano	Ácidos, básicos, mordentes
Xanteno	Ácidos, básicos, mordentes, branqueadores ópticos, solventes

Fonte: ABIQUIM (c2011)

Tabela 2: Classificação dos corantes segundo a utilização por substrato

Corantes	Substrato
À Cuba Sulfurados	Fibras naturais e fibras artificiais
À Tina	Fibras naturais
Ácidos	Couro, fibras naturais, fibras sintéticas, lã e papel

Corantes	Substrato
Ao Enxofre	Fibras naturais
Azóicos	Fibras naturais, fibras sintéticas
Básicos	Couro, fibras sintéticas, lã, madeira e papel
Diretos	Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel
Dispersos	Fibras artificiais e fibras sintéticas
Mordentes	Alumínio anodizado, lã, fibras naturais e fibras sintéticas
Reativos	Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel
Solventes	Ceras, cosméticos, gasolina, madeira, plásticos, solventes orgânicos, tintas de escrever e vernizes

Fonte: ABIQUIM (c2011)

De acordo com Hunger (2003), o sistema mais adequado para a classificação de corantes é pela estrutura química, pois é possível identifica-los facilmente como pertencentes a um grupo com propriedades características como, por exemplo, os azo corantes.

3.1.3 Direct Blue 71

Direct Blue 71 é um corante azóico direto, resistente à luz e apresenta uma estrutura composta por uma amina primária, quatro grupos sulfonatos, uma hidroxila e três grupos azo ligados a anéis aromáticos, portanto triazo (HONG et al., 2002; SAIEN e SOLEYMANI, 2007). A estrutura molecular pode ser observada na Figura 1.

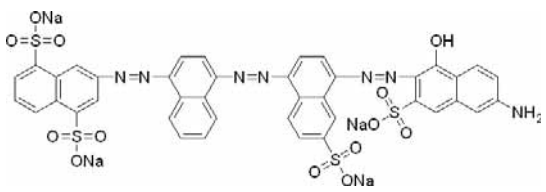


Figura 1: Estrutura molecular do corante azóico Direct Blue 71

As cores dos corantes azóicos são determinadas por grupos azo cromóforos e pelos auxocromos associados. Os grupos auxocromos sulfonatos tornam a molécula do corante solúvel em meio aquoso e aumentam a afinidade pelas fibras no processo de tingimento (SUN et al., 2002; KIMURA et al., 1999).

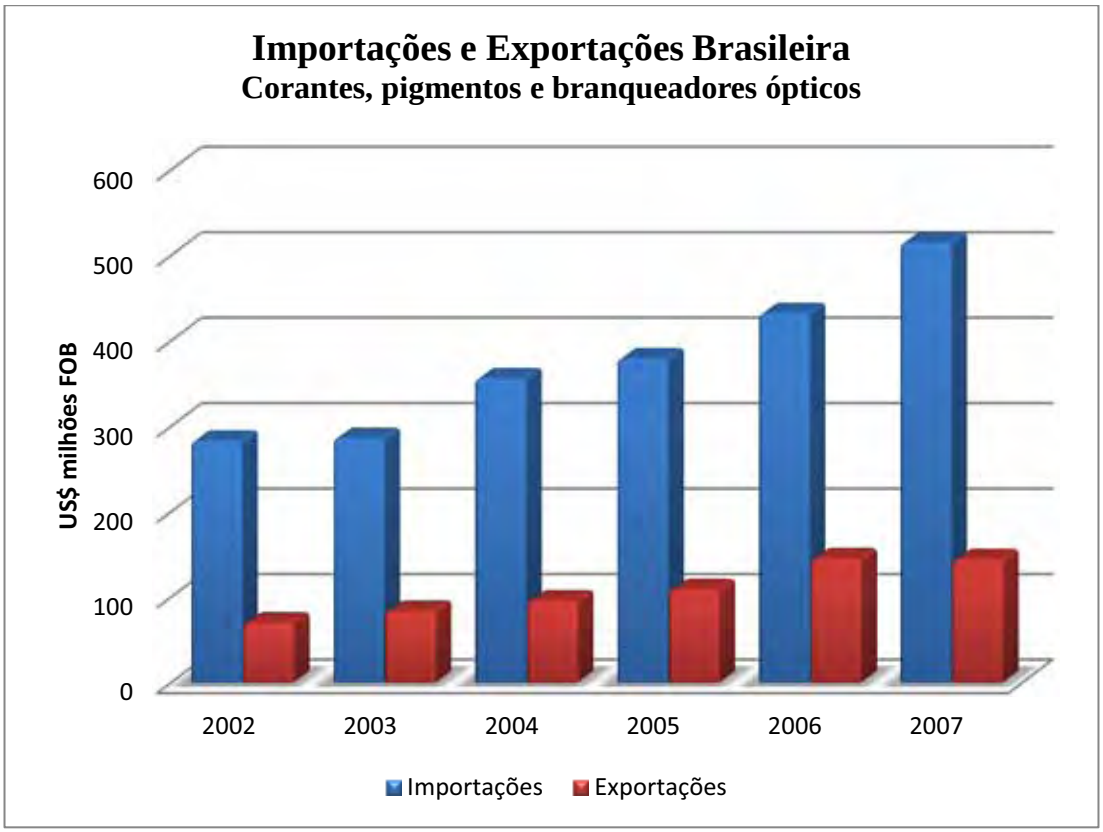
Os corantes diretos caracterizam-se como compostos solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose como o algodão e a viscose através da interação de Van der Waals, além de papel e couro. São corantes aniônicos e, quando o tingimento ocorre em solução aquosa na presença de eletrólitos, têm alta afinidade por fibras celulósicas. Esta classe é constituída principalmente por corante contendo mais de um grupo azo (diazo, triazo) ou pré-transformados em complexos metálicos (DAMASCENO, 2008; HUNGER, 2003).

Já existem alguns estudos sobre este corante e efluentes têxteis. A biodegradação do corante azóico Direct Blue 71 por *Pseudomonas* sp. foi avaliada por Oranusi e Ogugbue (2005) em condições aeróbicas. Yavuz e Aydin (2006) avaliaram a biossorção de Direct Blue 71 e outros corantes diretos por diferentes adsorventes, entre eles o carvão ativado.

Além de ser usado na indústria têxtil, este corante pode ter outras utilidades. Hong et al. (2002) avaliaram-no como corante de proteínas em condições de acidez. Isak et al. (2000) investigaram o potencial de sensibilizadores fototérmicos para terapia fotodinâmica contra tumores no uso de alguns corantes monoazo, diazo e triazo, incluindo o Direct Blue 71.

3.2 Indústria têxtil

A indústria têxtil é uma das indústrias pioneiras na história de muitos países, inclusive do Brasil. Ela assume um papel de extrema importância na economia mundial, sendo responsável por uma produção de aproximadamente 700.000 toneladas de corantes e pigmentos anuais. Segundo a Associação Brasileira de Indústria Química (ABIQUIM, c2011), o Brasil investe milhões de dólares com importações e exportações de corante (Figura 2). Além disso, estima-se que pelo menos 3000 corantes sejam pertencentes à família de corantes azóicos (ZOLLINGER, 1991; SILVA FILHO et al., 2007).



Fonte: ABIQUIM (c2011)

Figura 2: Balança comercial do segmento de corantes e pigmentos no Brasil

As indústrias têxteis têm abrangência desde a produção dos fios sejam sintéticos ou naturais beneficiados, até a produção dos tecidos ou produtos finais. A produção envolve diversas etapas incluindo diversos tratamentos químicos. Os efluentes têxteis são ricos em produtos químicos variados incluindo os corantes naturais e os sintéticos (GIORDANO, 2004).

No Brasil, há cerca de 5.000 indústrias têxteis assim distribuídas: 11% de grande porte; 21% de pequeno; e 68% como micro-empresas. O setor têxtil brasileiro ocupa o 5° lugar em empregos diretos e o 6° em faturamento. Estima-se que no processo de tingimento pelo menos 20% dos corantes têxteis sejam descartados em efluentes, devido a perdas ocorridas durante o processo de fixação do corante às fibras (GONDIM et al., 2007).

Nas últimas décadas o número de leis e regulamentações proporcionando saúde e proteção ao ambiente durante a fabricação, utilização e armazenamento de produtos químicos tem ainda aumentado no mundo inteiro (HUNGER, 2003).

3.3 Poluição da água por indústrias têxteis

O uso de água em instalações industriais torna-se cada vez mais caro devido a maior consumo de água e despesas com o tratamento de efluentes. Reservas de água natural em muitas áreas do mundo são finitas e estão se tornando uma limitação para o crescimento industrial (BANAT e AL-BASTAKI, 2004).

A indústria, depois da agricultura, é o setor produtivo que mais utiliza a água para seus mais diversos tipos de processos. Assim, é considerada uma grande consumidora de água e ao mesmo tempo responsável pela mais grave forma de poluição através do lançamento, muitas vezes direto, dos seus efluentes nos cursos d'água (DULLIUS, 2004).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece nos artigos 14, 15 e 16 da Resolução n° 357 de 17 de março de 2005 que não é permitida a presença, em corpos de água doce das classes 1, 2 e 3, de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processos de coagulação, sedimentação e filtração convencionais (BRASIL, 2005).

Os efluentes têxteis contêm poluentes provenientes de diferentes etapas de tingimento e acabamento, bem como outros processos. Os poluentes encontrados nos efluentes têxteis são principalmente substâncias orgânicas persistentes, como corantes, e sais, deixando o efluente com baixa biodegradabilidade (FU et al., 2011).

Os corantes têxteis são usualmente descartados nos efluentes industriais sem tratamento adequado, e ainda existem poucos estudos direcionados à identificação destes compostos em águas superficiais. Este problema pode ser ainda maior se considerarmos que estes efluentes podem ser submetidos a processos químicos de tratamento levando à formação de subprodutos danosos ao ambiente e organismos vivos (ZOLLINGER, 1991; LIZIER, 2009).

Uma das principais fontes de liberação de corantes no ambiente está associada à incompleta aderência dos corantes nas fibras têxteis a partir de um processo de tingimento (HASAN, c2011).

Devido a estas implicações ambientais, novas tecnologias têm sido buscadas para a degradação ou imobilização destes compostos em efluentes têxteis (KUNZ,2002).

3.4 Tratamento de efluentes têxteis

De acordo com Dellamatrice et al. (2008), os resíduos da indústria têxtil se caracterizam por sua baixa degradabilidade sendo considerado um dos mais difíceis de serem tratados. A origem sintética e estrutura molecular complexa dos corantes dificultam a degradação, pois nem todos os organismos presentes na natureza possuem enzimas específicas para este fim. Assim, estes resíduos não têm um método adequado de tratamento e os efluentes não tratados eficientemente são descartados no ambiente.

Para Banat e Al-Bastaki (2004), os regulamentos ambientais são cada vez mais rigorosos, especialmente em países mais desenvolvidos, em relação à remoção de corantes em efluentes industriais. Por isso, existe uma necessidade de remover os resíduos de corantes dos efluentes antes que eles se misturem com corpos d'água. Contínuas pressões ambientais e legais, bem como com a escassez recente de água de boa qualidade e a necessidade de conservar a água, estão impulsionando as indústrias a procurar soluções de reciclagem rentáveis.

Segundo Bruno (2008), ainda não existe um método geral para a descoloração de efluentes aquosos da indústria têxtil. A maior parte dessas indústrias realiza processos de tratamentos fundamentados na operação de precipitação-coagulação, seguida de oxidação biológica, principalmente lodos ativados.

Os processos de tratamento objetivam clarificar os efluentes e reduzir a toxicidade inerente aos produtos químicos utilizados, à carga orgânica, aos detergentes e à cor oriunda da mistura de corantes aplicados (GIORDANO, 2004).

Os métodos mais utilizados para o tratamento de efluentes contendo corantes podem ser agrupados nas três categorias: químicos, físicos e biológicos. A utilização

de mais de um tipo de tratamento pode aumentar a eficiência do sistema, já que estes produtos não são degradados pelos sistemas biológicos convencionais. Assim, a combinação de tratamento pode suprir deficiências apresentadas pelos processos quando aplicados isoladamente, aumentando significativamente a degradação (BRUNO, 2008; KUNZ et al., 2002).

Na Tabela 3 encontram-se métodos de tratamento de efluentes têxteis acompanhados das vantagens e desvantagens de cada método. Alguns desses métodos podem ser utilizados como complementação de outros.

Tabela 3: Vantagens e desvantagens de métodos utilizados na remoção de corantes têxteis

Método	**Vantagem**	**Desvantagem**
Reagente de Fenton	Descoloração eficiente de corantes solúveis e insolúveis	Geração de lodo
Ozonização	Aplicado no estado gasoso: não há alteração de volume	Meia-vida curta (20 min)
Fotoquímico	Não produz lodo	Forma subproduto
Hipoclorito de sódio (NaOCl)	Inicia e acelera a clivagem da ligação azo	Libera amina aromática e Organoclorados
Cucurbituril	Boa capacidade de adsorção para vários corantes	Custo alto
Destruição eletroquímica	Compostos da decomposição química não são perigosos	Custo alto de eletricidade
Carvão ativado	Boa remoção de grande variedade de corantes	Custo alto

Método	Vantagem	Desvantagem
Turfa	Bom adsorvente por causa da estrutura celular	Área superficial específica para adsorção é menor que a do carvão ativado
Cavaco de madeira	Boa capacidade de adsorção para corantes ácidos	Requer muito tempo de retenção
Sílica gel	Remoção eficiente para corantes básicos	Reações laterais impedem aplicação comercial
Filtração por membranas	Remove todos os tipos de corantes	Produção concentrada de lodo
Troca iônica	Regeneração: não há perda de adsorvente	Não é eficiente para todos os corantes
Irradiação	Oxidação eficiente em escala laboratorial	Requer muito O_2 dissolvido
Coagulação eletrocinética	Eficiente economicamente	Produção grande de lodo

Fonte: Robinson et al. (2001)

O tratamento biológico é a técnica mais comum e mais difundida utilizado no tratamento de efluentes, tendo sido empregado por mais de 150 anos. Os métodos biológicos têm sido normalmente aplicados para remover compostos orgânicos e a cor de efluentes têxteis, devido ao seu tratamento de baixo custo e de simples operação e manutenção. Mas os poluentes persistentes das indústrias têxteis não podem ser facilmente degradados pelos tradicionais processos de lodo ativado, pois eles retiram apenas uma quantidade moderada de 10 a 20% da cor (FU et al., 2011; HUNGER, 2003).

Buscando uma maneira de diminuir este tipo de contaminação, alguns pesquisadores estudaram uma forma de biossorver ou biodegradar estes corantes com o auxílio de micro-organismos que possuem uma grande versatilidade metabólica, sendo capazes de degradar estruturas como as de corantes azóicos.

3.5 Tratamento biológico de corantes azóicos por fungos

Um grande número de micro-organismos pertencentes a diferentes grupos taxonômicos de bactérias, fungos, algas e leveduras têm sido relatados para a sua capacidade de descolorir corantes azóicos (VITOR e CORSO, 2008).

Para as células vivas, há dois mecanismos através dos quais os micro-organismos podem retirar a cor do efluente: a biodegradação e a biossorção. A primeira realiza-se por meio da utilização de enzimas que atacam e desfazem as ligações químicas mais importantes dos corantes (para que o corante possa ser utilizado como fonte alternativa de carbono) e a segunda ocorre pela retenção das moléculas do corante por componentes celulares do micro-organismo (MOU et al*.*, 1991).

3.5.1 Biodegradação

A grande motivação de todos os pesquisadores envolvidos em estudos de biodegradação pode ser expressa pela busca contínua de micro-organismos versáteis, capazes de degradar de maneira eficiente um grande número de poluentes a um baixo custo operacional (KUNZ et al., 2002).

Segundo Pinheiro et al. (2004), as ligações azo das moléculas de corante são vulneráveis a clivagem redutora, quando comparadas aos anéis aromáticos. Devido à sua significância em termos toxicológicos e ecotoxicológicos, e ao seu potencial para eliminar a cor e o impacto causado pelos efluentes contendo corantes, a descoloração biologicamente mediada através da redução da ligação azo tem sido extensivamente investigada nos últimos 20 anos.

O processo de hidrólise consiste em mudanças na estrutura da molécula fazendo com que a mesma fique mais solúvel e deste modo interaja com a fibra têxtil. Porém, no caso dos azo corantes, os processos de oxidação e redução são os mais importantes mecanismos de biodegradação destes (LIZIER, 2009).

De acordo com Zollinger (1991), o primeiro passo para a degradação de azo corantes é a clivagem redutiva do grupo azo, liberando aminas como metábolitos. Porém, aminas são tóxicas aos organismos presentes no ambiente. A completa mineralização dos corantes seria ideal para minimizar a poluição por efluentes têxteis. Contudo, corantes sintéticos são compostos de difícil mineralização.

Stolz (2001) observou que, durante os últimos anos, tem sido demonstrado que vários microorganismos são capazes de transformar os corantes em produtos não-coloridos ou até mesmo de mineralizá-los completamente, sob determinadas condições ambientais.

Os fungos são micro-organismos amplamente utilizados para processos de biodegradação de corantes azóicos por apresentarem, como principal característica, a produção de enzimas extracelulares capazes de degradar moléculas complexas. Espécies como *Aspergillus* sp, *Phanerochete chrysosporium*, *Neurospora crassa*, *Rhizopus* sp, *Pleurotus ostreatus* entre outras, já foram utilizadas como biorremediadores de corantes têxteis e apresentaram grande potencial para o tratamento biológico (ENAYATZAMIR et al., 2010; JESUS et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2010; CORSO e ALMEIDA, 2009; KAUSHIK e MALIK, 2009).

3.5.2 Biossorção

A acumulação e concentração de poluentes a partir de soluções aquosas através da utilização de materiais biológicos é denominada biossorção (CRINI, 2006).

A adsorção tem sido amplamente utilizada em processos industriais para a separação e purificação. A remoção de cor e de poluentes orgânicos de efluentes industriais é considerada como uma importante aplicação do processo de adsorção (AL-QODAH, 2000).

A descoloração é influenciada por diversos fatores físico-químicos, como a interação corante/adsorvente, área de superfície do adsorvente, tamanho da partícula, temperatura, pH, e tempo de contato (KUMAR et al., 1998).

Recentemente, uma série de estudos tem avaliado biomateriais capazes de biodegradar e biossorver corantes em efluentes têxteis. Materiais biológicos como

turfa, a quitosana, levedura, fungos e bactérias são utilizados como biossorventes para se concentrar e remover o corante em solução (SRINIVASAN e VIRARAGHAVAN, 2010; KUNZ et al., 2002).

Para Crini (2006), a biossorção engloba uma série de processos de metabolismo independente (adsorção fisica e química, interação eletrostática, troca iônica, quelação, complexação e micro-precipitação) que ocorre, principalmente, na parede celular.

De acordo com Srinivasan e Viraraghavan (2010) as paredes celulares consistem principalmente de polissacarídeos, proteínas e lipídios que oferecem muitos grupos funcionais para interação entre corante e biomassa.

Nos casos de processo de adsorção em que não ocorra a remoção total da cor é possível estudar a combinação deste processo com outros tipos de tratamentos para que tal remoção seja alcançada, principalmente quando se tratar de corantes azóicos (CARVALHO, 2010).

Corantes que são de difícil degradação biológica podem frequentemente ser removidos usando os adsorventes. Uma das características mais importantes de um adsorvente é a quantidade de adsorbato que é normalmente calculado a partir das isotermas de adsorção (GUPTA e SUHAS, 2009).

3.5.2.1 Isotermas de adsorção

Isotermas de adsorção são determinadas a partir de equações matemáticas usadas para descrever a adsorção de solutos por sólidos, a temperaturas constantes. As isotermas de adsorção mostram a quantidade de um determinado soluto adsorvida por uma superfície adsorvente, em função da concentração de equilíbrio do soluto. Para gerar os dados de adsorção uma quantidade conhecida do soluto deve ser adicionada ao sistema contendo uma quantidade conhecida de adsorvente. Assim a diferença entre a quantidade adicionada e a remanescente na solução encontra-se adsorvida na superfície adsorvente (BOHN et al., 2001).

De acordo com Alleoni et al. (1998) duas equações de adsorção são comumente utilizadas, as equações de Langmuir e Freundlich.

A equação de Langmuir, que foi inicialmente utilizada para descrever a adsorção de gases por sólidos, baseia-se em três suposições: (a) a superfície de adsorção é homogênea, isto é, a adsorção é constante e independente da extensão da cobertura da superfície; (b) a adsorção ocorre em sítios específicos, sem interação com as moléculas do soluto; (c) a adsorção torna-se máxima quando uma camada monomolecular cobre totalmente a superfície do adsorvente.

A equação de Langmuir é muito útil para prever as capacidades de adsorção e também a interpretação em relação à transferência de massa (PATEL e VASHI, 2010).

A isoterma de adsorção de Langmuir tem sido utilizada para explicar a adsorção de corantes em turfa. Pode-se presumir que, uma vez que uma molécula de corante ocupa um sítio de ligação, não se pode mais ter adsorção no mesmo sítio. Teoricamente, portanto, um valor de saturação é atingido e não ocorre mais adsorção (CHOY et al., 1999).

A equação de Freundlich é utilizada para descrever fenômenos de adsorção e sugere que a energia de adsorção decresce logaritmicamente, à medida que a superfície vai se tornando coberta pelo soluto, o que a diferencia da equação de Langmuir. (ALLEONI et al., 1998). A camada quimiossorvida desempenha o papel de um composto intermediário no processo da catálise da reação, podendo levar a formação de multicamadas, aonde venha a ocorrer ligações molécula-molécula do soluto adsorvido (ATKINS, 1991).

3.6 *Phanerochaete chrysosporium*

O micro-organismo mais estudado dentre os fungos da podridão branca, em relação à degradação de xenobióticos, é o *Phanerochaete chrysosporium* (ROBINSON et al., 2001). Este micro-organismo já foi utilizado na biodegradação de clorobenzeno gasoso (WANG et al., 2008); do pesticida Endosulfan (KULLMAN e MATSUMURA, 1996); do inseticida heptacloro (ARISOY e KOLANKAYA, 1998), além de alguns corantes (SANTOS et al., 2009; WESENBERG et al., 2003; MARTINS et al., 2001; CRIPPS, 1990).

Os corantes azóicos, a maior classe de corantes produzida comercialmente, não são facilmente degradadas por micro-organismos, mas podem ser degradados pelo *P. chrysosporium* (PASZCZYNSKI AND CRAWFORD, 1995).

O versátil fungo de decomposição branca *P. chrysosporium*, tem a capacidade de mineralizar além da lignina, pelo menos parcialmente e em alguns casos completamente, uma variedade de poluentes resistentes à degradação. O sistema lignolítico deste fungo é representado principalmente pelas enzimas lacase, lignina-peroxidase e manganês-peroxidase, as quais são produzidas em meios contendo fontes limitadas de carbono e nitrogênio. Estas enzimas têm a capacidade de despolimerizar a lignina e uma grande variedade de outros compostos. Especialmente para efluentes têxteis, alguns estudos têm sido realizados explorando sua capacidade de degradar e mineralizar corantes (TEIXEIRA et al., 2010; KUNZ et al., 2002; STOLZ, 2001).

Glenn e Gold (1983) relataram pela primeira vez a descoloração de vários corantes por *P. chrysosporium*. Experimentos com os corantes Poly B-411, Poly R-481, e Poly Y-606 evidenciaram que os corantes são substratos para as enzimas de degradação da lignina.

Lizier (2009) destaca que algumas peroxidases como a lignina-peroxidase e manganês-peroxidase catalisam a descoloração de corantes azóicos porque são agentes clareadores mais ativos do que os atualmente disponíveis e também são ambientalmente seguras.

Para Martins et al. (2001), a atividade enzimática do fungo *P. chrysosporium* tem um melhor desempenho em condições limitantes de nutrientes.

3.7 *Aspergillus oryzae*

O gênero *Aspergillus* é um grupo de fungos filamentosos facilmente encontrados na natureza. Eles são amplamente distribuídos geograficamente e têm sido observados em uma ampla gama de habitats, pois podem colonizar uma grande variedade de substratos (GALAGAN et al., 2005; USEPA, 1997).

Aspergillus oryzae é amplamente usado na tradicional indústria Japonesa de fermentação, que se originou há, aproximadamente, 2000 anos, assim como para a

produção de enzimas por companhias de biotecnologia. Acredita-se que os valores de vendas das indústrias que tem alguma relação com este fungo alcancem a marca de 1 % do produto nacional bruto Japonês (aproximadamente 50 bilhões de dólares). A sua importância levou ao que tem sido chamado no Japão o “kokkin”, que significa o “micro-organismo nacional” (DENNING et al., c2009).

Por sua grande importância na indústria de alimentos e bebidas, Galagan et al. (2005) e Machida et al. (2005) sequenciaram o genoma desta e de outras espécies do mesmo gênero para avaliarem seu potencial biotecnológico.

O fungo *A. oryzae* fragmenta o amido e as proteínas respectivamente em açúcares e peptídeos, produzindo grandes quantidades de enzimas hidrolíticas. Recentes desenvolvimentos têm facilitado o seu uso para a produção de diversas proteínas para aplicações industriais. (DENNING et al., c2009; MACHIDA et al., 2005).

O fungo *A. oryzae* tem sido utilizado para a produção de *sake* (vinho de arroz), *miso* (pasta de soja) e *shoyu* (molho de soja) (DENNING et al., c2009).

O fungo foi isolado pela primeira vez no koji, uma preparação de arroz cozido. A taxonomia dos fungos *Aspergillus* é baseada principalmente em características morfológicas e fisiológicas (USEPA, 1997).

De acordo com Amano Enzyme (2008) e Galagan et al. (2005), *A. oryzae* é classificado como um fungo imperfeito (anamórfico), não apresentando a fase sexual em seu ciclo de vida, reproduzindo-se assexuadamente por mitose dos esporos. Inicialmente foi chamado *Eurotium oryzae* e classificado como um Ascomiceto. Porém, como não foi encontrada fase sexual em seu ciclo, foi renomeado para *A. oryzae* (Ahlburg) Cohn.

O gênero *Aspergillus* possui inúmeras aplicações. O micro-organismo *A. oryzae* contribuiu para o estabelecimento da indústria moderna de enzimas microbianas e suas tecnologias relacionadas, além de ser amplamente explorado na indústria alimentícia e de bebidas. (AMANO ENZYME, 2008).

A. oryzae também pode ser utilizado na descoloração de efluentes têxteis, tanto por biossorção quanto por biodegradação. Porém ainda existem poucos estudos sobre esta capacidade.

Corso e Almeida (2009) avaliaram a capacidade de biorremediação de corantes em efluentes têxteis por *A. oryzae* e o identificaram como um potencial micro-organismo para remover corantes azóicos de soluções aquosas. Os resultados obtidos pelos autores demonstraram que *A. oryzae* autoclavado e não autoclavado, em sua forma paramorfogênica, são capazes de promover a descoloração e, diminuição da toxicidade dos corantes têxteis reativos com apenas 2 horas de contato.

Shakeri et al. (2008) utilizaram uma peroxidase recombinante de *A. oryzae* para descoloração do corante Remazol Brilliant Blue R, uma antraquinona.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Equipamentos

Estufa de cultivo Nova Ética modelo 400/ND, micro-ondas LG intellowave, balança analítica ADA 210/L, balança semi-analítica Shimadzu BL 3200H, autoclave vertical Phoenix AV 75, autoclave Fabbe 104 C, agitador magnético Fisatom modelo 752, agitador de tubos Phoenix AP 56, centrífuga Centribio 80-2B, mesa rotatória Catel CFW08, estufa de secagem Fanem modelo 315 SE, refrigeradores Brastemp 280 e Continental 460 modelo RC46, medidor de pH DMPH-2 Digimed, lupa Carl Zeiss Stem 2000, microscópio Micros Austria Rose MC300, espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC e espectrofotômetro FTIR Shimadzu IRPrestige-21.

4.2 Obtenção da forma paramorfogênica de *Aspergillus oryzae* e de *Phanerochaete chrysosporium*

4.2.1 Micro-organismos

As culturas fúngicas de *P. chrysosporium* (CCB 478) (Figura 3) proveniente da Coleção de Culturas do Instituto de Botânica de São Paulo, e de *A. oryzae* (CCT 5321) (Figura 4) proveniente da Coleção de culturas da Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia André Tosello, foram mantidas em tubos de ensaio com meio malte 2% (LODDER, 1970) inclinado em temperatura ambiente, sendo que para *P. chrysosporium* o meio foi modificado.

Figura 3: *Phanerochaete chrysosporium* em meio Malte 2% modificado

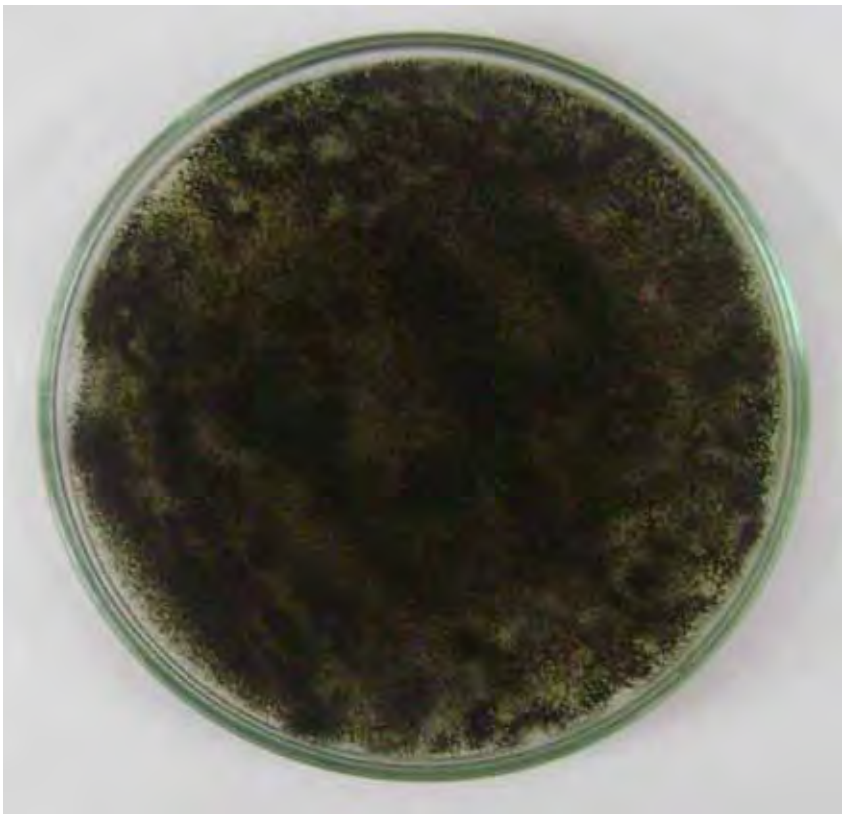


Figura 4: *Aspergillus oryzae* em meio Malte 2%

4.2.2 Meios de cultivo

Os meios de cultivo foram esterilizados em autoclave, assim como todo o material utilizado para repiques e inoculação.

- Meio malte 2% (LODDER, 1970) para *Aspergillus oryzae*

- Extrato de malte 2% ..... 4,0 g

- Ágar 2%..... 4,0 g

- Água destilada q.s.p. ..... 200 mL

- Meio Malte 2% (LODDER, 1970) modificado para *Phanerochaete chrysosporium*

- Extrato de malte 2%..... 4,0 g

- Ágar 2%..... 4,0 g

- Peptona 1% ..... 2,0 g

- Glicose 4% ..... 8,0 g

- Água destilada q.s.p. ..... 200 mL

Método: Os fungos *P. chrysosporium* e *A. oryzae* foram inoculados em tubos de ensaio contendo 7 mL de meio. As culturas foram mantidas em estufa de cultivo à 30ºC por 4 dias e posteriormente retirados permanecendo em temperatura ambiente por 3 dias até serem inoculados em Meio Mineral Mínimo (MMM).

- Meio mineral mínimo (MMM) (PONTECORVO et al., 1953) modificado

- $NaNO_3$ ..... 18,0 g

- KH_2PO_4 ..... 3,0 g

- KCl ..... 1,5 g

- $MgSO_4 . 7H_2O$ ..... 1,5 g

- Glicose * ..... 30,0 g

- Extrato de levedura ..... 3,0 g

- H_2O destilada q.s.p. ..... 3000 mL

* A glicose foi esterilizada separadamente para evitar carbonização na presença de sais.

Método: O Meio Mineral Mínimo (PONTECORVO et al., 1953) modificado foi utilizado para o crescimento dos pellets miceliais. As culturas de *P. chrysosporium* e *A. oryzae* foram utilizadas após 7 dias de cultivo para a realização do processo de paramorfogênese física que obedeceu ao método descrito por MARCANTI-CONTATO et al. (1997), conforme Figuras 5 e 6.

Frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de MMM esterilizados foram utilizados para a preparação dos pré-inóculos e inóculos, sendo que para o pré-inóculo foram adicionados 10g de cilindros de vidro de aproximadamente 6 mm de diâmetro com paredes de 2 mm de espessura para o fracionamento de micélios fúngicos.

Os pré-inóculos foram preparados com a adição de uma suspensão de esporos de cada fungo em MMM.

Os frascos Erlenmeyers com pré-inóculo ficaram sob agitação constante em *shaker* a 215 rpm com temperatura ambiente de 25 ± 1°C por 24 horas. Após este período, foram retirados assepticamente 5 mL de pré-inóculo e adicionados ao MMM sob as mesmas condições, porém o tempo necessário para o crescimento dos pellets foi de 72 horas para *P. chrysosporium* e de 32 horas para *A. oryzae*. Em seguida os pellets foram filtrados, lavados com água destilada e conservados em geladeira a 4ºC até a realização dos experimentos de interação biossortiva e de biodegradação.

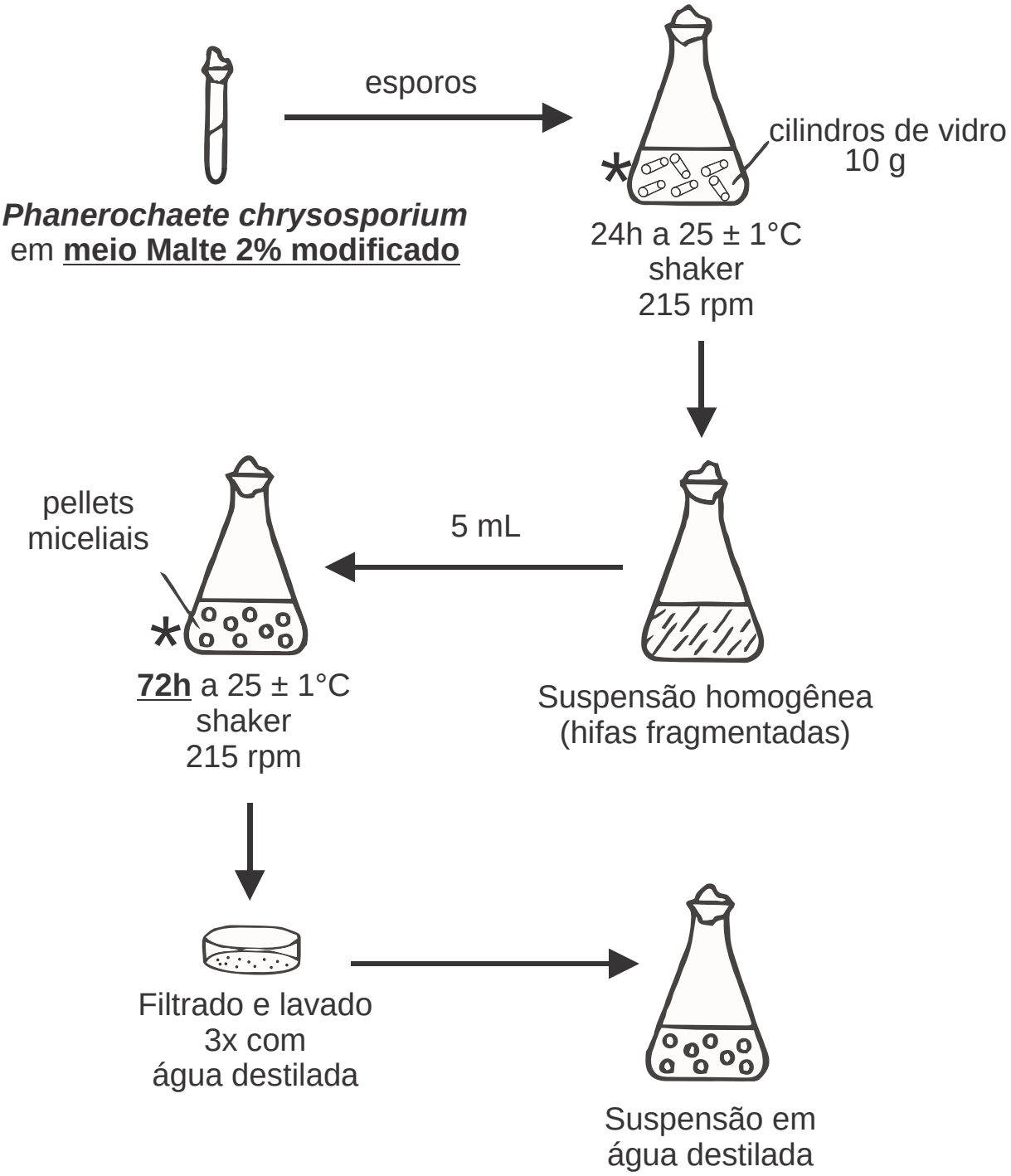


Figura 5: Esquema do processo de paramorfogênese, segundo Marcanti-Contato (1997), adaptado para *Phanerochaete chrysosporium*

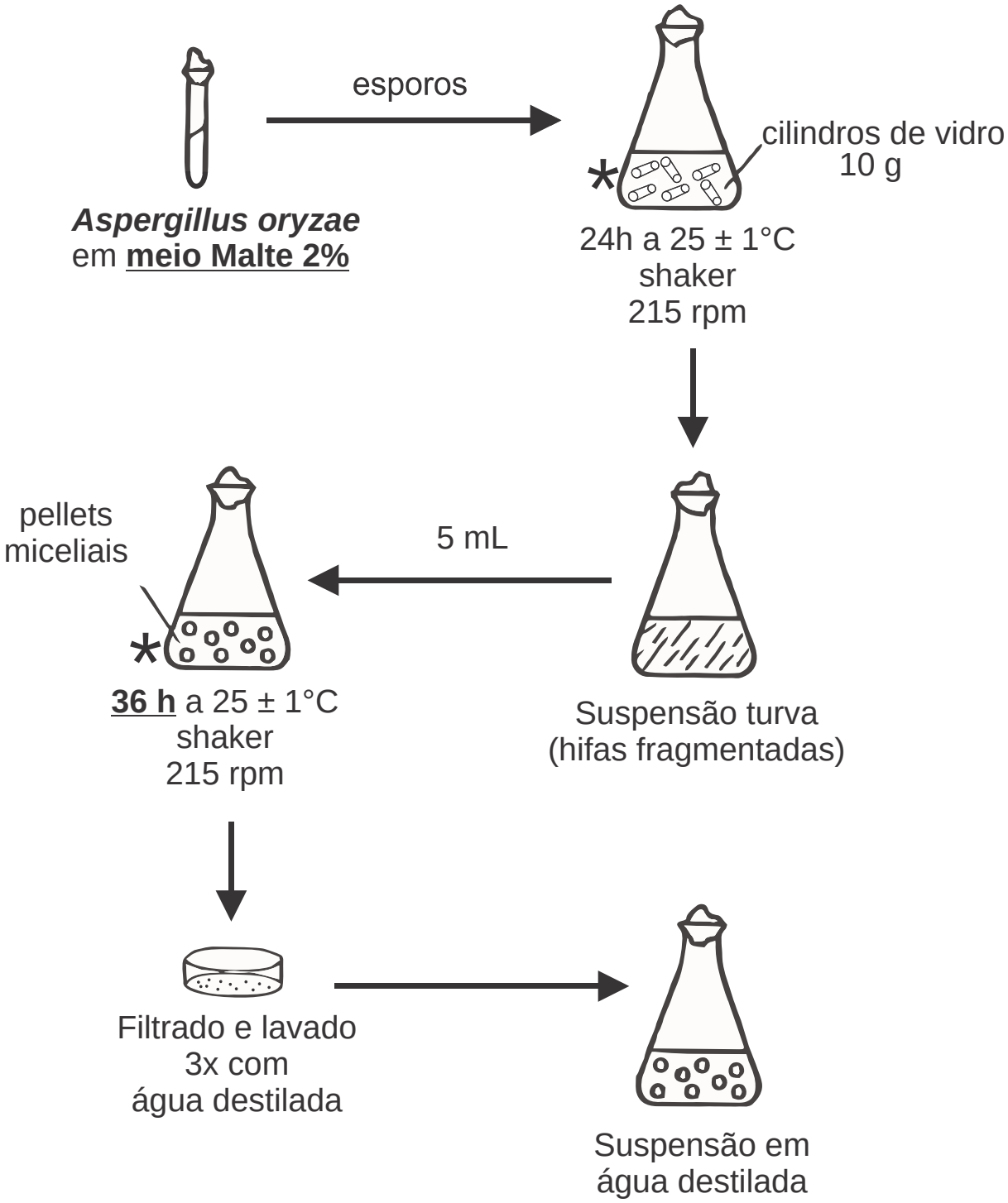


Figura 6: Esquema do processo de paramorfogênese, segundo Marcanti-Contato (1997), para *Aspergillus oryzae*

O processo de paramorfogênese foi realizado 6 vezes para *P. chrysosporium* e 3 vezes para *A. oryzae* com o intuito de obter quantidade suficiente para execução dos experimentos. O fungo *P. chrysosporium* desenvolveu-se lentamente em meio mineral mínimo, quando comparado com *A. oryzae*, necessitando então de um número maior de realizações do processo.

4.3 Obtenção de peso seco dos pellets de *P. chrysosporium* e *A. oryzae*

Através do peso seco foi possível quantificar a biomassa de *P. chrysosporium* e de *A. oryzae*. Primeiramente 6 cadinhos de porcelana foram colocados em estufa de secagem a 105°C ± 1 por 24 horas. Após este período os cadinhos foram pesados em balança analítica a cada 4 horas até a obtenção de peso constante. Em seguida foi adicionado 1 mL de biomassa de ambos os fungos, em triplicata, que foram levados novamente à estufa de secagem nas mesmas condições já descritas. Após obtenção de peso seco constante, a biomassa de cada fungo foi quantificada em mg/mL.

Para realização dos experimentos com quantidade aproximada de biomassa, foi necessário realizar o procedimento para *A. oryzae* até obtenção de peso seco equivalente ao de *P. chrysosporium.*

4.4 Corante Direct Blue 71 (DB71)

- Sinônimo: Sirius Light Blue BRR (ZOLLINGER, 1991);

- Produzido pela Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc.;

- Código Sigma-Aldrich: 21.240-7;

- Registro CAS (*Chemical Abstracts Service*): 4399-55-7

A *Chemical Abstracts Service* é uma divisão da Sociedade Americana de Química que atribui um número de registro para cada composto químico descrito na literatura.

- Lote: 35796CJ;

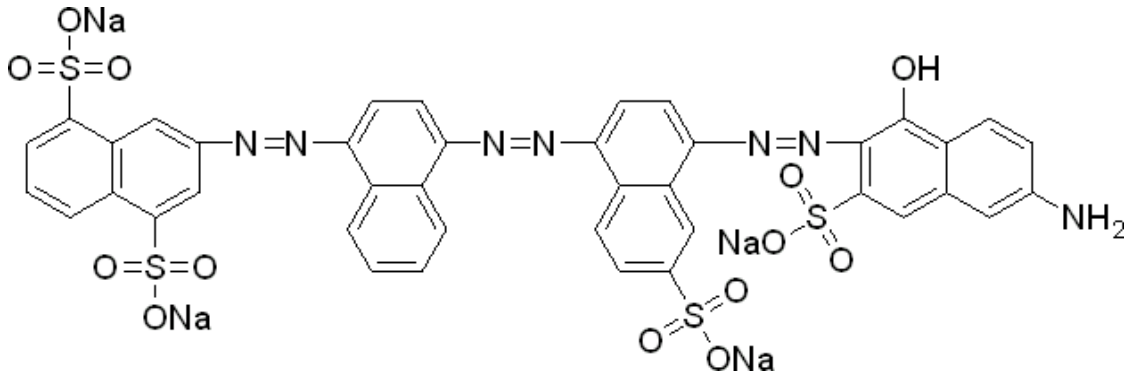
- Peso Molecular: 965.94;

- Registro no Colour Index (C.I.): 34140;

- Grau de Pureza: 50%;

- Fórmula molecular: $C_{40}H_{28}N_7NaO_{13}S_4$

- Estrutura molecular:



4.4.1 Preparo da solução estoque

A solução estoque do corante Direct Blue 71 com concentração final de 1000 µg/mL foi preparada a partir da dissolução de 100 mg do corante em pó em água destilada completando o volume para 100 mL. A solução foi armazenada em geladeira a 4°C durante a realização dos experimentos.

4.4.2 Teste de estabilidade em função do pH

O teste de estabilidade foi realizado com 3 valores de pH para verificação de possíveis alterações na estrutura do corante após o contato com diferentes concentrações do íon H^+. As soluções foram preparadas, em triplicata, em tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada com pH 2.5, 4.5 e 6.5, ajustada com H_2SO_4 0,01 M ou NaOH 0,01 M, quando necessário, e 1 mL da solução estoque do corante Direct Blue 71. Após homogeinização, as soluções foram analisadas em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC com varredura de 800 a 190 nm, em cubeta de quartzo com 5mm de caminho óptico.

4.4.3 Análise quantitativa

Para a análise quantitativa foram utilizadas soluções de corante com concentrações iguais a 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL preparadas com água destilada em pH 2.5, 4.5 e 6.5. Varreduras espectrais foram realizadas, em triplicata, no espectrofotômetro UV-VIS entre os comprimentos de onda de 800 e 190 nm, em cubeta de quartzo com caminho óptico de 5 mm para obtenção das retas padrão, visando determinar quantitativamente o corante remanescente em solução após o contato com os fungos.

4.5 Teste de biossortividade

Alíquotas de 1, 2, 3, 4 e 5 mL de pellets de *P. chrysosporium* e 1.5, 3, 4.5, 6 e 7.5 mL de *A. oryzae* foram adicionadas a tubos de ensaio em triplicata, contendo água destilada com pH 2.5, 4.5 e 6.5, ajustado com H_2SO_4 0,01 M ou NaOH 0,01 M, quando necessário, nas proporções de 8, 7, 6, 5 e 4 mL e 7.5, 6. 4.5, 3 e 1.5 mL respectivamente. Os diferentes volumes de biomassa utilizados para cada fungo foram determinados pelo peso seco em mg/mL. Em seguida foi aplicado 1 mL da solução estoque de corante, com concentração inicial de 1000 µg/mL, resultando em uma solução de 100 µg/mL. Os tubos foram levados à estufa de cultivo por 2 horas a 30°C ± 1. Após este período, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 20 minutos para a análise em espectrofotômetro UV-VIS. A varredura espectral foi realizada nos comprimentos de onda de 800 a 190 nm, em cubeta de quartzo com caminho óptico de 5 mm.

O comprimento de onda utilizado para as análises correspondeu ao grupo cromóforo em 583 nm.

Para avaliação dos dados obtidos com a espectrofotometria UV-VIS foram utilizadas as equações das retas padrão do corante DB71 para determinação da concentração remanescente e a porcentagem de descoloração utilizada por Vitor e Corso (2008) expressa a partir da seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Absorbância inicial (controle)} - \text{Absorbância observada (amostra)}}{\text{Absorbância inicial}} \text{ X } 100$$

4.5.1 Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção foram avaliadas a partir das equações de Freundlich e Langmuir e possibilitaram avaliar como ocorreu a interação entre os fungos na forma paramorfogência e o corante no processo de biossorção.

Os cálculos foram realizados a partir dos valores de absorbância e concentração remanescente obtidos no teste de biossorção, além do peso seco de biomassa em cada amostra.

As equações, utilizadas por Corso et al. (1987), estão descritas abaixo:

Equação de Freundlich:

$$\log (x/m) = \log k + n.\log Cr$$

Onde:

x/m = concentração de corante adsorvido por unidade de massa adsorvente (µg/mg),

Cr = concentração de corante remanescente em solução (µg/mL),

K = x/m quando Cr é igual a 1,

n = líquido expresso em litro de solução de corante por grama de adsorvente;

Equação de Langmuir:

$$Cr.(m/x) = 1/(k1.k2) + (1/k2).Cr$$

Onde:

k1= índice de capilaridade expresso em mL de solução de corante, por corante adsorvido (µg) na saturação (1/µg)

k2= quantia de soluto que deveria saturar a unidade de massa do adsorvente com uma camada única (µg/mg).

4.6 Teste de biodegradação do corante

Para este teste as amostras foram preparadas, em triplicata, em tubos de ensaio com 1 mL da solução estoque do corante DB71, 8 mL de água destilada em pH 2.5, ajustado com H_2SO_4 0,01 M, e 1 mL (1.03 mg/mL) de *P. chrysosporium* na forma paramorfogênica. Para os testes com *A. oryzae* utilizou-se 1 mL da solução estoque de corante, 1,5 mL (1.1 mg/mL) de *A. oryzae* na forma paramorfogênica, e 7,5 mL de água destilada em pH 2.5. O pH foi escolhido após análise dos resultados dos testes de biossorção.

O controle foi preparado sem biomassa com 9 mL de água destilada pH 2.5 e 1 mL da solução estoque do corante. As amostras foram incubadas em estufa de cultivo a 30°C ± 1 e realizaram-se as varreduras a cada 24 horas, em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC, totalizando 240 horas ao final do teste. As varreduras ocorreram nos comprimentos de onda de 800 a 190 nm, em cubeta de quartzo com caminho óptico de 5 mm.

A biodegradação do corante DB71 foi analisada a partir dos dados obtidos com a espectrofotometria UV-VIS visando determinar a absorbância relativa, segundo Glenn e Gold (1983), e com FTIR através da análise de bandas da estrutura molecular do corante antes e após o tratamento.

4.6.1 Análises de espectrofotometria UV-VIS

As análises em espectrofotometria UV-VIS possibilitam visualizar a redução da concentração de corante em solução, assim como as alterações nos espectros dos corantes. A absorbância relativa determinada a partir da espectrofotometria UV-VIS permite a identificação de indícios de biodegradação, que poderá ser confirmada após a análise de FTIR destas soluções.

Os valores de absorbância relativa foram determinados pela razão entre as absorbâncias em dois comprimentos de onda diferentes correspondendo ao grupo cromóforo (583 nm) e ao grupo azo (320 nm) (SILVERSTEIN et al.,1994). Portanto, A_{583}/A_{320} para o corante DB71.

De acordo com Glenn & Gold (1983), um composto apresenta sinais de biodegradação quando os valores de absorbância relativa dos tratamentos variam

muito em relação à absorbância relativa do controle. Isso ocorre porque as absorbâncias das amostras nos comprimentos de onda considerados não diminuem nas mesmas proporções, podendo ocasionar mudança na cor da solução. Porém, no caso das absorbâncias relativas se manterem constantes, o processo predominante é o de biossorção, ou seja, as absorbâncias diminuem proporcionalmente, não havendo mudança na estrutura do corante.

4.6.2 Análises de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) é uma importante ferramenta analítica. Os seus espectros permitem identificar bandas características de cada estrutura presente no corante. Desta forma, as alterações na estrutura molecular do corante resultantes da biodegradação podem ser encontradas.

Com os espectrofotômetros FTIR, podem-se obter espectros com maior resolução, amostras em quantidades menores e maior precisão nas medidas de número de ondas (BARBOSA, 2007).

A radiação infravermelha (IR) corresponde à parte do espectro situada entre as regiões do visível e das micro-ondas e situa-se na faixa de número de ondas entre 14290 e 200 cm^{-1}. A porção de maior utilidade para a química orgânica está situada entre 4000 e 400 cm^{-1} (BARBOSA, 2007; SILVERSTEIN et al., 1994).

Para realização das análises em FTIR do corante em solução, em espectrômetro FTIR Shimadzu IRPrestige-21, é necessária a confecção de pastilhas de corante com KBr.

Amostras dos sobrenadantes do teste de biodegradação foram retiradas e reservadas em geladeira a 4°C após cada leitura para confecção das pastilhas. Como controle utilizou-se o pó da solução controle, com concentração igual a 100 µg/mL, obtido por secagem em estufa a 105°C ± 1.

As amostras e a solução controle reservadas foram colocadas em cadinhos, previamente identificados, e levados à estufa de secagem por 48 horas a 105°C± 1, permanecendo em dessecador por mais 24 horas para a confecção das pastilhas. Após a secagem, as pastilhas foram preparadas com 1 mg do corante seco dos cadinhos e 149 mg de KBr através da compressão a 40 kN por 5 minutos. A pastilha

foi colocada em um suporte do equipamento para a leitura no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1}, com 16 varreduras e resolução de 4 cm^{-1}.

As linhas de base foram corrigidas em 4000, 2000 e 400 cm^{-1}, os espectros foram normalizados e apresentados em termos de absorbância.

As bandas referentes ao corante foram identificadas com auxílio da literatura.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção de Peso seco dos pellets de *P. chrysosporium* e *A. oryzae*

Através do peso seco foi possível quantificar, em mg/mL, qual a concentração de biomassa existente em 1 mL de pellets utilizados nos testes de biodegradação e biossorção.

Porém, observando-se os pesos secos obtidos com 1 mL de biomassa, verificou-se a necessidade de calcular o peso seco proporcional de ambos os fungos para que os testes fossem realizados com quantidades aproximadas de pellets, sendo possível fazer a comparação tanto da capacidade biossortiva quanto biodegradativa. Assim, foram adicionados 1.5 mL de *A. oryzae* para corresponder a 1 mL de *P. chrysosporium*.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores obtidos para 1 mL de *P. chrysosporium* e para 1,5 mL de *A. oryzae*, em triplicata.

Tabela 4: Peso seco dos pellets de *P. chrysosporium* e *A. oryzae*

	P. chrysosporium	***A. oryzae***
Peso seco (mg/mL)	10,33	11,00
Desvio Padrão	± 1,15	± 1,00

5.2 Teste de Estabilidade em função do pH

Os corantes podem sofrer alterações em sua estrutura de acordo com o pH da solução.

O pH inicial da solução aquosa de corante é um parâmetro controlador importante no processo de adsorção e particularmente na capacidade de adsorção do material adsorvente. O pH afeta a estrutura química das moléculas do corante e a superfície do adsorvente. Os corantes iônicos se dissociam produzindo moléculas aniônicas ou catiônicas em solução aquosa (BRUNO, 2008).

Os íons de hidrogênio e os íons hidroxila são adsorvidos fortemente. Sendo assim, a adsorção de outros íons é afetada pelo pH da solução. Em solução aquosa, um corante ácido é o primeiro a ser dissolvido e os grupos sulfonato deste corante ($-SO_3Na$) são dissociados e convertidos em íons aniônicos (MALL et al., 2006).

Como se pode visualizar na Figura 7, os espectros de absorção do corante DB71 em pH 4.5 e pH 6.5 permaneceram inalterados, portanto a concentração de íons H^+ presente na solução não causou alterações na estrutura molecular. Entretanto, nota-se que houve deslocamento do espectro referente ao pH 2.5, indicando que o corante foi susceptível à alterações devido a alta concentração de íons H^+.

O corante DB71 possui 4 grupos sulfonatos ligados a um íon Na^+ ($-SO_3Na$). Em meio ácido, ocorreu a dissociação liberando Na^+ na solução e permanecendo $–SO^-_3$ ligado aos anéis aromáticos da molécula de corante. Assim, os íons H^+ livres ligaram-se aos grupos $–SO^-_3$, modificando a estrutura original do corante, deslocando o espectro de absorção e consequentemente, interferindo na cor.

O mesmo ocorreu com o corante Malachite Green (MG), observado por Mall et al. (2005). O pH afetou a estabilidade estrutural de MG, e, por conseguinte, a sua intensidade de cor.

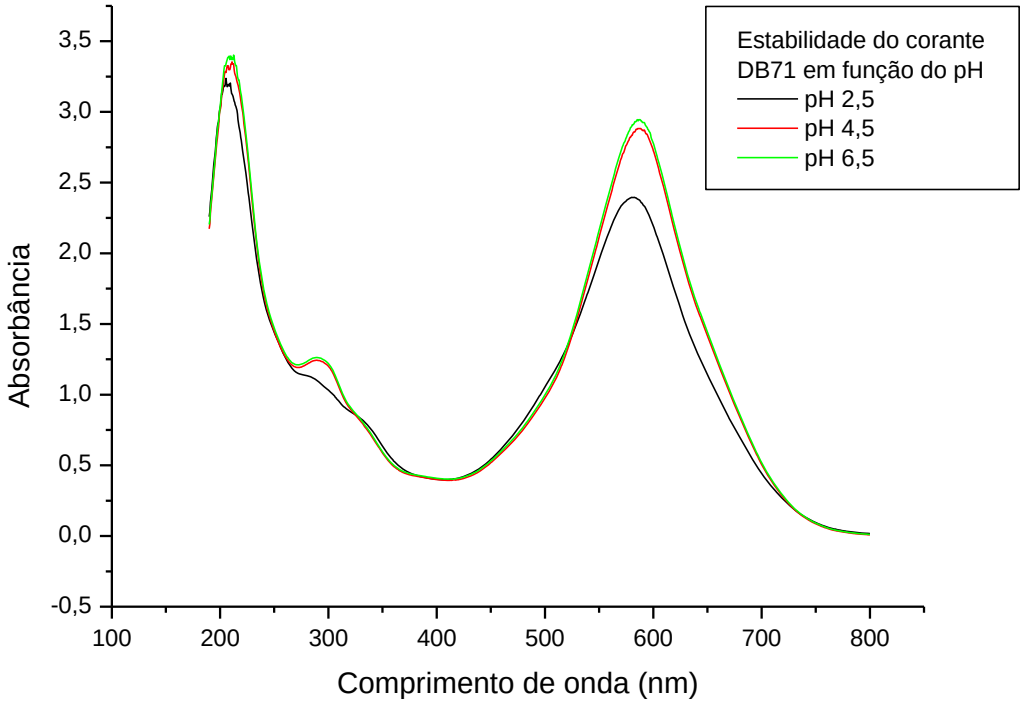


Figura 7: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5). Leitura em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC, cubeta de quartzo, caminho óptico de 5mm

5.3 Análise quantitativa

As absorbâncias utilizadas para os cálculos das retas-padrão, da absorbância relativa, da porcentagem de descoloração e da concentração remanescente de corante em solução foram determinadas após análise do espectro de absorção. O pico relacionado ao grupo cromóforo foi identificado em 583 nm, enquanto o grupo azo foi encontrado em 320 nm conforme apresentado por Silverstein et al. (1994). Saien e Soleymani (2007) encontraram o pico cromóforo do Direct Blue 71 em 584 nm e Yavuz e Aydin (2006) em 587 nm.

As varreduras espectrais do corante em solução juntamente com a equação da reta e o coeficiente de correlação (R) no pH 2.5, pH 4.5 e pH 6.5 nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL estão apresentadas nas Figuras 8, 9 e 10, respectivamente.

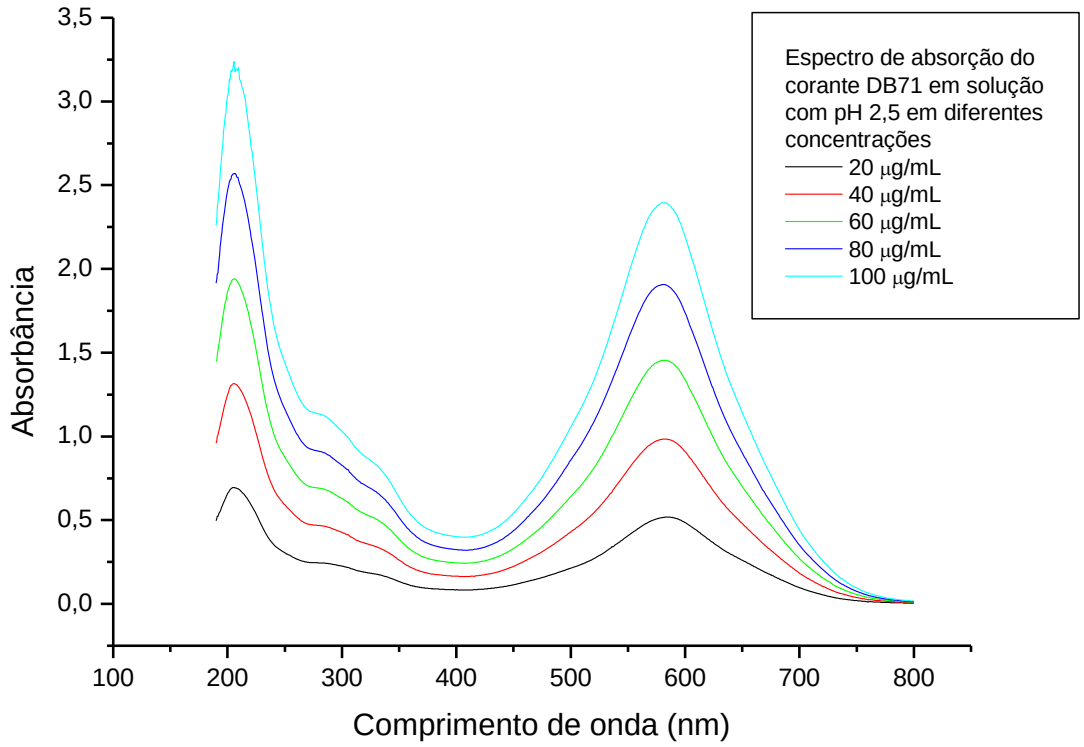


Figura 8: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71,em solução com pH 2.5, em diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL).

Absorbância $^{583\ nm}$ = 0,0492+(0,02336 x concentração remanescente)

Coeficiente de correlação (R) = 0,99994.

Leitura em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC

Cubeta de quartzo

Caminho óptico de 5mm

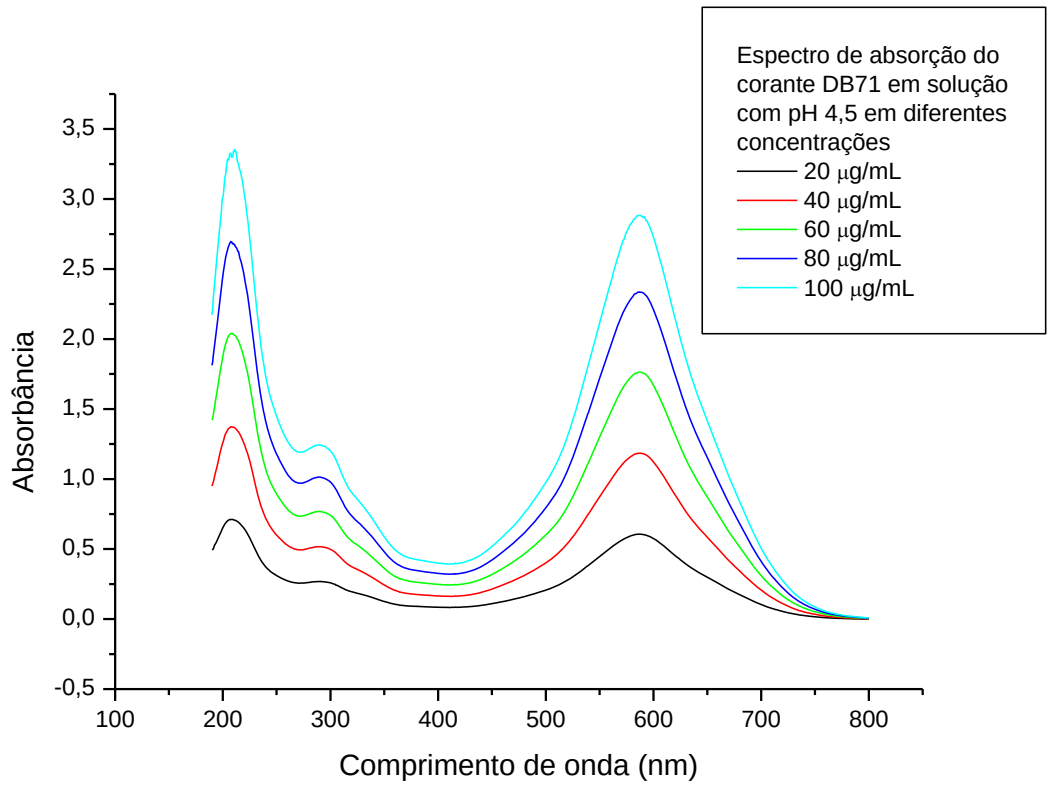


Figura 9: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71,em solução com pH 4.5, em diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL).

Absorbância $^{583\ nm}$ = 0,04682+(0,02827 x concentração remanescente)

Coeficiente de correlação (R) = 0,99990.

Leitura em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC

Caminho óptico de 5mm

Cubeta de quartzo

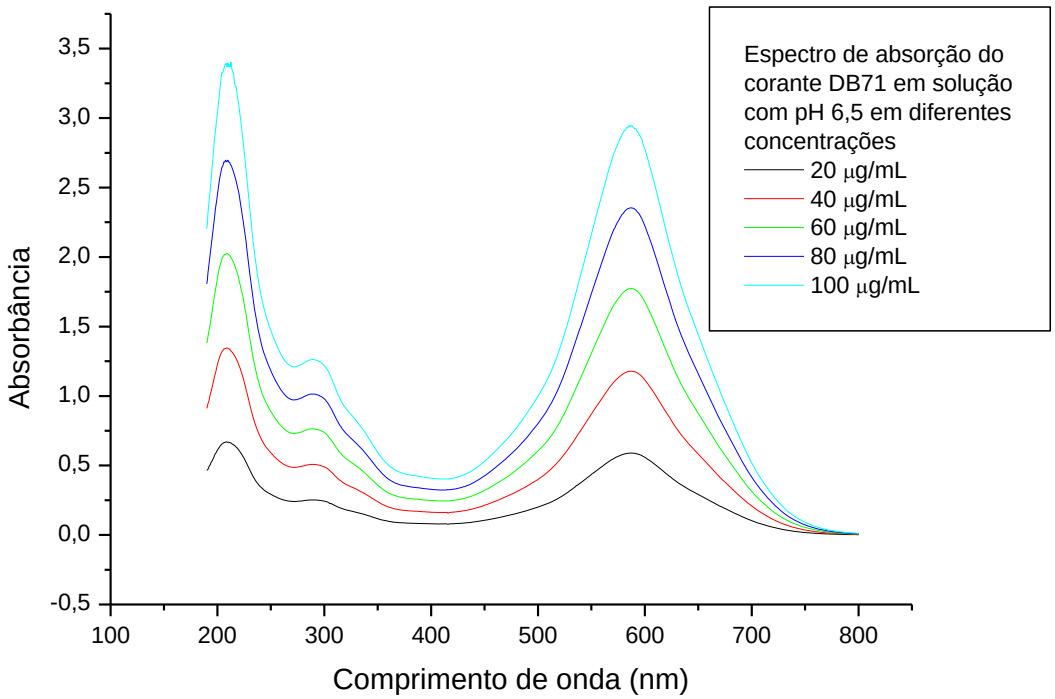


Figura 10: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71,em solução com pH 6.5, em diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL).

Absorbância $^{583\ nm}$ = 0,00197+(0,02929 x concentração remanescente)

Coeficiente de correlação (R) = 0,99999.

Leitura em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC

Cubeta de quartzo

Caminho óptico de 5mm

A equação gerada com os dados obtidos da reta padrão em cada pH foi utilizada para determinação da concentração remanescente de corante em solução após interação com os fungos.

5.4 Teste de biossortividade

Foram avaliadas a porcentagem de descoloração e a correlação entre quantidade de biomassa em mg/mL e concentração remanescente de corante em cada solução-teste. A concentração remanescente indica a quantidade de corante, em µg/mL, que permaneceu em solução, sem aderir-se ao fungo.

Os dados obtidos por espectrofotometria UV-VIS após realização do teste de biossorção entre o corante Direct Blue 71 em solução com pH 2.5, 4.5 e 6.5 e os fungos *P. chrysosporium* e *A. oryzae* na forma paramorfogênica, encontram-se nas Tabelas de 5 a 10 e Figuras de 11 a 18.

As Figuras 11, 12 e 13 apresentam a correlação entre a concentração de pellets de *P. chrysosporium* em mg/mL e a concentração remanescente do corante em solução com pH 2.5, 4.5 e 6.5, respectivamente.

A concentração de corante removida da solução por adsorção nos pellets é representada através da porcentagem de descoloração. As porcentagens de descoloração das soluções de corante com pH 2.5, 4.5 e 6.5, após 2 horas de interação com *P. chrysosporium,* estão exibidas nas Tabelas 5, 6 e 7.

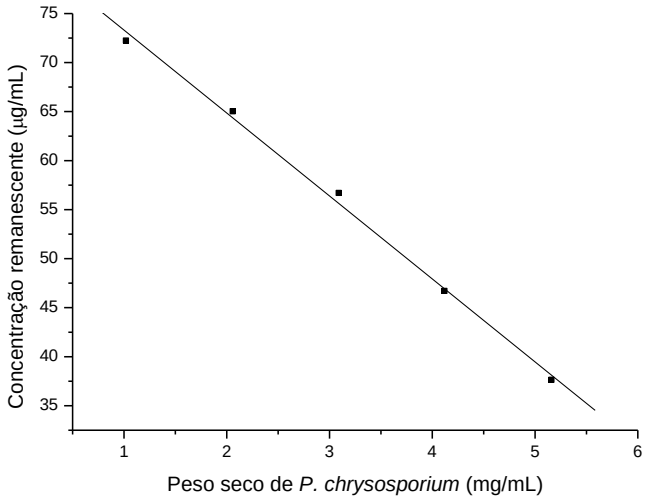


Figura 11: Correlação entre a concentração de *P. chrysosporium* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 2.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1

Concentração Remanescente = 81,77877 + (-8,46283 * Concentração de biomassa)

Coeficiente de correlação (R) = 0,99822

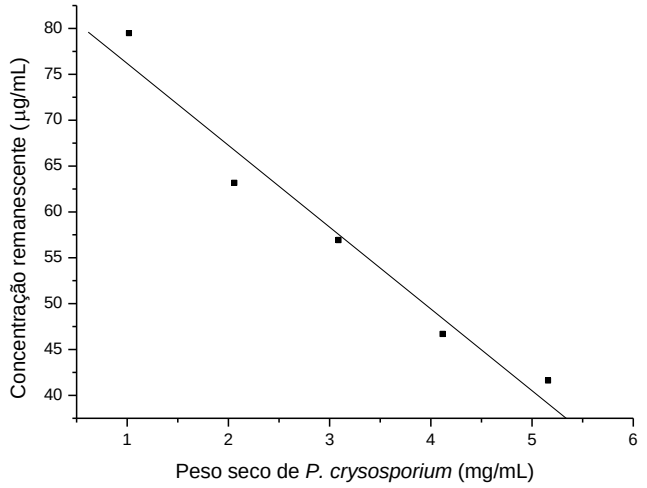


Figura 12: Correlação entre a concentração de *P. chrysosporium* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 4.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1

Concentração Remanescente = 85,09693 + (-8,91772 * Concentração de biomassa)

Coeficiente de correlação (R) = 0,98035

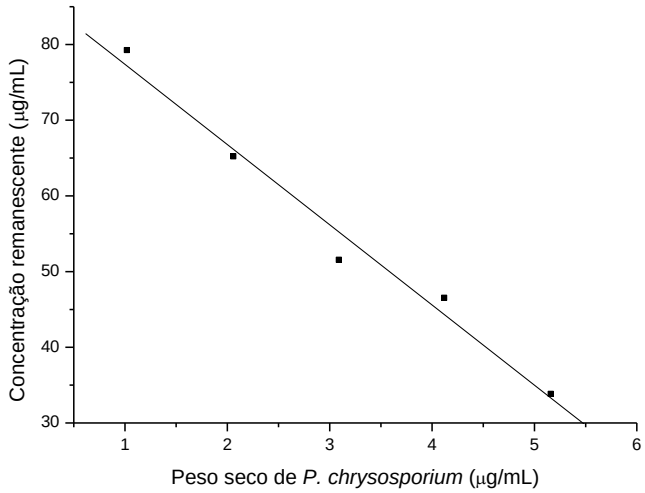


Figura 13: Correlação entre a concentração de *P. chrysosporium* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 6.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1

Concentração Remanescente = 87,97734 + (-10,59721 * Concentração de biomassa)

Coeficiente de correlação (R) = 0,99018

Tabela 5: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 2,5 após teste de Biossorção com *P. chrysosporium* na forma paramorfogência

P. chrysosporium **(mg/mL)**	**Absorbância controle**	**Absorbância amostra**	**Descoloração (%)**
1,03	2,5277	1,7337	31,41
2,07	2,5277	1,5657	38,06
3,10	2,5277	1,3709	45,76
4,13	2,5277	1,1376	54,99
5,17	2,5277	0,9257	63,38

Tabela 6: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 4,5 após teste de Biossorção com *P. chrysosporium* na forma paramorfogência

P. chrysosporium **(mg/mL)**	**Absorbância controle**	**Absorbância amostra**	**Descoloração (%)**
1,03	2,821	2,2902	18,82
2,07	2,821	1,8288	35,17
3,10	2,821	1,6527	41,41
4,13	2,821	1,3634	51,67
5,17	2,821	1,2197	56,76

Tabela 7: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 6,5 após teste de Biossorção com *P. chrysosporium* na forma paramorfogência

P. chrysosporium **(mg/mL)**	**Absorbância controle**	**Absorbância amostra**	**Descoloração (%)**
1,03	2,8037	2,3191	17,28
2,07	2,8037	1,9079	31,95
3,10	2,8037	1,5075	46,23
4,13	2,8037	1,3602	51,49
5,17	2,8037	0,9885	64,74

A Figura 14 apresenta a análise comparativa da biossorção do corante DB71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com *P. chrysosporium* a 30°C ± 1.

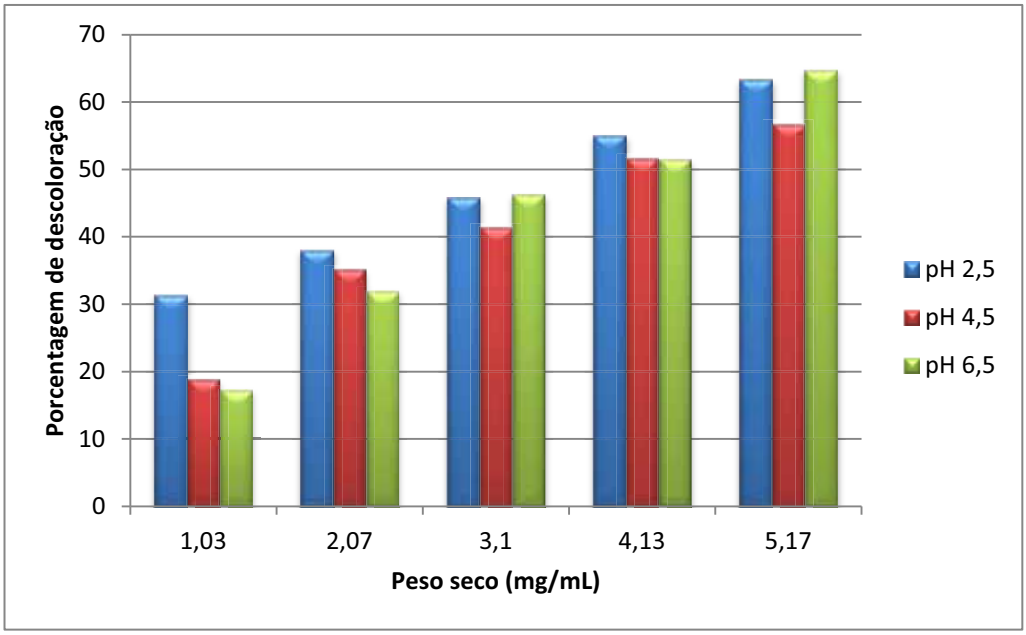


Figura 14: Análise comparativa da biossorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com *P. chrysosporium* a 30°C ± 1

As Figuras 15, 16 e 17 apresentam a correlação entre a concentração de *A. oryzae* em mg/mL e a concentração remanescente do corante em solução com pH 2.5, 4.5 e 6.5, respectivamente.

As porcentagens de descoloração das soluções de corante com pH 2.5, 4.5 e 6.5, após 2 horas de interação com *A. oryzae,* estão exibidas nas Tabelas 8, 9 e10.

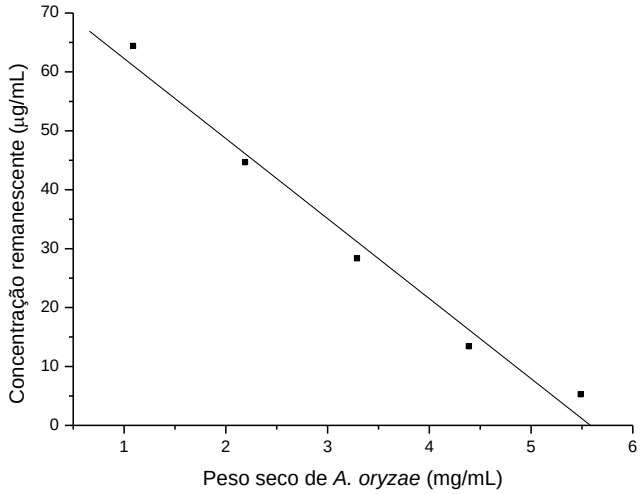


Figura 15: Correlação entre a concentração de *A. oryzae* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 2.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1

Concentração Remanescente=75,868+(-13,58909*Concentração de biomassa)

Coeficiente de correlação (R) = 0,99008.

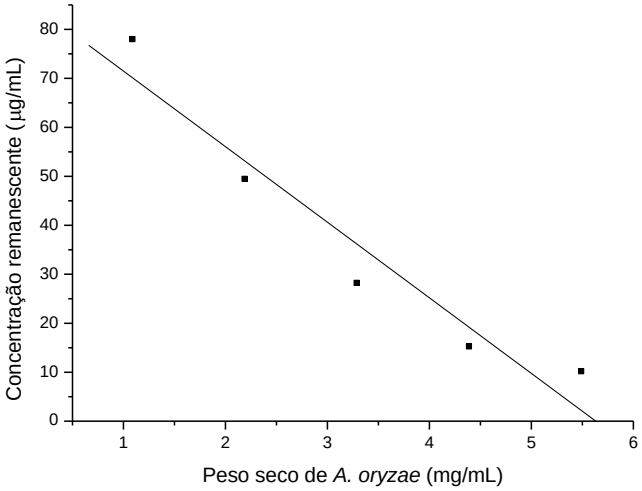


Figura 16: Correlação entre a concentração de *A. oryzae* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 4.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1

Concentração Remanescente=86,935+(-15,43727*Concentração de biomassa)

Coeficiente de correlação (R) = 0,96425.

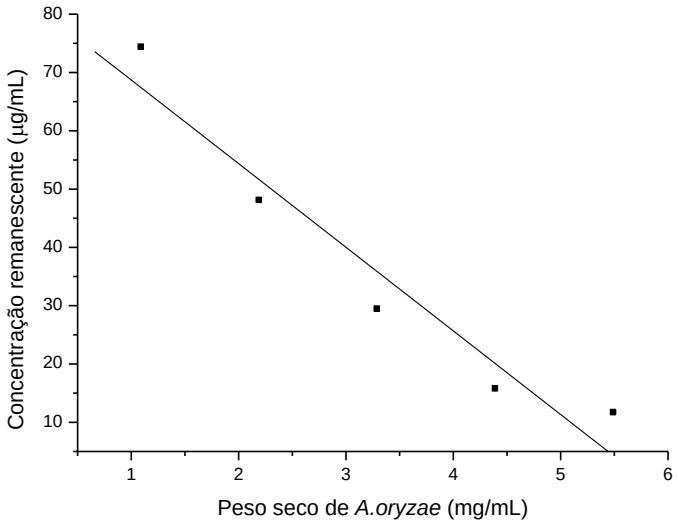


Figura 17: Correlação entre a concentração de *A. oryzae* (mg/mL) e a concentração remanescente do corante DB71(µg/mL) em solução com pH 6.5, com concentração inicial de 100 µg/mL após 2 horas de contato a 30°C ± 1

Concentração Remanescente=83,044+(-14,34*Concentração de biomassa)

Coeficiente de correlação (R) = 0,96648.

Tabela 8: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 2,5 após teste de Biossorção com *A. oryzae* na forma paramorfogência

A. oryzae **(mg/mL)**	**Absorbância controle**	**Absorbância amostra**	**Descoloração (%)**
1,1	2,4222	1,5489	36,05
2,2	2,4222	1,0878	55,09
3,3	2,4222	0,7071	70,81
4,4	2,4222	0,3580	85,22
5,5	2,4222	0,1678	93,07

Tabela 9: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 4,5 após teste de Biossorção com *A. oryzae* na forma paramorfogência

A. oryzae **(mg/mL)**	**Absorbância controle**	**Absorbância amostra**	**Descoloração (%)**
1,1	2,8628	2,2451	21,58
2,2	2,8628	1,4386	49,75
3,3	2,8628	0,8382	70,72
4,4	2,8628	0,4713	83,54
5,5	2,8628	0,3285	88,53

Tabela 10: Porcentagem de descoloração da solução de corante Direct Blue 71 em pH 6,5 após teste de Biossorção com *A. oryzae* na forma paramorfogência

A. oryzae **(mg/mL)**	**Absorbância controle**	**Absorbância amostra**	**Descoloração (%)**
1,1	2,821	2,1763	22,85
2,2	2,821	1,4068	50,13
3,3	2,821	0,8596	69,53
4,4	2,821	0,459	83,73
5,5	2,821	0,34	87,95

A Figura 18 apresenta a análise comparativa da biossorção do corante DB71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com *A. oryzae* a 30°C ± 1

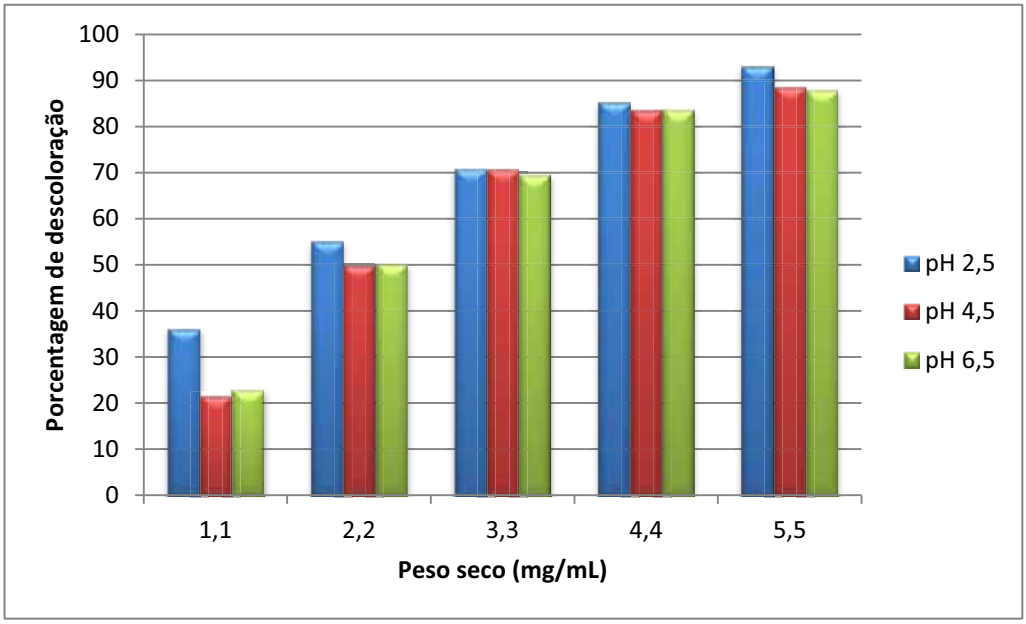


Figura 18: Análise comparativa da biossorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com *A. oryzae* a 30°C ± 1

Observando-se tanto as Figuras 11,12 e 13 para *P. chrysosporium* quanto as Figuras 15, 16 e 17 para *A. oryzae*, é possível notar que quanto maior a concentração de biomassa, menor é a concentração remanescente do corante em solução. A descoloração da solução é alta com maior concentração de biomassa porque há maior superfície de contato entre a parede celular do fungo e as moléculas do corante em solução, ocorrendo a biossorção.

Comparando-se a capacidade biossortiva de cada micro-organismo nos 3 valores de pH testados, nota-se que ambos os fungos apresentaram melhor desempenho em pH 2.5, enquanto que, em pH 4.5 e pH 6.5, os resultados para biossorção se mantiveram muito próximos.

A mudança de pH afeta o processo de adsorção através da dissociação de grupos funcionais nos sítios ativos da superfície do adsorvente. Esta situação

promove uma mudança na cinética da reação e nas características de equilíbrio do processo de adsorção (MALL et al., 2006).

Para Mall et al. (2005) é comum a observação de que a adsorção de ânions na superfície do adsorvente ocorre favoravelmente em pH mais baixo devido a presença de íons H^+.

Uma vez que a molécula de corante tem cargas negativas, quando em solução aquosa, os sítios positivos da biomassa fúngica se tornam favoráveis para a biossorção do corante. Em condições alcalinas, a diminuição da capacidade de biossorção pode ocorrer devido ao aumento do número de cargas negativas distribuídas na superfície da biomassa fúngica, que resultaria em repulsão eletrostática entre o adsorvente e moléculas de corante. (XIONG et al., 2010).

Em pH 2.5, os grupos sulfonato do corante DB71 dissociam-se em $–SO^-_3$ e Na^+. Portanto, os ânions da molécula de corante foram facilmente adsorvidos pela parede celular dos fungos.

Para Crini (2006), a parede celular, constituída principalmente de polissacarídeos, proteínas e lipídios, possui muitos grupos funcionais. Os corantes podem interagir com esses grupos ativos na superfície celular de uma maneira diferente. Os mecanismos de ligação podem variar de físicos (forças de Van der Waals) a químicos (ligação iônica ou covalente). No entanto, hoje é reconhecido que a eficiência e a seletividade de adsorção pela biomassa existe devido a mecanismos de troca iônica.

Ainda há pouca informação sobre a organização ionogênica dos constituintes da parede celular dos fungos, porém, segundo Burns (1980), glucanas, celulose, quitina e quitosana estão entre estes constituintes.

Kimura et al. (1999) investigaram o efeito do pH na adsorção de corantes reativos em microesferas de quitosana e constataram que no intervalo de pH de 2,0 a aproximadamente 6,0, as interações são de natureza eletrostática entre os sítios adsorventes NH^{3+} e grupos aniônicos dos corantes. Acima do pH 6,0 a adsorção é praticamente independente do pH, sendo atribuída a um processo apenas difusional. Deste modo, acredita-se que o grupo aniônico do corante DB71 interagiu com os

sítios positivos existentes na parede celular de *P. chrysosporium* e *A. oryzae*, favorecendo o processo biossortivo em pH ácido.

Em estudos realizados por Atar et al. (2011), Mall et al. (2006) e Kimura et al. (1999), a adsorção também foi favorecida em pH ácido e os níveis de adsorção foram reduzidos com o aumento do pH.

Os sobrenadantes dos testes de biossorção das soluções de corante em pH 2.5, 4.5 e 6.5 com 5,17 mg/mL de *P. chrysosporium* e 5,5 mg/mL de *A. oryzae*, podem ser visualizados nas Figuras 19 e 20, respectivamente. A diferença na tonalidade do corante em solução com pH 2,5 para as soluções com pH 4.5 e 6.5 é perceptível nas fotos abaixo, assim como a eficiência da biossorção por *A. oryzae.*

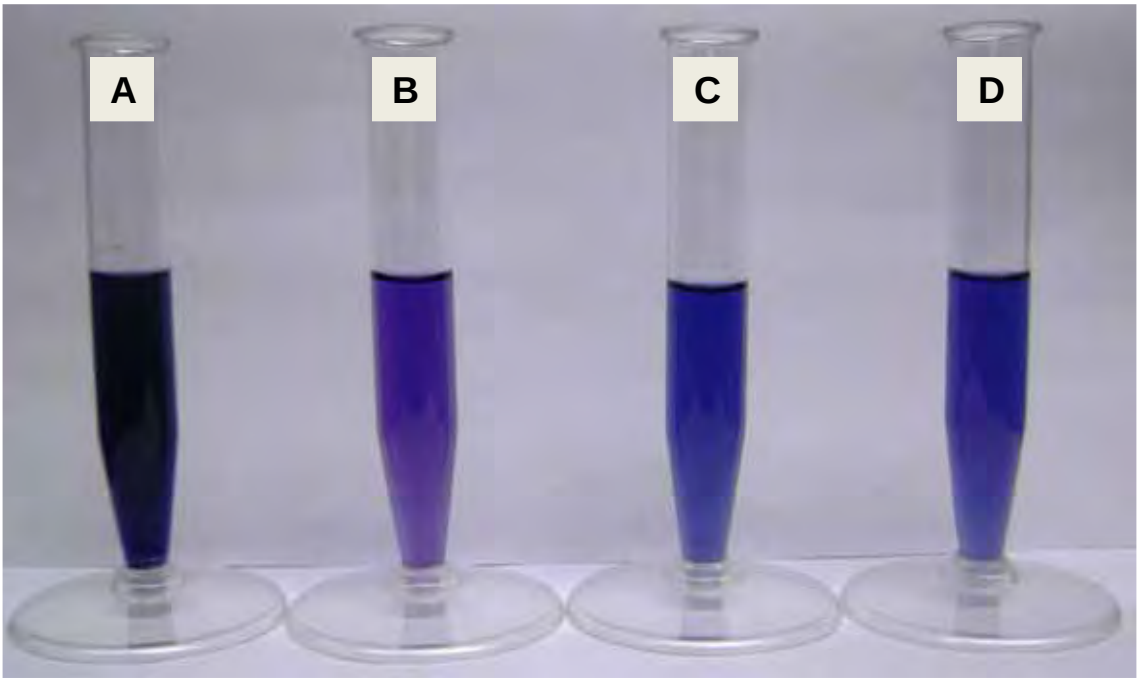


Figura 19: Solução controle (A) e sobrenadante das soluções de corante com pH 2.5 (B), 4.5 (C) e 6.5 (D) após tratamento com 5,17 mg/mL de *P. chrysosporium* na forma paramorfogênica

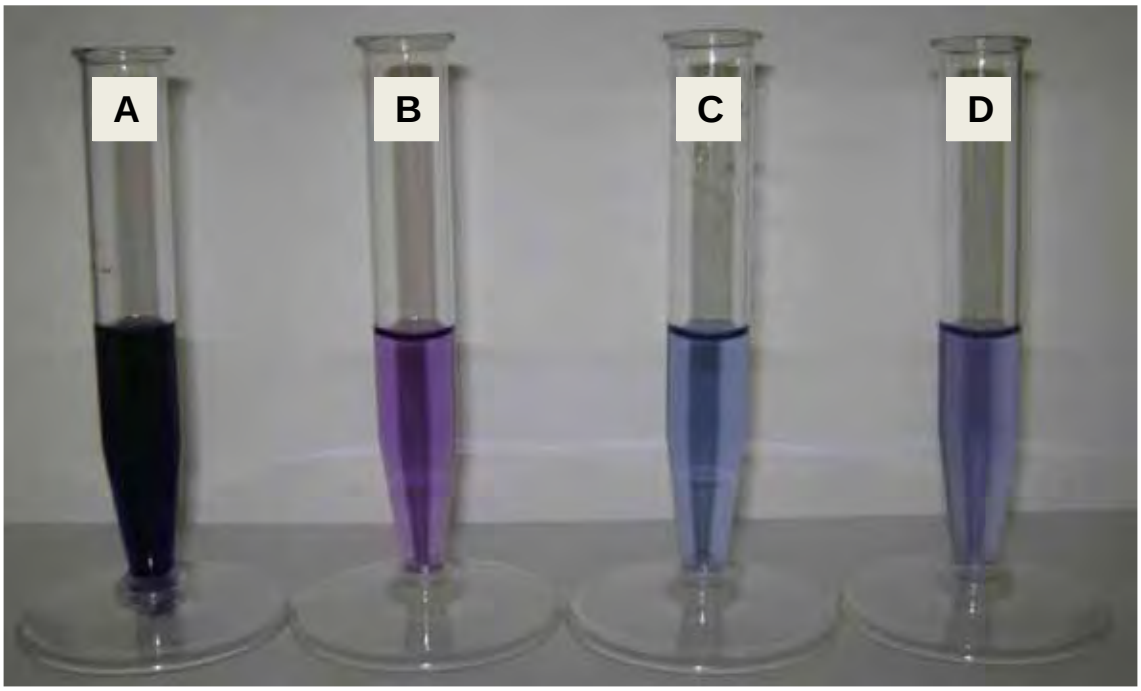


Figura 20: Solução controle (A) e sobrenadante das soluções de corante com pH 2.5 (B), 4.5 (C) e 6.5 (D) após tratamento com 5,5 mg/mL de *A. oryzae* na forma paramorfogênica

A Figura 21 também mostra a eficiência de *A. oryzae* em pH 2.5 para a biossorção quando comparado ao basidiomiceto *P. chrysosporium*.

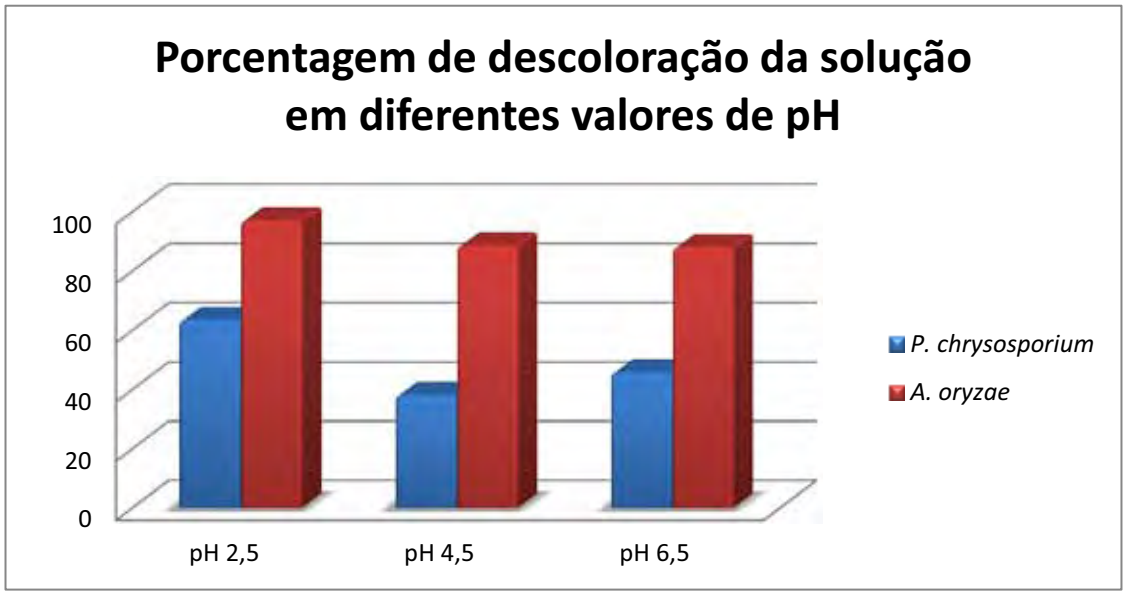


Figura 21: Análise comparativa da biossorção do corante Direct Blue 71 em solução com diferentes valores de pH (2.5, 4.5 e 6.5) após 2 horas de interação com 5,17 mg/mL de *P. chrysosporium* e 5,5 mg/mL de *A. oryzae* a 30°C ± 1

Portanto, a acidez do meio é um fator importante, influenciando as interações entre adsorvente e adsorbato no que diz respeito a interações eletrostáticas (KIMURA et al., 1999).

Nas Figuras 22 e 23 podem ser visualizados os pellets de *P. chrysosporium* e de *A. oryzae*, respectivamente, antes e após adsorção do corante DB71 em solução.

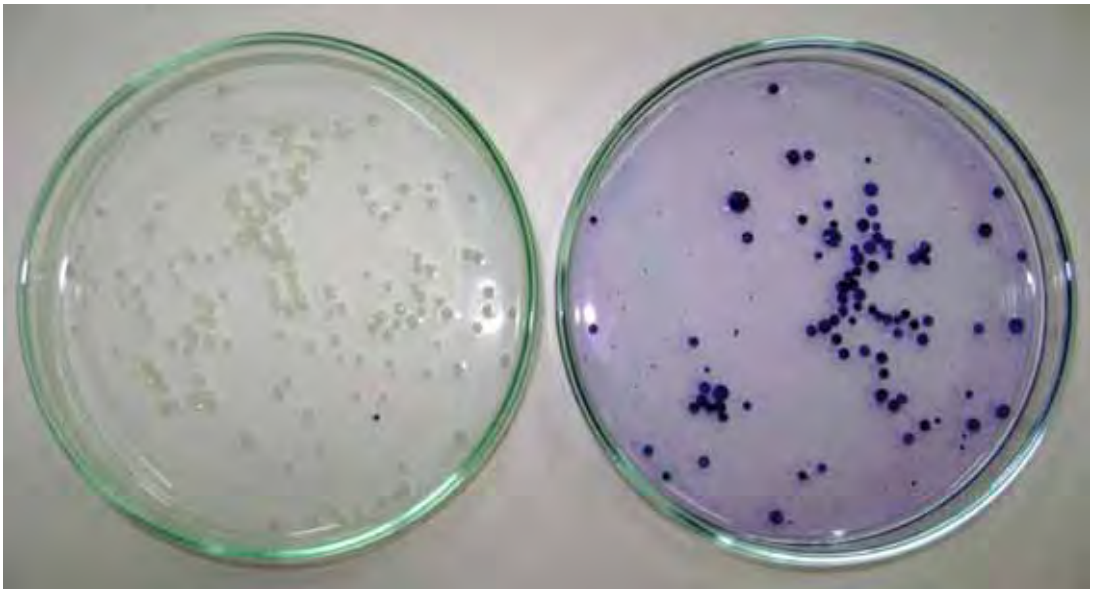


Figura 22: *P. chrysosporium* antes (esquerda) e após (direita) o processo de biossorção

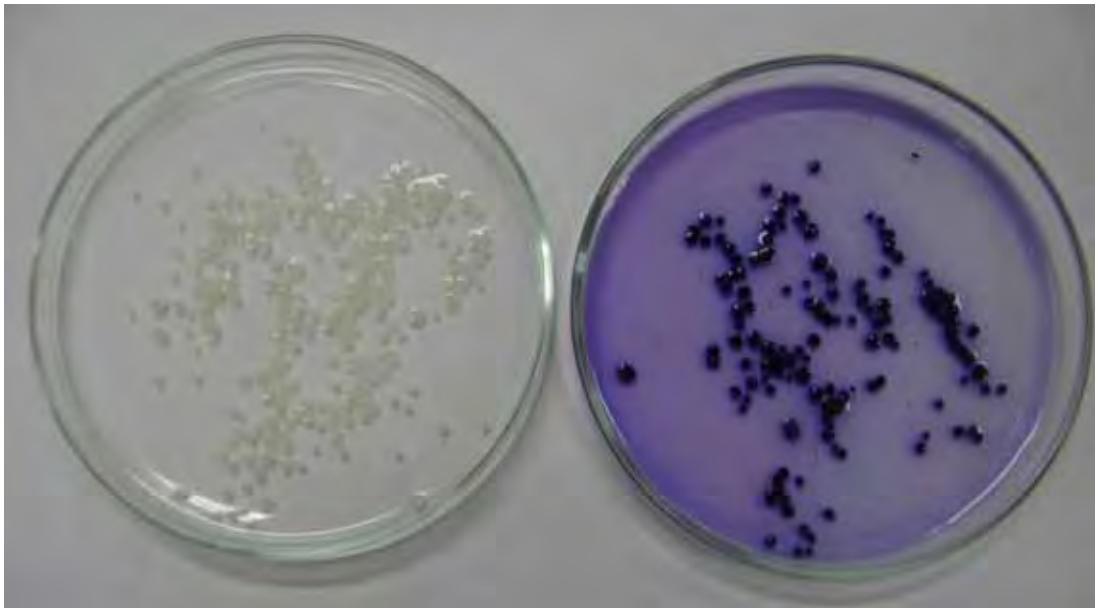


Figura 23: *A. oryzae* antes (esquerda) e após (direita) processo de biossorção

Verifica-se que antes do processo de biossorção, os pellets encontram-se brancos. Após 2 horas de contato entre a biomassa e o corante em solução, as moléculas de corante se aderiram à parede celular dos fungos, deixando os pellets coloridos.

5.4.1 Isotermas de adsorção

O modo como ocorreu a biossorção do corante Direct Blue 71 pelos fungos *P. chrysosporium* e *A. oryzae,* na forma paramorfogênica, pôde ser verificado através de análises das isotermas de adsorção obtidas a partir das equações de Freundlich e Langmuir.

Após análise dos dados de biossorção foi possível determinar os coeficientes de correlação (R) para cada fungo e cada pH testados.

As Figuras 24, 26 e 28 apresentam as isotermas de Freundlich para *P. chrysosporium* e o corante em solução com pH 2.5, 4.5 e 6.5, respectivamente enquanto que as Figuras 25, 27 e 29 apresentam as isotermas de Langmuir.

Os coeficientes de correlação estão apresentados na Tabela 11, para as equações de Freundlich e Langmuir para ambos os fungos nos valores de pH testados (2.5, 4.5 e 6.5).

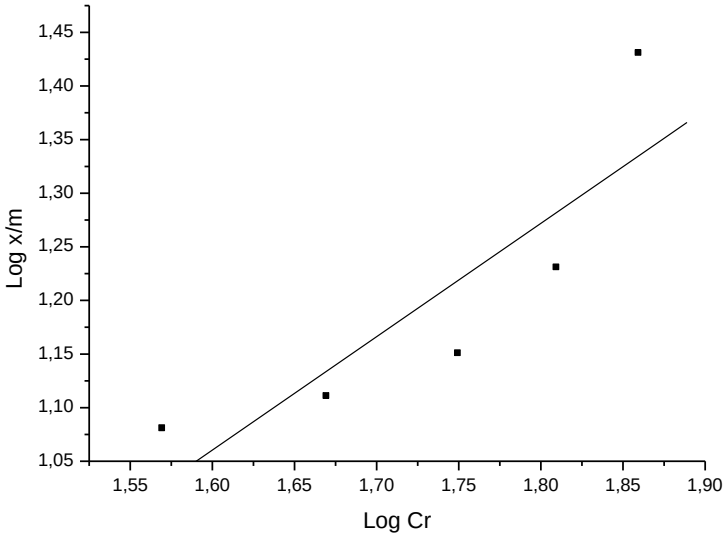


Figura 24: Isoterma de adsorção de Freundlich para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 2,5

log x/m = -0,63092 + (1,05711.log Cr)

R = 0,86597

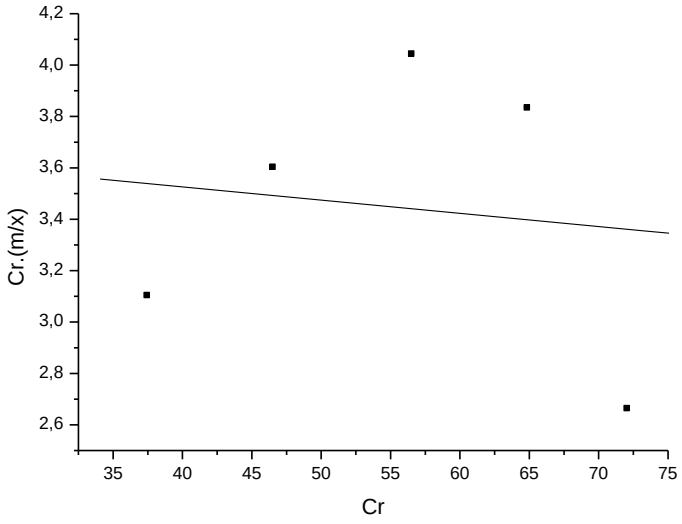


Figura 25: Isoterma de adsorção de Langmuir para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 2,5

Cr.(m/x) = 3,73134 + (-0,00514.Cr

R = 0,12679

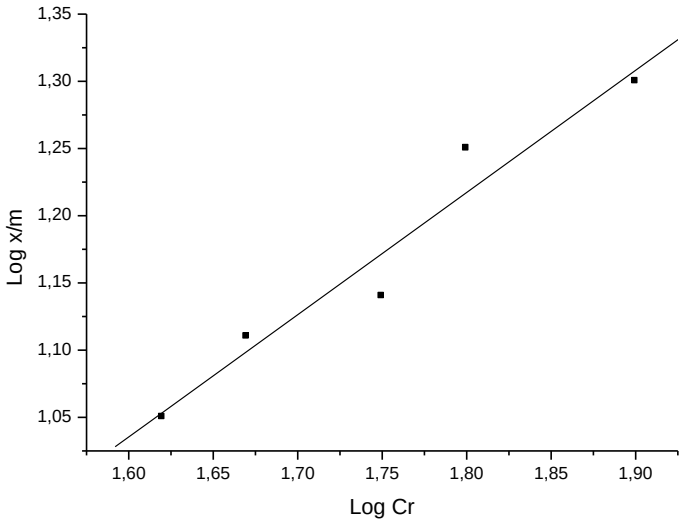


Figura 26: Isoterma de adsorção de Freundlich para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 4,5

log x/m = -0,41942 + (0,90928.log Cr)

R = 0,97258

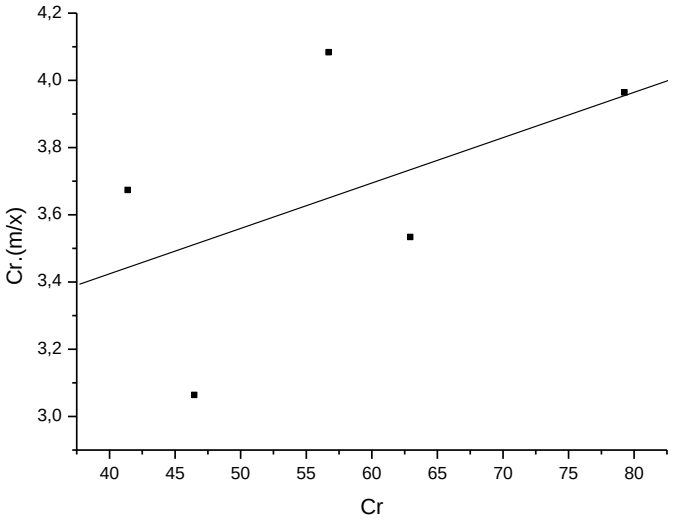


Figura 27: Isoterma de adsorção de Langmuir para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 4,5

Cr.(m/x) = 2,88415 + (0,0135.Cr)

R = 0,50076

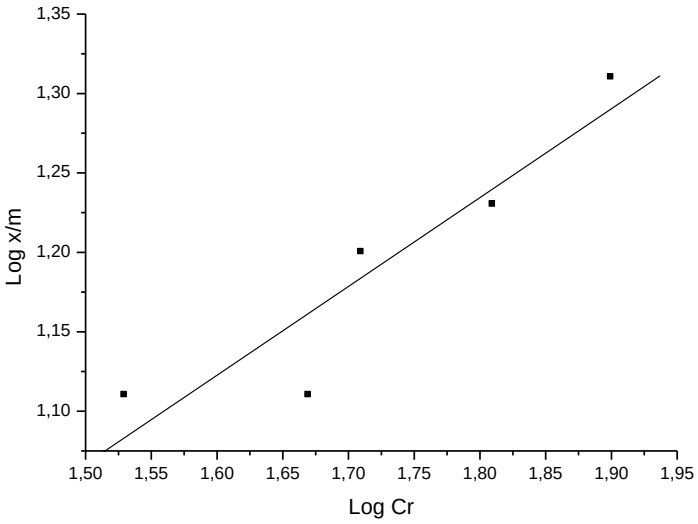


Figura 28: Isoterma de adsorção de Freundlich para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 6,5

log x/m = 0,22759 + (0,5594.log Cr)

R = 0,92591

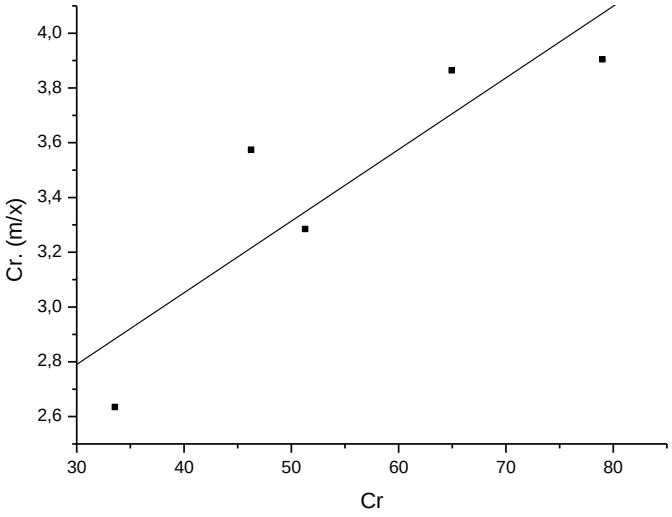


Figura 29: Isoterma de adsorção de Langmuir para *P. chrysosporium* e o corante DB71 em solução com pH 6,5

Cr.(m/x) = 2,00578 + (0,02616.Cr)

R = 0,87842

As Figuras 30, 32 e 34 apresentam as isotermas de Freundlich para *A. oryzae* e o corante em solução com pH 2.5, 4.5 e 6.5, respectivamente enquanto que as Figuras 31, 33 e 35 apresentam as isotermas de Langmuir.

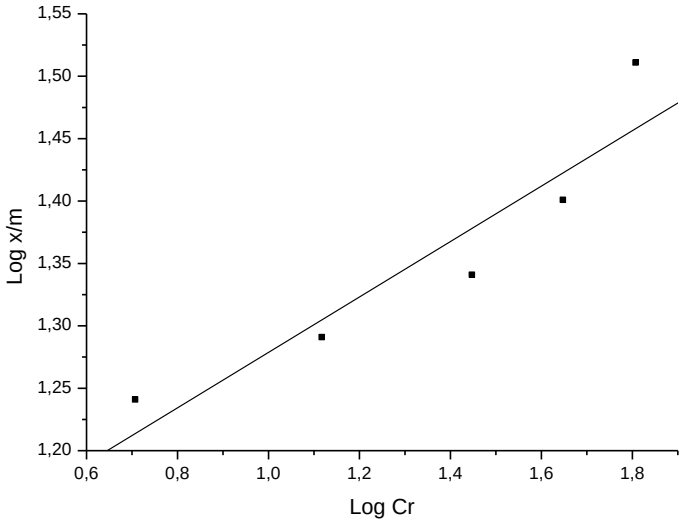


Figura 30: Isoterma de adsorção de Freundlich para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 2,5

log x/m = 1,05672 + (0,22202.log Cr)

R = 0,9342

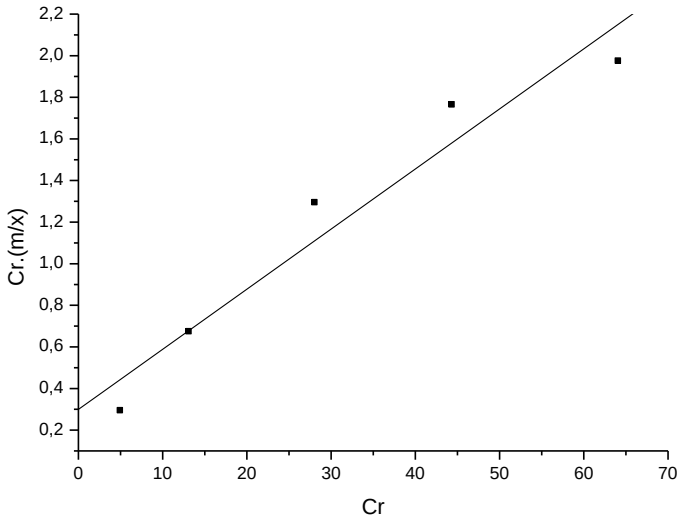


Figura 31: Isoterma de adsorção de Langmuir para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 2,5

Cr.(m/x) = 0,29966 + (0,02889.Cr)

R = 0,96969

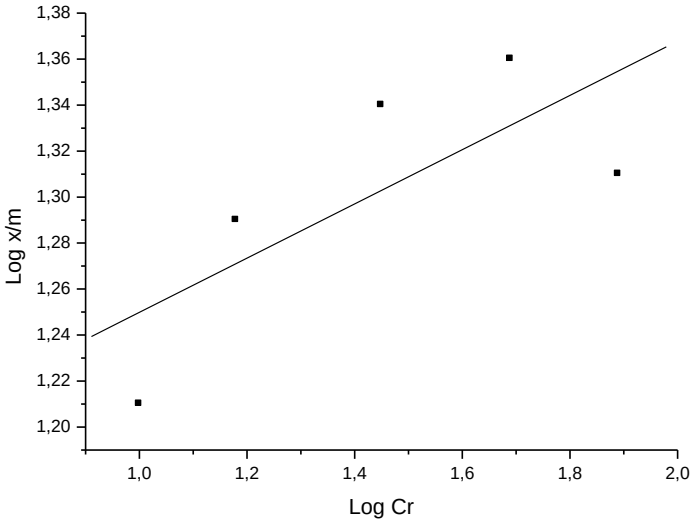


Figura 32: Isoterma de adsorção de Freundlich para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 4,5

log x/m = 1,1319 + (0,11796.log Cr)

R = 0,73705

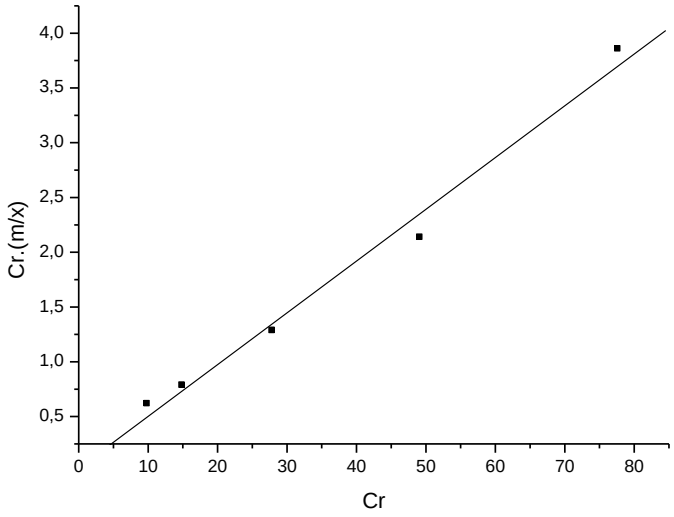


Figura 33: Isoterma de adsorção de Langmuir para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 4,5

$$Cr.(m/x) = 0,02955 + (0,04725.Cr)$$

R = 0,99347

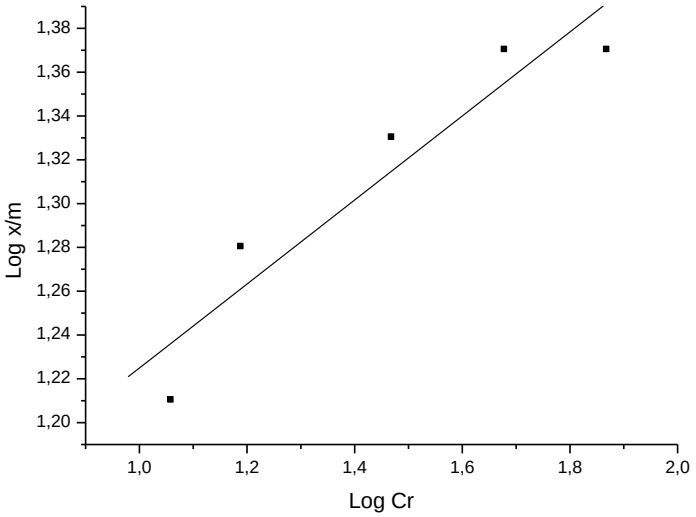


Figura 34: Isoterma de adsorção de Freundlich para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 6,5

$$\log x/m = 1,03319 + (0,19176.\log Cr)$$

R = 0,94553

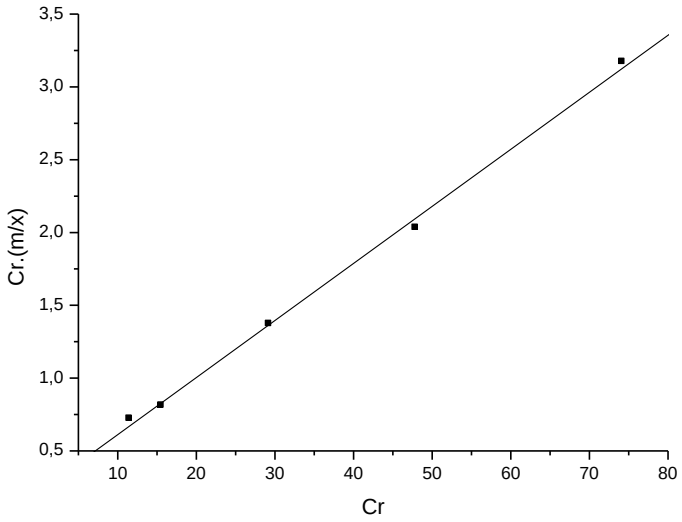


Figura 35: Isoterma de adsorção de Langmuir para *A. oryzae* e o corante DB71 em solução com pH 6,5

Cr.(m/x) = 0,22027 + (0,03918.Cr)

R = 0,99887

Tabela 11: Coeficientes de correlação (R) das isotermas de adsorção obtidos a partir das Equações de Freundlich e Langmuir

	Freundlich			**Langmuir**		
	pH 2.5	**pH 4.5**	**pH 6.5**	**pH 2.5**	**pH 4.5**	**pH 6.5**
P. chrysosporium	**0,86597**	**0,97258**	**0,92591**	0,12679	0,50076	0,87842
A. oryzae	0,9342	0,73705	0,94553	**0,96969**	**0,99347**	**0,99887**

Analisando-se as equações e os coeficientes de correlação (R) percebe-se que o coeficiente de correlação da isoterma de adsorção de Freundlich foi mais próximo

a 1, apresentando maior correlação, quando comparado ao de Langmuir, no caso do *P. chrysosporium*. Já para *A. oryzae*, o valor de R da isoterma de Langmuir é que se aproximou de 1, apresentando maior correlação. Sendo assim, o processo de biossorção segue o princípio de Freundlich para os pellets de *P. chrysosporium*, em que o corante se adere ao fungo através de múltiplas camadas, e para os pellets de *A. oryzae* a biossorção segue Langmuir, em que a adsorção ocorre em apenas uma camada de corante.

A equação de Langmuir é baseada na suposição da existência de uma cobertura em monocamada de adsorbato na superfície externa do adsorvente, onde todos os sítios de sorção são idênticos. (ATAR et al., 2011).

A equação de Freundlich, segundo Patel e Vashi (2010), é baseada na adsorção em múltiplas camadas, sendo que a superfície do adsorvente é heterogênea, não ocorrendo adsorção igualmente em todos os sítios livres da biomassa.

Para Bohn et al. (2001) e Atar et al. (2011), a equação de Freundlich foi primeiramente proposta numa base puramente empírica dos fenômenos de adsorção que ocorrem em interfaces gás-sólido, embora possa ser teoricamente derivado de um modelo de adsorção em que a energia de adsorção varia exponencialmente com a cobertura da superfície devido à sua heterogeneidade. O grau de heterogeneidade é desconhecido na maioria dos estudos de adsorção.

Como *A. oryzae* apresentou melhor capacidade para biossorção que *P. chrysosporium*, e segue o modelo de Langmuir, acredita-se que isso se deve à homogeneidade da superfície de adsorção dos pellets, ou seja, à presença de sítios de sorção idênticos, como citado anteriormente.

A superfície heterogênea de adsorção dos pellets de *P. chrysosporium*, que obedecem ao modelo de Freundlich, possivelmente foi responsável pela baixa descoloração da solução do corante DB71, pois, devido a essa heterogeneidade, nem todos os sítios estavam disponíveis para adsorção. Isso pode interferir na ligação entre moléculas de corantes que formavam a multicamada.

Estão apresentadas abaixo imagens, obtidas em lupa, dos pellets de *A. oryzae* e *P. chrysosporium* antes (Figura 36) e após (Figura 37) o processo de biossorção, para observação da superfície de adsorção.

É possível observar que os pellets de *A. oryzae* apresentam hifas soltas na superfície, assemelhando-se a pêlos, além de ter o aspecto de um emaranhado de hifas frouxas. Esta conformação pode ter favorecido a ligação corante-fungo, pois há mais sítios disponíveis para a adsorção.

Os pellets de *P. chrysosporium* aparentam ser mais compactados e possuir menos hifas soltas na superfície. Essa compactação pode interferir no processo biossotivo por haver menos sítios disponíveis para a adsorção.

Figura 36: Imagem com aumento de 20x, em lupa, dos pellets de *A. oryzae* (A) e *P. chrysosporium* (B) antes do processo de biossorção do corante DB71 em solução

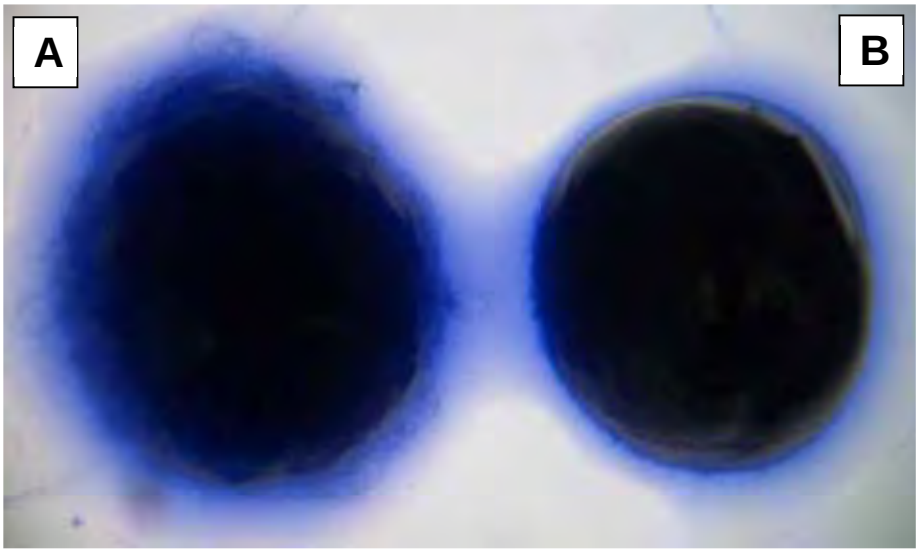


Figura 37: Imagem com aumento de 32x, em lupa, dos pellets de *A. oryzae* (A) e *P. chrysosporium* (B) após o processo de biossorção do corante DB71 em solução

As Figuras 38 e 39 mostram imagens microscópicas, com aumento de 400x, dos pellets de *A. oryzae* e de *P. chrysosporium*, antes e após o processo de biossorção.

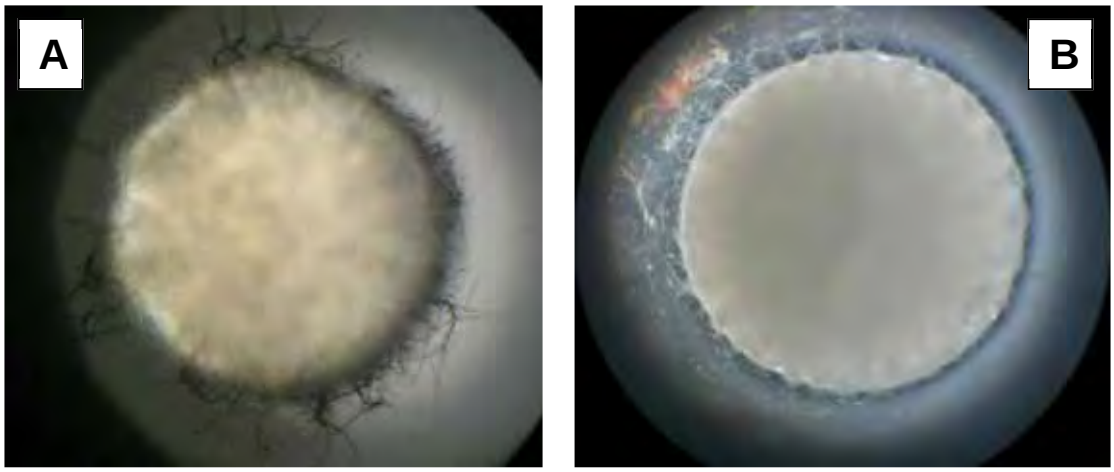


Figura 38: Imagem microscópica, com aumento de 400x, dos pellets de *A. oryzae* (A) e de *P. chrysosporium* (B) antes do processo de biossorção do corante DB71 em solução

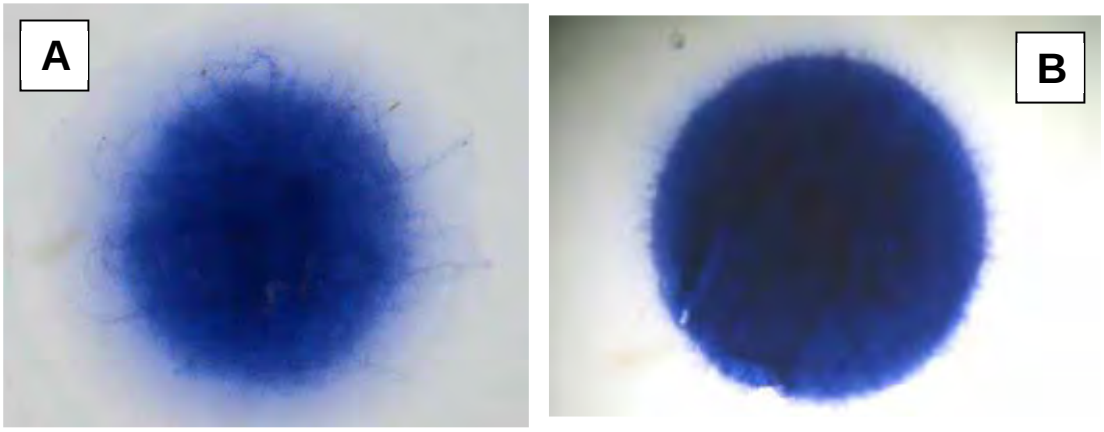


Figura 39: Imagem microscópica, com aumento de 400x, dos pellets de *A. oryzae* (A) e de *P. chrysosporium* (B) após o processo de biossorção do corante DB71 em solução

5.5 Teste de biodegradação do corante

5.5.1 Espectrofotometria UV-VIS

Através da análise do espectro de absorção do corante DB71 em UV-VIS, foi possível identificar o comprimento de onda máximo do grupo cromóforo em 583 nm e do grupo azo, correspondendo a 320 nm, de acordo com Silverstein et al. (1994) conforme apresentado na Figura 40.

Direct Blue 71 é um corante triazo em que a parte cromófora da estrutura molecular mostra uma forte absorbância na região do visível (380 a 780 nm), enquanto os picos de absorção dos anéis de benzeno e naftaleno aparecem na região UV (200 a 380 nm) (SILVERSTEIN et al., 1994; SAIEN e SOLEYMANI, 2007; FENG et al., 2000).

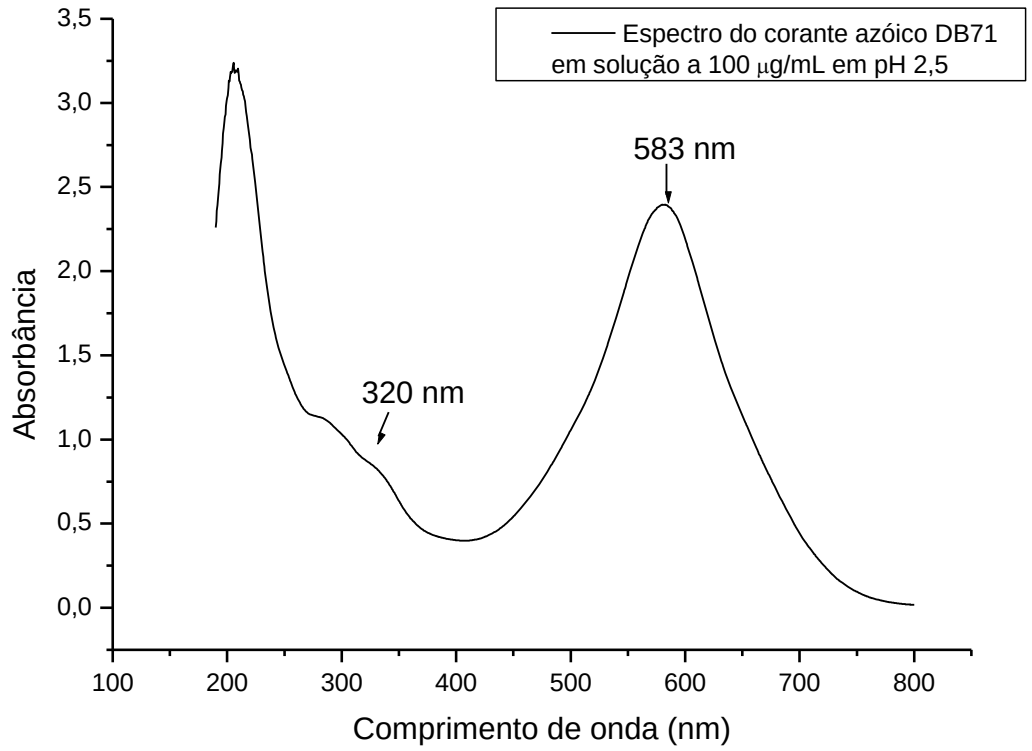


Figura 40: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução com pH 2.5, à concentração de 100 µg/mL.

Leitura em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC

Cubeta de quartzo

Caminho óptico de 5mm

Após 240 horas de interação entre os pellets de *P. chrysosporium* e de *A. oryzae* e o corante em solução pode-se verificar a capacidade de biodegradação do corante Direct Blue 71 pelos fungos.

A espectrofotometria UV-VIS permite avaliar o processo biodegradativo através da absorbância relativa, segundo Glenn e Gold (1983).

As Figuras 41 e 42 apresentam as absorbâncias nos comprimentos de onda dos grupos cromóforo (583 nm) e azo (320 nm) e a absorbância relativa a cada 24

horas, após 240 horas de tratamento do corante DB71 por *P. chrysosporium* e *A. oryzae*, respectivamente.

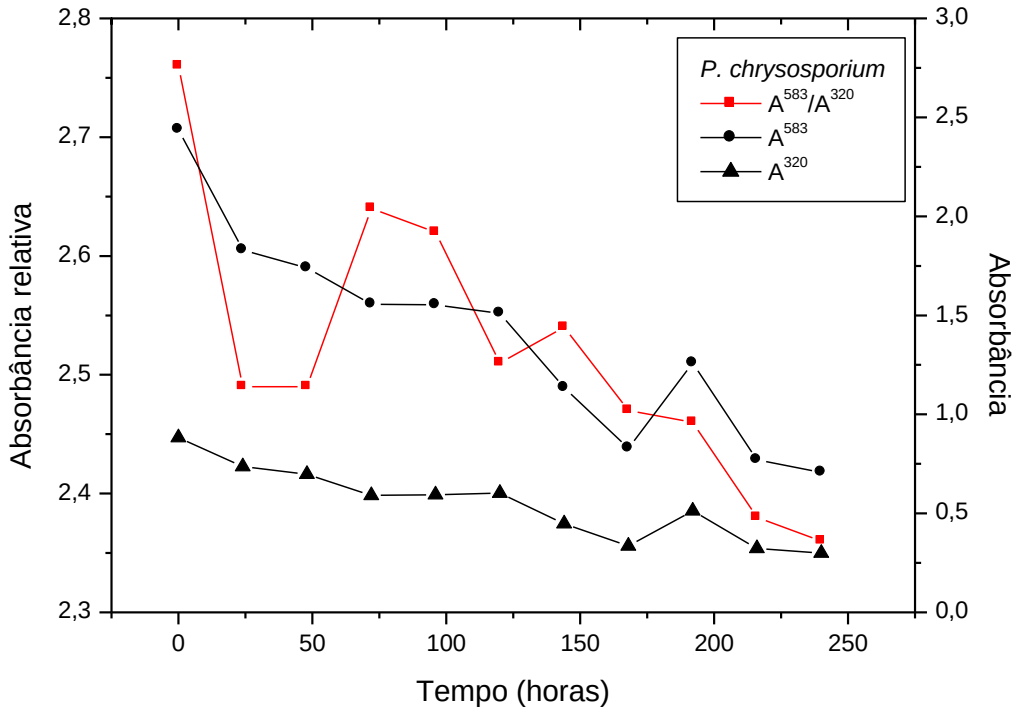


Figura 41: Absorbâncias dos grupos cromóforo (583 nm) e azo (320 nm) e absorbância relativa a cada 24 horas, iniciando pelo controle, após tratamento do corante DB71 por *P. chrysosporium*

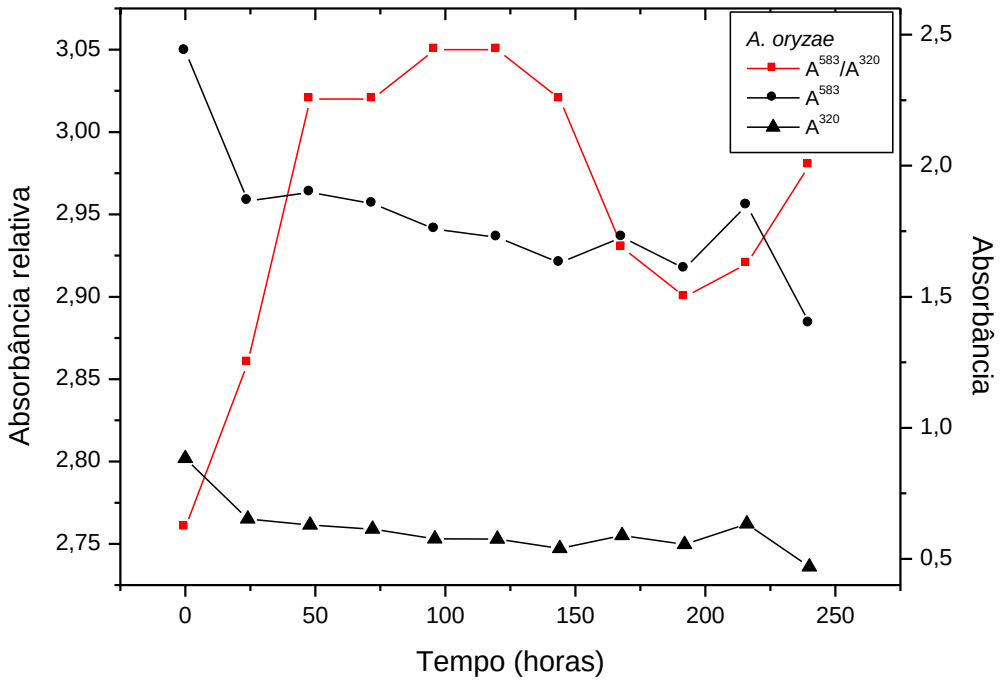


Figura 42: Absorbâncias dos grupos cromóforo (583 nm) e azo (320 nm) e absorbância relativa a cada 24 horas, iniciando pelo controle, após tratamento do corante DB71 por *A. oryzae*

Observando-se as figuras, percebe-se que há uma variação da absorbância relativa das amostras tratadas quando comparada ao controle (0 hora). Glenn e Gold (1983) propuseram que a biodegradação ocorreria se os valores de absorbância relativa das amostras não permanecessem constantes nesta situação. Portanto, esta variação sugere que a estrutura molecular do corante sofreu alterações, sendo possível que tenha ocorrido a degradação do corante.

Na Figura 41, referente ao basidiomiceto *P. chrysosporium*, nota-se que após as primeiras 24 horas de tratamento já houve uma grande variação da absorbância relativa, indicando que o fungo foi capaz de causar algum dano à molécula em pouco tempo de contato. Este fato pode ser comprovado com análise do espectro em FTIR. Novas alterações surgem após 96 e 120 horas. Após este período a absorbância relativa diminui gradativamente.

Na Figura 42, referente ao fungo anamórfico *A. oryzae*, observa-se que as alterações ocorreram durante as primeiras 48 horas, mantendo-se relativamente

constante até 144 horas quando a absorbância relativa novamente varia. Provavelmente as alterações na estrutura do corante por *A. oryzae* ocorrem nestes momentos.

Os espectros de absorção das amostras tratadas com *P. chrysosporium* e com *A. oryzae* estão apresentados nas Figuras 43 e 44, respectivamente. As figuras exibem os espectros correspondentes ao controle, 24 e 240 horas que representam o início e fim do tratamento, e 144 horas, representando um ponto intermediário do tratamento, quando ocorrem variações da absorbância relativa para ambos os fungos.

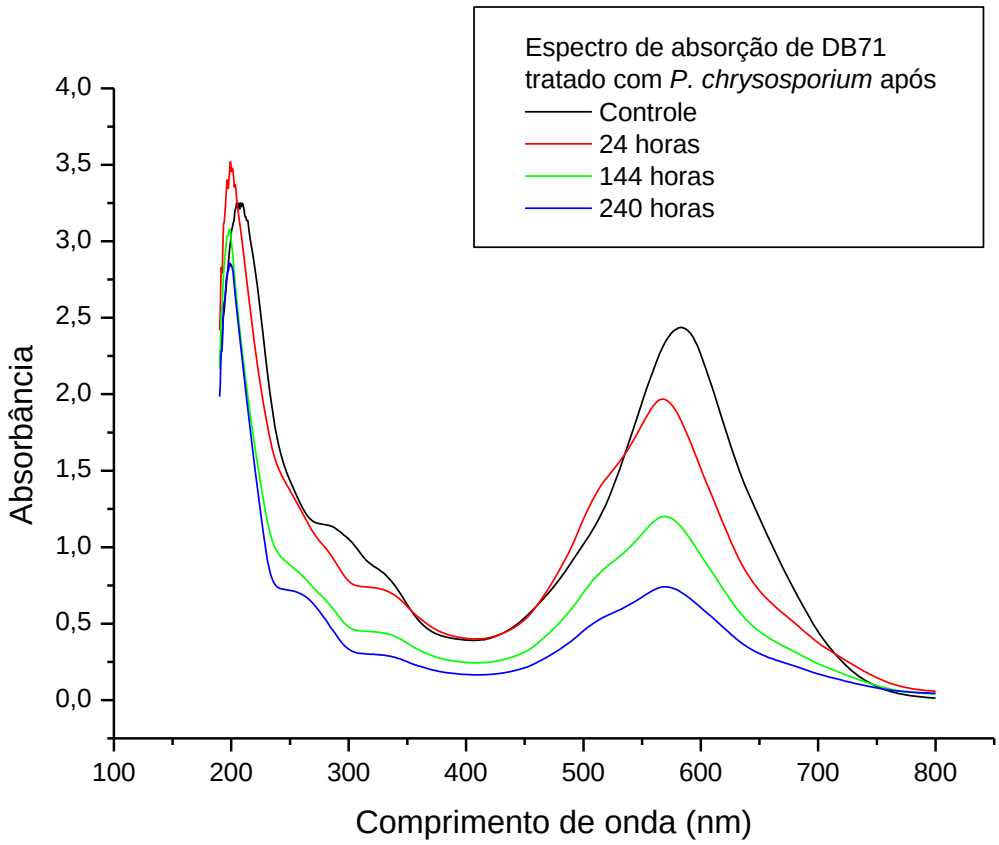


Figura 43: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução com pH 2.5, após 240 horas de interação com o fungo *P. chrysosporium* a 30°C ± 1, com varreduras realizadas após 24, 144 e 240 horas

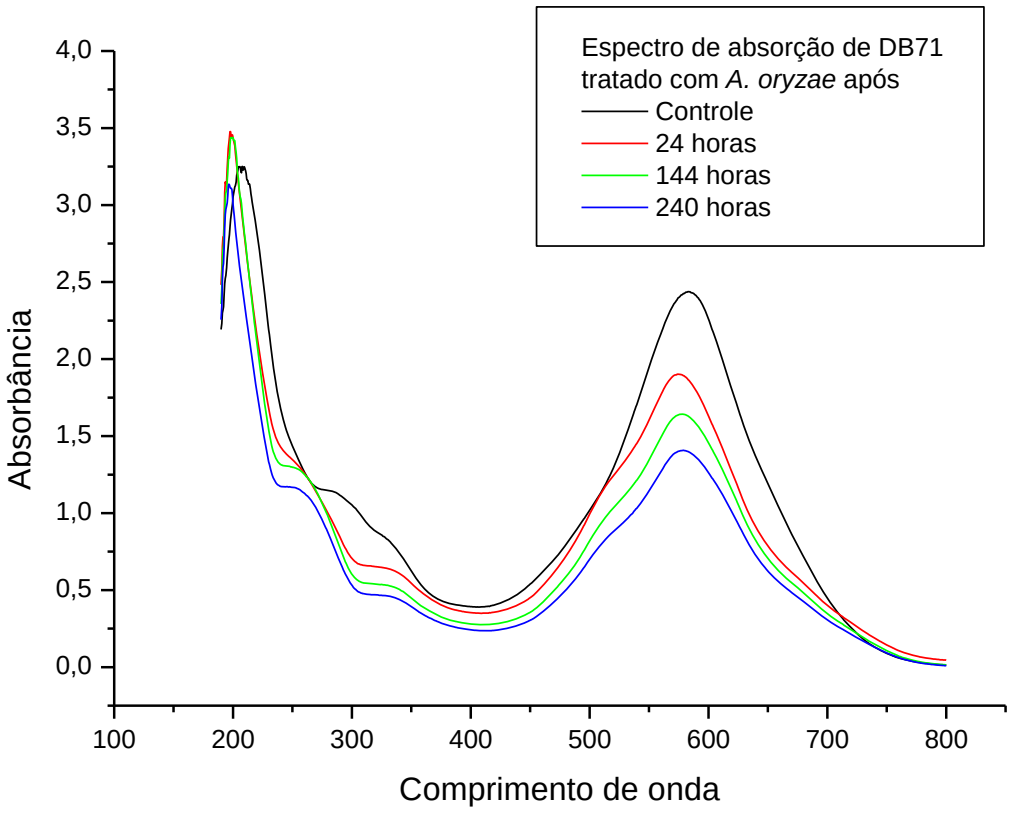


Figura 44: Espectro de absorção do corante Direct Blue 71 em solução, com pH 2.5, após 240 horas de interação com o fungo *A. oryzae* a 30°C ± 1, com varreduras realizadas após 24, 144 e 240 horas

Nota-se que a absorbância, tanto em 583 nm quanto em 320 nm diminui a cada varredura, evidenciando que houve remoção do corante em solução pelo fungo. Porém, apesar da absorbância relativa oferecer dados indicando a ocorrência de biodegradação, o processo só pode ser confirmado após identificação das bandas características de cada estrutura a partir dos espectros de FTIR.

Pelos espectros de absorção em UV-VIS foi possível visualizar a diferença entre os tratamentos com cada fungo. Em 24 horas de tratamento com *P. chysosporium*, o corante DB71 já apresentou um espectro diferente do controle, com o pico cromóforo (583 nm) menor e deslocado. Assim permaneceram os outros espectros com valores de absorbância cada vez mais baixos. Com *A. oryzae*, o pico cromóforo também se apresentou menor e levemente deslocado, assim como os outros picos. Entretanto, os valores de absorbância, quando comparados ao *P.*

chrysosporium, foram maiores, indicando que a maior remoção do corante em solução, após 240 horas de tratamento, não ocorreu com *A. oryzae*.

5.5.2 Análises de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Embora o espectro de infravermelho seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença destas bandas características de grupos que permite a obtenção, através de simples exame do espectro e consulta a tabelas, de informações estruturais úteis para identificação de estruturas (SILVERSTEIN et al. 1994).

Um espectro de infravermelho pode ser dividido nas regiões de 4000 a 1300 cm^{-1} (região 1), de 1300 a 900 cm^{-1} (região 2) e de 900 a 500 cm^{-1} (região 3). A região 1 é denominada região de grupos funcionais, como OH, NH e C=O. A região 2 é geralmente muito complexa e é denominada impressão digital, uma vez que ela serve para confirmar a identidade de determinado composto. A região 3 geralmente apresenta bandas fortes nos casos de compostos aromáticos, heteroaromáticos e alquenos (BARBOSA, 2007).

Na Figura 45 está representado o espectro de FTIR da solução controle de corante, em pH 2.5, com concentração de 100 µg/ mL. As bandas foram identificadas com auxílio da literatura.

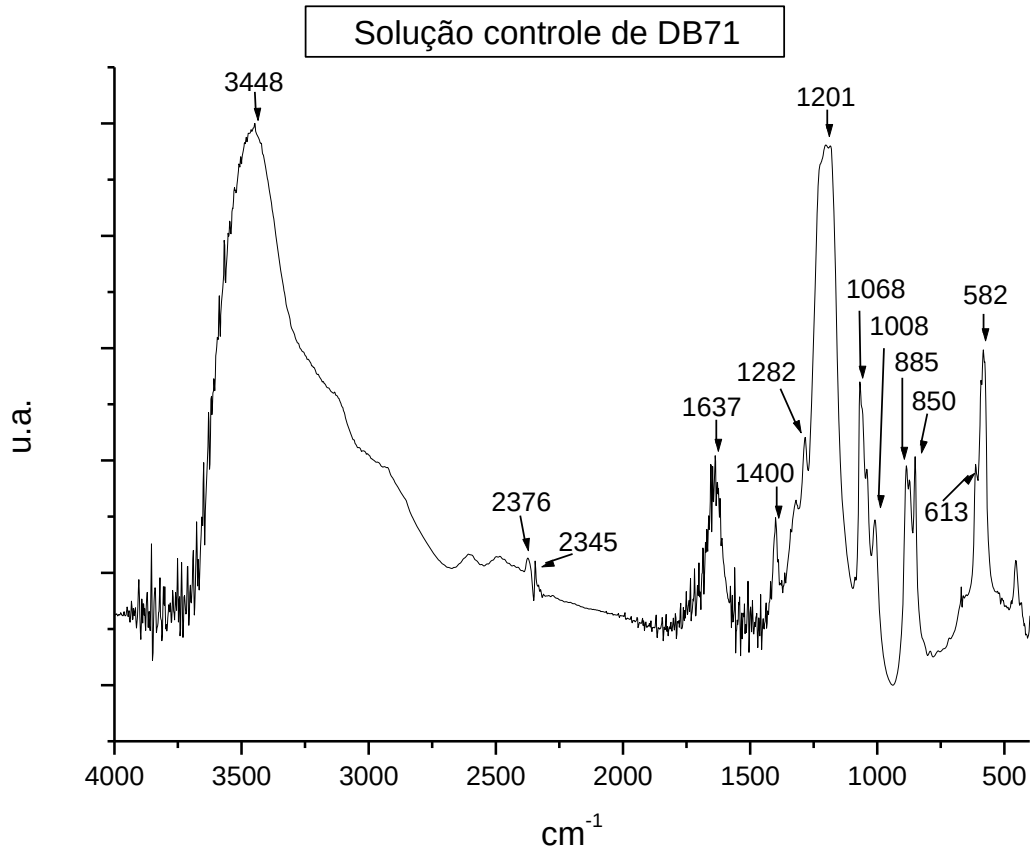


Figura 45: Espectro de FTIR na região de 4000 a 400 cm^{-1} da solução controle do corante Direct Blue 71 na forma de pastilha com KBr

A Tabela 12 contém as bandas encontradas no espectro de FTIR da solução controle do azo corante DB71 e suas estruturas correspondentes.

Tabela 12: Bandas originais da solução controle do corante Direct Blue 71

Bandas do controle	Estruturas correspondentes
3448	Aminas primárias e secundárias (ALPTÜZÜN et al., 2009), NH aromático (YILDIZ e BOZOK, 2008), estiramento de NH e OH (FRANCISCON et al., 2009; SCIAMARELI et al., 2009; OWALUDE e TELLA, 2008; BARBOSA, 2007; DAVIDSON, 2003, SAKKA, 2003)
2376, 2345	CO_2 residual (BARBOSA, 2007)
1637	Deformação angular no plano de NH_2 (BARBOSA, 2007; SILVERSTEIN et al. 1994); Estiramento de N=N (SHIMIZU et al., 2010; FRANCISCON et al., 2009; KALME et al., 2007; SANTOS et al., 2007; SILVERSTEIN et al., 1994; DYER, 1969);
1400	Estiramento de derivados do naftaleno (BARBOSA, 2007); Estiramento de N=N (CERVANTES et al., 2009; FRANCISCON et al., 2009); Aminas livres (WHARFE et al., 2010)
1282	Aminas aromáticas (BARBOSA, 2007; SILVERSTEIN et al., 1994); estiramento de S=O; (DAVIDSON, 2003; SILVERSTEIN et al., 1994)
1201	CH aromático (POLJANSEK e KRAJNC, 2005); estiramento de SO_3 (DRAGAN e DINU, 2008); deformação axial do grupo fenol (SILVERSTEIN et al., 1994); estiramento de CN (BARBOSA, 2007)
1068	Deformação axial de S=O de sulfonatos (DHANVE et al., 2009; SILVERSTEIN et al., 1994); vibração de CH no plano (EHRENDORFER et al., 1993); Estiramento C-O do naftol (ALIPRANDINI, 2010)
1008	Estiramento S=O de SO_3 (ALVARES et al., 2006)

Bandas do controle	Estruturas correspondentes
885, 850	Deformação CH de anel aromático (EL-KABBANY et al., 2010; POLUNIN et al., 2008; BARBOSA, 2007)
613	Grupo sulfônico (DHANVE et al., 2009; SILVERSEIN et al., 1994)
582	Vibração C=C do anel aromático (POLUNIN et al., 2008)

Para avaliar melhor as variações da absorbância relativa e da quebra de ligações da molécula por ambos os fungos, é necessária a análise dos espectros de FTIR. Os espectros avaliados correspondem a 24 horas (Figura 46), 144 horas (Figura 50) e 240 horas (Figura 51) de tratamento por *P. chrysosporium* e *A. oryzae.* É na região de 2000 a 400 cm^{-1} do espectro que aparecem as modificações mais significativas na estrutura do corante. Portanto, essa região será utilizada para análise.

As bandas em destaque, marcadas nas figuras 46, 50 e 51, representam alterações encontradas no espectro do corante após o tempo de tratamento, quando comparadas ao controle. As bandas marcadas com um asterisco (*) indicam possíveis alterações que ocorreram no espectro após o tratamento de apenas um fungo.

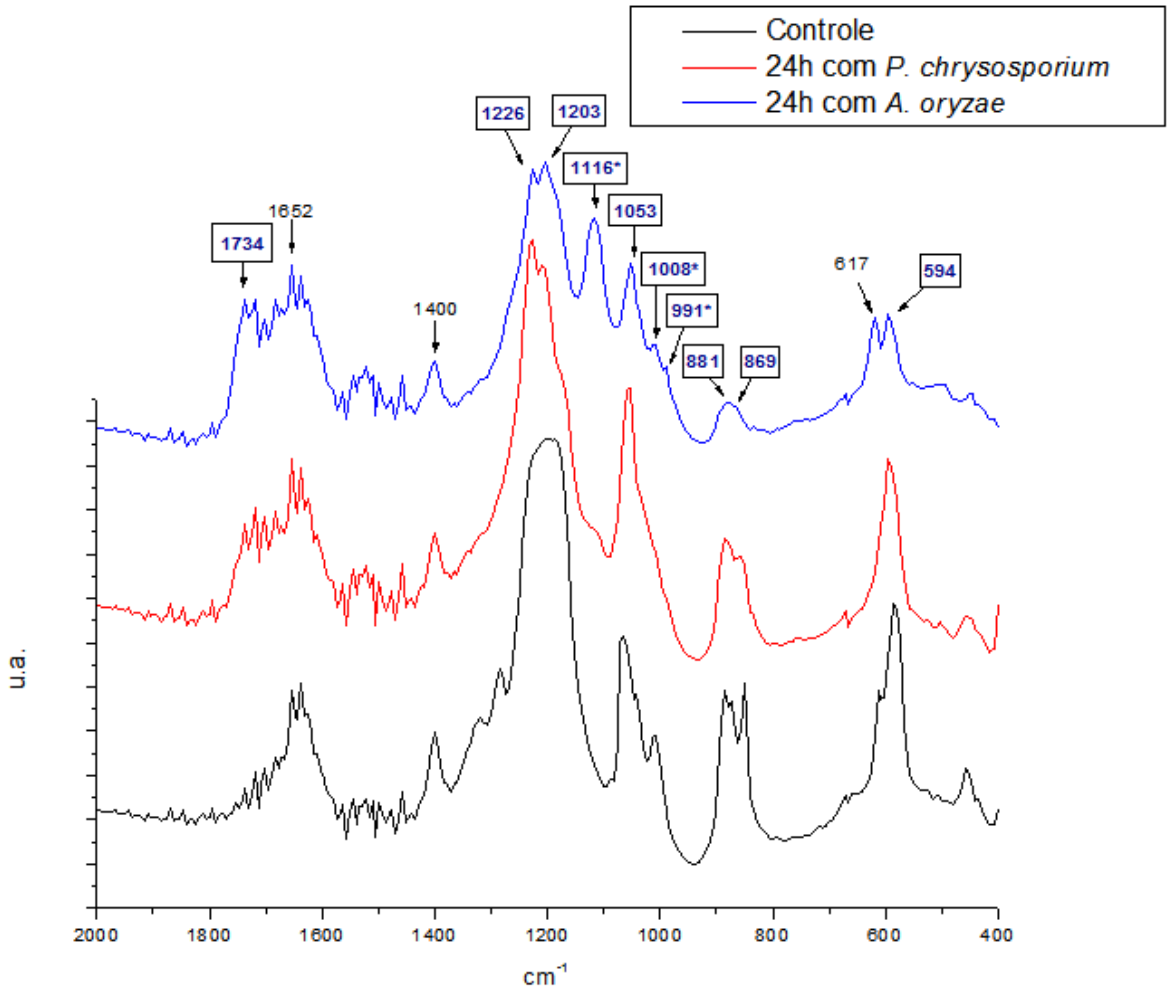


Figura 46: Espectro de FTIR na região de 2000 a 400 cm^{-1} das soluções, em forma de pastilha com KBr, do controle do corante Direct Blue 71 e dos sobrenadantes do tratamento após 24 horas com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*

Varredura em espectrofotômetro FTIR Shimadzu IRPrestige-21

Após as primeiras 24 horas de tratamento já é possível encontrar bandas diferentes do controle. Isso indica que ocorreram alterações na estrutura do corante após o contato com os fungos.

A alteração mais significativa refere-se ao surgimento de uma nova banda em 1116 cm^{-1} somente com *A.oryzae.* Esta região é característica de grupos aminas (FANCHIANG e TSENG, 2009; JUARÉZ-HERNANDES et al., 2008). Provavelmente, o fungo *A. oryzae* tenha enzimas capazes de quebrar alguma ligação azo (N=N) já nas primeiras horas, intensificando o sinal de aminas, ocasionando então o aparecimento desta banda que permanece nos espectros de 144 e 240 horas.

A banda na região de 1734 cm^{-1}, que não existia no controle, foi encontrada após os tratamentos com ambos os fungos. Segundo Wharfe et al. (2010) e Forato et al. (1998), a região de 1700 – 1500 cm^{-1} corresponde às proteínas, mais precisamente ao estiramento da ligação C=O de amida I da ligação peptídica. Provavelmente esta banda tenha surgido devido à presença de enzimas produzidas tanto por *P. chrysosporium*, que apresenta um importante sistema lignolítico, quanto por *A. oryzae*, amplamente conhecido pela síntese de enzimas como, por exemplo, a lacase. Esta banda permanece em todos os tratamentos analisados.

A banda em 1008 cm^{-1} é encontrada apenas nas soluções controle e tratada com *A. oryzae* após 24 (Figura 46), 144 (Figura 50) e 240 horas (Figura 51). Nesta região ocorre o estiramento da ligação S=O do grupo sulfônico (DHANVE et al., 2009; ALVARES et al., 2006; SILVERSTEIN et al., 1994). Como estas bandas não se encontram no espectro de *P. chrysosporium*, acredita-se que este fungo foi capaz de causar alguma alteração nos grupos sulfônicos que *A. oryzae* não conseguiu.

A banda em 991 cm^{-1}, referente à deformação de C-O-H (ROBERT et al., 2005) encontra-se apenas nas soluções tratadas por *A. oryzae* após 24, 144 e 240 horas. A ligação C-O-H está presente no naftol (ALIPRANDINI, 2010) e tem sinal em 1053 cm^{-1} nas amostras. Porém com *P. chrysosporium* o sinal se intensificou, enquanto que com *A. oryzae*, a banda se apresentou com menor intensidade. Portanto, a ligação C-O-H do naftol sofreu alteração de ambos os fungos. Entretanto, isso ocorreu de forma diferenciada para cada um.

As bandas em 885 e 850 cm^{-1} da solução controle apareceram com menor intensidade nas soluções tratadas, principalmente com *A. oryzae*. Elas são características de deformação da ligação C-H de anel aromático (EL-KABBANY et al., 2010; POLUNIN et al., 2008; BARBOSA, 2007). Com isso observa-se que as ações de *A. oryzae*, nesta região, sob o corante foram mais efetivas.

O mesmo ocorre na região de 582 cm^{-1} da solução controle, igualmente referente à deformação da ligação C-H de anel aromático (POLUNIN et al., 2008), sendo que, novamente, as maiores alterações ocorreram no espectro de *A. oryzae*. A banda em 594 cm^{-1} diminui a intensidade, evidenciando a banda em 617 cm^{-1} de grupo sulfônico (DHANVE et al., 2009; SILVERSTEIN et al., 1994).

A banda na região de 1225 cm^{-1}, correspondente ao estiramento do grupo sulfônico (KHALED et al., 2009) e ao grupo tiocarbonila C=S (SILVERSTEIN et al., 1994), é visível após ambos os tratamentos, porém aparentemente não aparece no controle. Isso ocorre devido à sobreposição das bandas em 1225, 1201 e 1176 cm^{-1} do controle, visíveis somente após a desconvolução pela função Lorentziana, segundo Forato et al. (1998), na região de 1280 a 1100 cm^{-1}. A sobreposição pode ser observada na Figura 47.

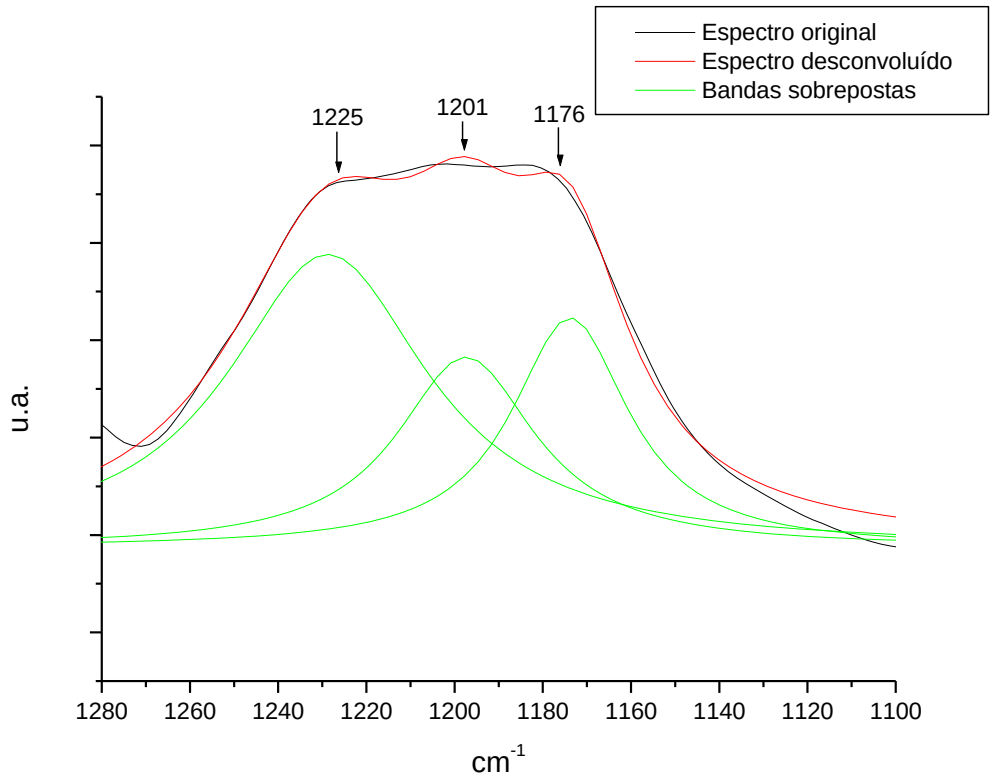


Figura 47: Espectro de FTIR na região de 1280 a 1100 cm^{-1} da solução controle do corante DB71 após desconvolução Lorentziana

Com a desconvolução Lorentziana foi possível identificar as bandas sobrepostas, evidenciando que a banda na região de 1225 cm^{-1} existia no controle. As regiões em 1201 e 1176 cm^{-1} correspondem ao estiramento da ligação C-N (BARBOSA, 2007; YADAV et al., 2007; ROMÃO et al., 2003). Entretanto, apenas a banda em 1201 cm^{-1} permanece constante após o tratamento com ambos os fungos. A banda em 1176 cm^{-1} se apresenta com menor intensidade nos espectros do corante após contato com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*. Este decréscimo da intensidade é visível apenas com desconvolução das bandas na região de 1280 a 1150 cm^{-1}. A desconvolução para os espectros do corante tratado com *P. chrysosporium* e *A. oryzae* estão apresentadas nas figuras 48 e 49, respectivamente.

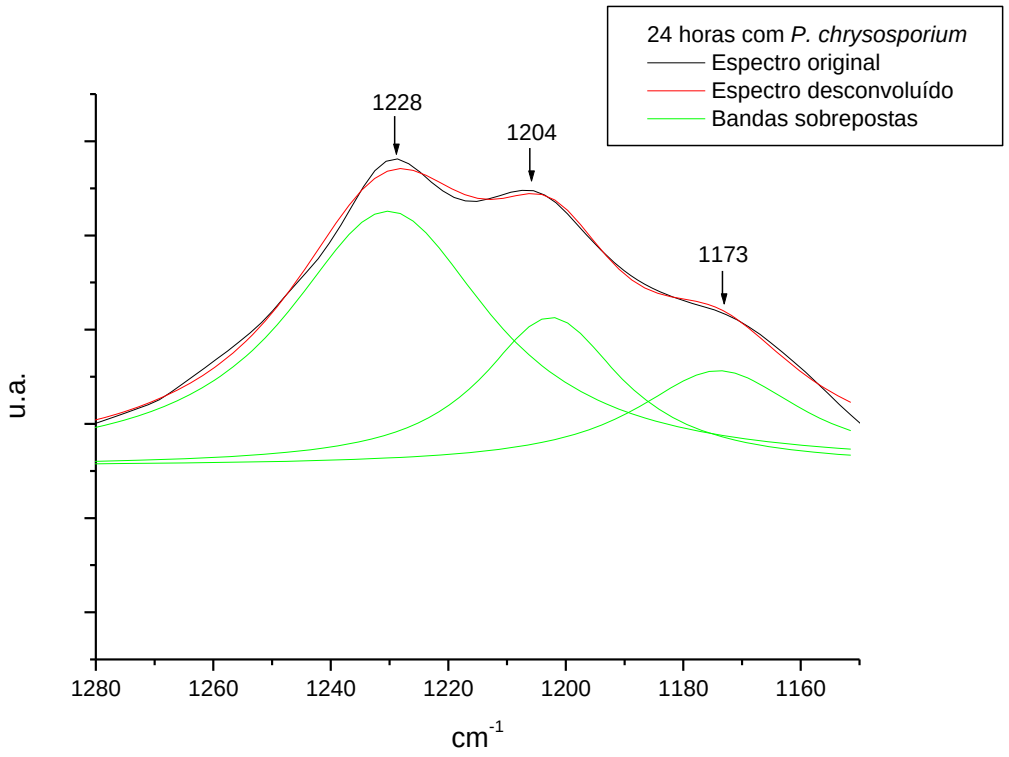


Figura 48: Espectro de FTIR na região de 1280 a 1150 cm^{-1} da solução do corante DB71 tratada em 24 horas com *P. chrysosporium* após desconvolução Lorentziana

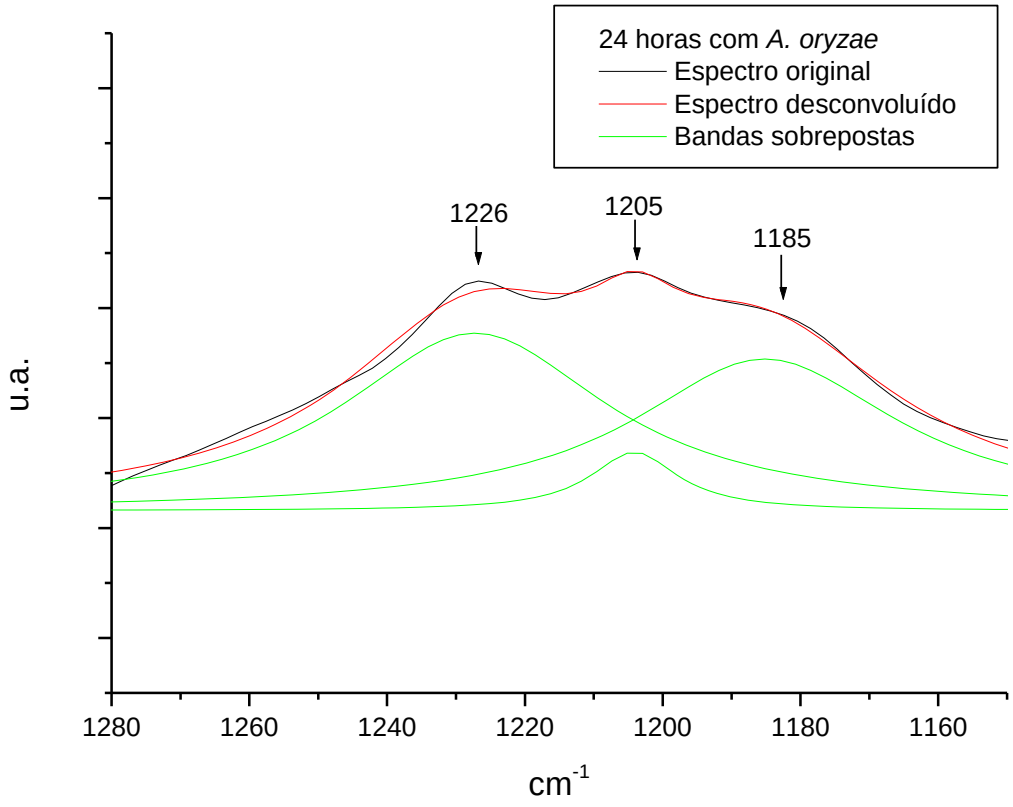


Figura 49: Espectro de FTIR na região de 1280 a 1100 cm^{-1} da solução do corante DB71 tratada em 24 horas com *A. oryzae* após desconvolução Lorentziana

A menor intensidade em 1173 cm^{-1} no espectro de *P. chrysosporium* (Figura 48) e o deslocamento para 1185 cm^{-1} no espectro de *A. oryzae* (Figura 49) indicam que as enzimas sintetizadas pelos micro-organismos agiram em uma ou mais ligações C-N de aminas, causando alguma alteração e até um possível rompimento dessas ligações.

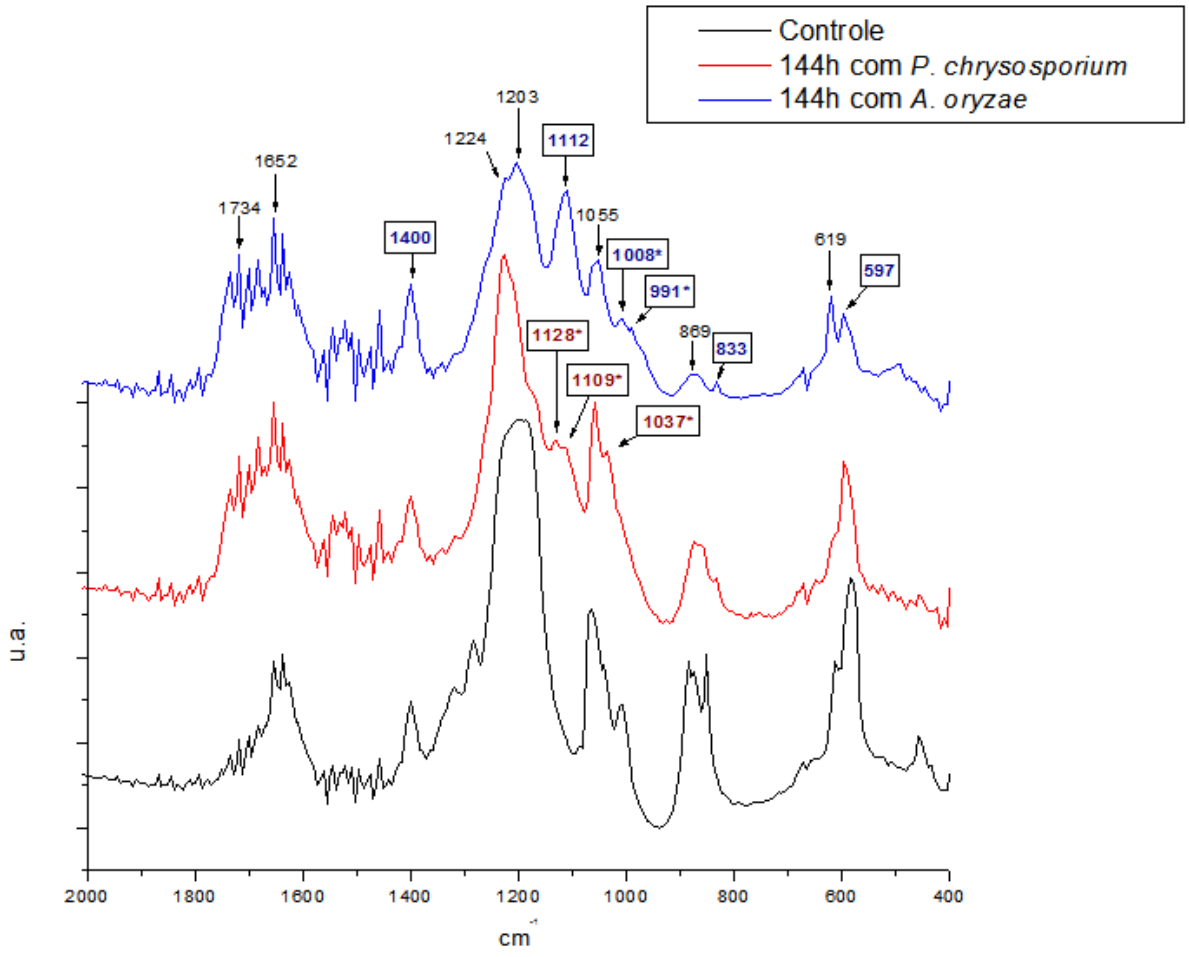


Figura 50: Espectro de FTIR na região de 2000 a 400 cm^{-1} das soluções, em forma de pastilha com KBr, do controle do corante Direct Blue 71 e dos sobrenadantes do tratamento após 144 horas com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*

Varredura em espectrofotômetro FTIR Shimadzu IRPrestige-21

Após 144 horas de tratamento (Figura 50), pode ser visualizado no espectro de *P. chrysosporium* o início de novas bandas nas regiões em 1128, 1109 e 1037 cm^{-1} características da ligação C-NH_2, segundo Fanchiang e Tseng (2009). O aparecimento de aminas primárias nas soluções tratadas sugere que houve quebra da ligação azo. Outra banda característica da deformação de C-N de aminas primárias é encontrada na região de 833 cm^{-1} (TELKE et al., 2010; BARBOSA, 2007). Esta banda, de baixa intensidade, surgiu nos espectros para ambos os fungos. Como o corante Direct Blue 71 possui três ligações azo, esperava-se o aparecimento de sinais intensificados de aminas primárias, resultantes das quebras destas ligações, durante o processo biodegradativo.

Outra variação nos espectros pode ser encontrada na região de 1400 cm^{-1}. Após 24 horas (Figura 46) esta banda permaneceu sem alterações, quando comparada ao controle. Porém, após 144 horas (Figura 50) já é possível notar uma intensificação da banda no espectro de *A. oryzae*. Esta região é caracterizada pelo estiramento C=C de derivados do naftaleno (BARBOSA, 2007), estiramento de N=N (CERVANTES et al., 2009; FRANCISCON et al., 2009) e pela presença de aminas livres (WHARFE et al., 2010), como já foi citado na Tabela 12, anteriormente. Desta forma, percebe-se a ação das enzimas de *A. oryzae* na molécula de corante, interferindo nas ligações, podendo até ocasionar a ruptura destas, liberando aminas na solução.

As demais bandas permanecem nos espectros, aparentemente com a mesma intensidade, exceto a banda em 597 cm^{-1}, região de deformação da ligação C-H de anel aromático (POLUNIN et al., 2008), que diminui no espectro de *A. oryzae*. Assim, a banda em 619 cm^{-1} referente a grupos sulfônicos (DHANVE et al., 2009; SILVERSTEIN et al., 1994) aparece mais intensa que em 597 cm^{-1}.

As bandas na região de 1008 e 991 cm^{-1}, novamente encontram-se apenas no espectro de *A. oryzae*.

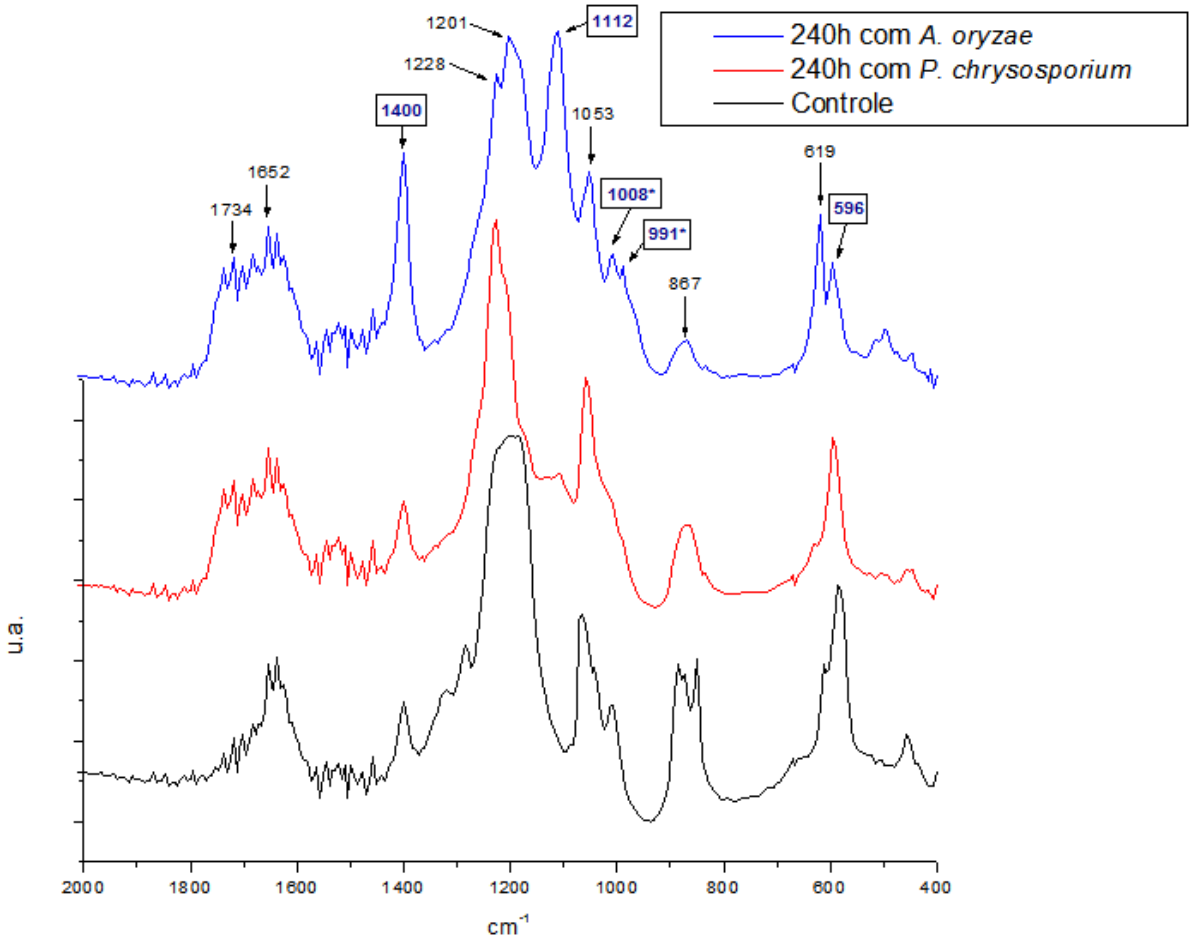


Figura 51: Espectro de FTIR na região de 2000 a 400 cm^{-1} das soluções, em forma de pastilha com KBr, do controle do corante Direct Blue 71 e dos sobrenadantes do tratamento após 240 horas com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*

Varredura em espectrofotômetro FTIR Shimadzu IRPrestige-21

Entre as alterações nos espectros das soluções com 240 horas de tratamento (Figura 51), a mais evidente encontra-se na região de 1400 cm^{-1} do espectro de *A. oryzae*. Nota-se um aumento significativo na intensidade desta banda. Como já mencionado anteriormente, é provável que as ligações azo tenham se rompido, liberando aminas primárias. Como o corante DB71 é triazo e apresenta uma amina ligada a um naftol, entende-se que ao se quebrar as ligações azo de uma molécula, 6 novas aminas surgiram e, por isso, a banda apareceu intensificada. A banda em 1112 cm^{-1} também foi intensificada, corroborando com a hipótese de quebra das ligações e, sobretudo, comprovando que houve a biodegradação da molécula de corante.

Observando-se os espectros, percebeu-se a ausência de novas bandas. Porém foi possível visualizar a intensificação de mais uma banda de grupo sulfônico em 619 cm^{-1} no espectro de *A. oryzae*. O corante possui quatro grupos sulfonatos. É possível que após quebra de algumas ligações, estes grupos possam ter seu sinal intensificado, aumentando, portanto a intensidade de bandas características.

Avaliando-se os espectros das soluções tratadas até 240 horas, percebe-se que *A. oryzae* ocasionou as maiores alterações nos espectros, evidenciando maior eficiência no processo de biodegradação. Esta observação deve-se ao fato de que as primeiras 24 horas de tratamento foram suficientes para o surgimento de bandas características de aminas, indicando possíveis quebras das ligações azo. O fungo *P. chrysosporium* também foi capaz de degradar a molécula de corante, porém exigiu um tempo maior para efetivar a quebra.

Segundo Paszczynski e Crawford (1995), os azo corantes, a maior classe de corantes produzidos comercialmente, não são facilmente degradados por micro-organismos, mas estes podem ser degradados por *P. chrysosporium*.

Telke et al. (2010) afirmaram que algumas espécies de *Aspergillus* são capazes de descolorir uma ampla gama de corantes estruturalmente diferentes, sendo mais eficazes que o basidiomiceto tão estudado, *P. chrysosporium*. Esta informação condiz com os resultados encontrados neste trabalho, tanto para biodegradação quanto para biossorção.

Analisando-se todas as informações coletadas com FTIR, relacionadas a estrutura do corante, pode-se estabelecer uma via provável de biodegradação da molécula do corante DB71. A Figura 52 representa a molécula antes da biodegradação e as prováveis moléculas formadas após o processo em meio ácido.

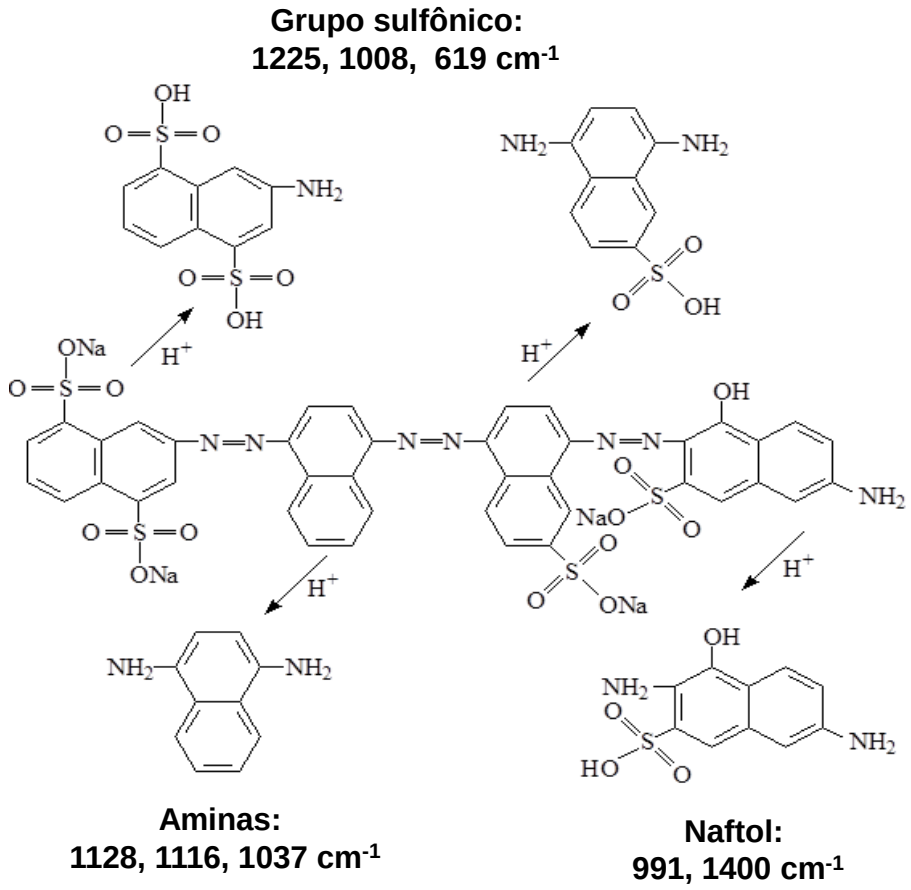


Figura 52: Caminho proposto para a degradação do corante DB71 após tratamento com *P. chrysosporium* e *A. oryzae*

Comparado com os importantes estudos realizados sobre azo corantes, a informação existente sobre o seu mecanismo de biodegradação é limitado (TELKE et al., 2010).

As análises em FTIR mostraram que a biodegradação do corante DB71 não ocorre igualmente para os dois fungos testados. Provavelmente, eles sintetizam uma

gama de enzimas, em determinadas quantidades, que irão interagir de forma diferenciada. Porém, os metabólitos formados ao final do processo biodegradativo, de acordo com as moléculas identificadas, sugerem as quebras de ligações visualizadas na Figura 52.

Uma variável importante no processo biodegradativo, relacionada à síntese de enzimas, é o pH. Boyle et al. (1992) observaram que o pH ácido favorece a indução da atividade enzimática dos micro-organismos e a adaptação do corante como fonte de carbono para eles. Logo, se o processo biossortivo foi favorecido pelo pH ácido, a biodegradação também foi.

È importante destacar que o caminho proposto não leva em consideração a completa mineralização do corante, pois sabe-se que para isto, seria necessário estabelecer outras condições para o teste de biodegradação. No entanto, ainda há pouca informação sobre a mineralização destes compostos. Contudo, os dados gerados por esta pesquisa são relevantes para o avanço dos estudos com biodegradação de corantes, principalmente os azóicos.

6. CONCLUSÃO

Após análise dos resultados foi possível concluir que:

- Tanto *P. chrysosporium* quanto *A. oryzae*, na forma paramorfogênica, foram capazes de adsorver e biodegradar o corante triazo Direct Blue 71.

- A biossorção do corante DB71 por *P. chrysosporium* e *A. oryzae*, na forma paramorfogência, ocorreu de maneira satisfatória para os valores de pH 2.5, 4.5 e 6.5. Porém, foi em pH 2.5 que os melhores resultados de adsorção, ou seja, que uma alta concentração de corante aderiu-se a parede celular, foram obtidos para ambos os fungos, sendo que, *A. oryzae* apresentou a maior capacidade biossortiva em todos os valores de pH testados. Por isso o pH 2.5 foi utilizado nos testes de biodegradação, visando favorecer a indução da atividade enzimática, que acelerou o processo.

- A biossorção das moléculas de corante DB71 pela parede celular dos micro-organismos pode ser determinada pelas isotermas de adsorção. Os fungos avaliados não seguem o mesmo modelo de adsorção. *A. oryzae*, um fungo anamórfico, segue o modelo proposto por Langmuir de adsorção em monocamada, enquanto o basidiomiceto *P. chrysosporium*, segue o modelo proposto por Freundlich de adsorção em multicamadas.

- A parede celular e a forma dos pellets tem grande influência no processo biossortivo. Os pellets de *A. oryzae* formaram-se com hifas frouxas e soltas na superfície, o que favoreceu a adsorção por possuir mais sítios livres para a

adsorção. Os pellets de *P. chrysosporium* formaram-se com hifas mais compactadas, portanto, sem muitos sítios disponíveis, dificultando, assim, a adsorção do corante.

- A espectrofotometria UV-VIS aliada ao FTIR mostrou-se como uma importante ferramenta na análise de biodegradação de contaminantes. Com o auxílio destas técnicas foi possível verificar que o corante DB71 em solução foi suscetível à biodegradação por ambos os fungos.

- A biodegradação foi comprovada pelo surgimento de bandas características dos metabólitos esperados da quebra de ligações do corante nos espectros de FTIR. O processo não ocorreu igualmente para os fungos avaliados. Contudo, ao final do tratamento em 240 horas *A. oryzae* e *P. chrysosporium* haviam degradado o corante em solução, porém não chegaram a mineralizar o composto.

- O tratamento com *A. oryzae* apresentou sinais mais significativos de biodegradação nas primeiras 24 horas, quando comparado ao *P. chrysosporium.*

- O *“pool”* enzimático de *A. oryzae* apresentou-se com maior afinidade pelas moléculas de corante. Assim, seus resultados de biodegradação foram melhores que *P. chrysosporium*, que também se mostrou eficaz para o que foi proposto, porém não com o mesmo potencial de *A. oryzae*.

- A degradação do corante DB71, que possui 3 ligações azo, gerou como metabólitos, aminas primárias tóxicas ao ambiente. Deste modo, o tempo de retenção, além de outros parâmetros dos tratamentos devem ser melhor avaliados, futuramente, para completa eliminação de compostos tóxicos como sub-produtos.

Portanto, *P. chrysosporium* e *A. oryzae* possuem um grande potencial para o tratamento de efluentes têxteis, seja por biossorção ou biodegradação. Contanto que novas análises sejam realizadas pra avaliar o tempo de retenção do efluente e a aplicação destes processos em escala industrial.

7. REFERÊNCIAS

AL-QODAH, Z. Adsorption of dyes using shale oil ash. **Water Research**, v. 34, n. 17,p. 4295-4303, 2000.

ALIPRANDINI, P. Primer de poli(5-amino-1-naftol) obtido por eletrossíntese. 2010. 54 p. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Engenharia de Materiais) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2010.

ALLEONI, L. R. F.; CAMARGO, O. A.; CASAGRANDE, J. C. Isotermas de Langmuir e de Freundlich na descrição da adsorção de boro em solos altamente intemperizados. **Scientia Agricola**, v. 55, n. 3, 1998.

ALMEIDA, A. C. M. **Estudo da biodegradação de corantes azóicos por inóculo proveniente de biodigestor anaeróbio de alimentos.** 2008. 100 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, SP, 2008.

ALPTÜZÜN, V.; PARLAR, S.; TASLI, H.; ERCIYAS, E. Synthesis and antimicrobial activity of some pyridinium salts. **Molecules**, v. 14, n. 12 , p. 5203-5215, 2009.

ALVARES, D. A.; MOREIRA, J. C.; SCURACCHIO, C. H.; ONMORI, R. K. Study of morphology and electrical properties of dEPDM rubber and PAni Blends. In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, n. 17, 2006, Foz do Iguaçu, Paraná.

AMANO ENZYME. *Aspergillus oryzae* genome analysis da revista eletrônica **Enzyme Wave**, vol. 11, 2008. p. 2 Disponivel em: < http://www.amano-enzyme.co.jp/pdf/wave_e/vol11/vol11e_p2.pdf> Acesso Em: 08 fev. 2011.

ARISOY, M.; KOLANKAYA, N. Biodegradation of heptachlor by *Phanerochaete chrysosporium* ME 446: The toxic effects of heptachlor and its metabolites on mice. **Turkish Journal of Biology**, v. 22, n. 4, p. 427-434, 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA, **Corentes e pigmentos - Definição,** c2011. Disponível em: <http://www.abiquim.org.br/corantes/cor.asp>. Acesso em: 20 jan. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA, **Corentes e pigmentos - O segmento no Brasil,** c2011. Disponível em: <http://www.abiquim.org.br/corantes/cor_industria.asp>. Acesso em: 20 jan. 2011.

ATAR, N.; OLGUN, A.; WANG, S.; LIU, S. Adsorption of Anionic Dyes on Boron Industry Waste in Single and Binary Solutions Using Batch and Fixed-Bed Systems. **Journal of Chemichal & Engineering Data**, 2011. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/je100993m>. Acesso em: 23 jan. 2011.

ATKINS, P. W. **Physical Chemistry**. 4 ed. Oxford: Oxford University Press, 1991, 541 p.

BANAT, F.; AL-BASTAKI, N. Treating dye wastewater by an integrated process of adsorption using activated carbon and ultrafiltration. **Desalination** v. 170, n. 1, p. 69-75, 2004.

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

BOHN, H. L.; McNEAL, B. L.; O'CONNOR, G. A. **Soil chemistry**. 3 ed. New York: John Wiley & Sons, 2001, 341 p.

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

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Conselho Nacional do Meio Ambiente** - CONAMA. Resolução do CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 24 jan. 2011.

BRUNO, M. **Utilização de zeólitas sintetizadas a partir de cinzas de carvão na remoção de corante em água**. 2008. 101 p. Dissertação (Mestrado Ciências na área de Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2008.

BURNS, R. G. Microbial adhesion to soil sufaces: consequences for growth and enzyme activities. In: BERKELEY, R. C. W. et al. (Org.). Microbial adhesion to surfaces. London: Ellis Horwood ltd., 1980, p. 249-262.

CARVALHO, T. E. M. **Adsorção de corantes aniônicos de solução aquosa em cinza leve de carvão e zeólita de cinza leve de carvão.** 2010. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais) **-** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2010.

CERVANTES, T. N. M.; ZAIA, D. A. M.; SANTANA, H. Estudo da fotocatálise heterogênea sobre Ti/TiO_2 na descoloração de corantes sintéticos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2423-2428, 2009.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Disponível em: < http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Águas-Superficiais/37-O-Problema-da-Escassez-de-Água--no-Mundo >. Acesso em: 23 Jan. 2011.

CHOY, K. K. H.; McKAY, G.; PORTER, J.F. Sorption of acid dyes from effluents using active carbon. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 27, n. 1-2 ,p. 57-71, 1999.

CORSO, C. R.; ALMEIDA, A. C. M. Bioremediation of dyes in textile effluents by *Aspergillus oryzae*, **Microbial Ecology**, v. 57, n. 2, p. 384-390, 2009.

CORSO, C. R.; MARCANTI, I.; YAMAOKA, E. M. T. Applicability of the equations of Freundlich and Langmuir to the adsorption of the azo dye Procion Scarlet on

paramorphic colonies of *Neurospora crassa*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 20, p. 623-626, 1987.

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

CRIPPS, C.; BUMPUS, J. A.; AUST, S. D. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 1114-1118, 1990.

DAMASCENO, O. I. C. **Remoção de corantes em solução aquosa e efluentes de indústrias têxteis através de adsorção em cabelo humano.** 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

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

DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da estação de tratamento de águas residuárias de Americana-sp.** 2005. 137 p. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, SP, 2005.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R.; BALAN, D. S. L. Biodegradação de corantes têxteis. In: MELO, I. S; AZEVEDO, J. L. (Org.). **Microbiologia Ambiental.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. p. 321-338.

DENNING, D. et al. Genome discovery will help combat disease and lead to new drugs. c2009. Disponível em: <http://www.aspergillus.org.uk/prgenomes.htm>. Acesso em: 08 fev. 2011.

DHANVE, R. S.; KALYANI, D. C.; PHUGARE, S. S.; JADHAVE, J. P. Coordinate action of exiguobacterial oxidoreductive enzymes in biodegradation of reactive yellow 84A dye. **Biodegradation**, v. 20, n. 2, p. 245-255, 2009.

DRAGAN, E. S.; DINU, I. A. Removal of azo dyes from aqueous solution by coagulation/flocullation with strong polycations. **Research Journal of Chemistry and Environment**, v. 12, n. 3, 2008.

DULLIUS, C. H. **Utilização de fungos para biodegradação de corantes têxteis sintéticos.** 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, 2004.

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

EHRENDORFER, C.; NEUGEBAUER, H.; NECKEL, A; BÄUERLE, P. An FTIR spectroscopic study on end-capped oligothiophenes as model compounds for polythiophene. **Synthetic Metals**, v. 55, n. 1, p. 493-498, 1993.

EL-KABBANY, F.; TAHA, S.; HAFEZ, M. IR Spectroscopic Analysis of Polymorphism in Diphenyl Carbazide. **Journal of American Science**, v. 6, n. 8, p. 263-270, 2010.

ENAYATZAMIR, K.; ALIKHANI, H. A.; YAKHCHALI, B.; TABANDEH, F.; RODRÍGUEZ-COUTO, S. Decolouration of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* immobilised into alginate beads, **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17, n. 1, p. 145-153, 2010.

FANCHIANG, J. M; TSENG, D.H. Degradation of anthraquinone dye C.I. Reactive Blue 19 in aqueous solution by ozonation. **Chemosphere**, v. 77, n. 2, p. 214–221, 2009.

FENG, W.; NANSHENG, D.; HELIN, H. Degradation mechanism of azo dye C. I. reactive red 2 by iron powder reduction and photo-oxidation in aqueous solutions. **Chemosphere**, v. 41, n. 8, p. 1233-1238, 2000.

FORATO, L. A.; BERNARDES FILHO, R.; COLNAGO, L. A. Estudo de métodos de aumento de resolução de espectros de FTIR para análise de estruturas secundárias de proteínas. **Quím. Nova**, v. 21, n. 2, p. 146-150, 1998.

FRANCISCON, E.; ZILLE, A.; DIAS GUIMARO, F.; MENEZES, C. R.; DURRANT, L. R.; CAVACO-PAULO, A. Biodegradation of textile azo dyes by a facultative

Staphylococcus arlettae strain VN-11 using a sequential microaerophilic/aerobic process. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 3, p. 280-288, 2009.

FU, Z.; ZHANG, Y.; WANG, X. Textiles wastewater treatment using anoxic filter bed and biological wriggle bed-ozone biological aerated filter. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 4, p. 3748–3753, 2011.

GALAGAN, J. E. et al. Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. **Nature,** v. 438, n. 7071, p. 1105-1115, 2005.

GIORDANO, G. **Tratamento e controle de efluentes industriais**, 2004. Disponível em : <http://www.ufmt.br/esa/Modulo_II_Efluentes_Industriais/Apost_EI_2004_1ABES_Mato_Grosso_UFMT2.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2011.

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

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

GUPTA, V. K.; SUHAS. Application of low-cost adsorbents for dye removal – A review. **Journal of Environmental Management,** v. 90, n. 8, p. 2313–2342, 2009.

HASAN, M. **Dye: Technologies for colour removal**, c2011. Disponível em: <http://publicweb.unimap.edu.my/~ppkas/home/index.php/news/articles/22-dye-technologies-for-colour-removal>. Acesso em 01 fev. 2011.

HONG, H. Y.; YOO, G. S.; CHOI, J. K. Detection of Proteins on Blots Using Direct Blue 71. In: J. M. Walker (Org.). **The Protein Protocols Handbook**, 2 ed. New Jersey: Humana Press Inc., 2002. p. 387-392.

HU, A. T. L.; WU, S. C. Assessment of the azo dye RP2B on the growth of a nitrogen Fixing cyanobacterium: *Anabaena* sp. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 1, p. 93-95, 2001.

HUNGER, K. **Industrial Dyes**: Chemistry, Properties, Applications. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. 660 p.

ISAK, S. J.; EYRING, E. M.; SPIKES, J. D.; MEEKINS, P. A. Direct Blue dye solutions: photo properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology A:** Chemistry, v. 134, n. 1-2, p. 77-85, 2000.

JESUS, G. J.; CORSO, C. R.; CAMPOS, A.; FRANCHETTI, S. M.M. Biodegradation of Erythrosin B dye by paramorphic *Neurospora crassa* 74A, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 2, p. 473-480, 2010.

JOSHI, M.; BANSAL, R.; PURWAR, R. Colour removal from textile effluents, **Indian journal of fibre & textile research**, v. 29, n. 2, p. 239-259, 2004.

JUÁREZ-HERNÁNDEZ, J.; ZAVALA-SOTO, M.E.; BIBBINS-MARTÍNEZ, M.; DELGADO-MACUIL, R.; DÍAZ-GODINEZ, G.; ROJAS-LOPES, M. FTIR Spectroscopy Applied in Remazol Blue Dye Oxidation by Laccases. **AIP Conference Proceedings**, v. 992, p. 1253-1257, 2008.

KALME, S. D.; PARSHETTI, G.K.; JADHAV, S.U.; GOVINDWAR, S.P. Biodegradation of benzidine based dye Direct Blue-6 by Pseudomonas desmolyticum NCIM 2112. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 7, p. 1405-1410, 2007.

KAUSHIK, P.; MALIK, A. Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. **Environment International**, v. 35, n. 1, p. 127-141, 2009.

KHALED, A.; NEMR, A.E.; EL-SIKAILY, A.; ABDELWAHAB, O. Treatment of artificial textile dye effluent containing Direct Yellow 12 by orange peel carbon. **Desalination**, v. 238, n. 1-3, p. 210-232, 2009.

KIMURA, I. Y.; GONÇALVES JR., A. C.; STOLBERG, J.; LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Efeito do pH e do tempo de contato na adsorção de corantes reativos

por microesferas de quitosana. **Polímeros:** Ciência e Tecnologia, v.9, n. 3, p. 51-57, 1999.

KULLMAN, S. W.; MATSUMURA, F. Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide Endosulfan. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 593-600, 1996.

KUMAR, M.N.V.R., SRIDHARI, T.R., BHAVANI, K.D., DUTTA, P.K. Trends in color removal from textile mill effluents. **Colorage**, v. 40, p. 25-34, 1998.

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

LIZIER, T. M. **Ocorrência de aminas aromáticas como subprodutos da degradação dos corantes sudam III e disperso amarelo 9**. 2009. 204 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, SP, 2009.

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

MACHIDA, M. et al. Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. **Nature**, v. 438, n. 7071, p. 1157-1161, 2005.

MALL, I.D.; SRIVASTAVA, V.C.; AGARWAL, N.K. Removal of orange-G and methyl violet by adsorption onto bagasse fly ash-kinetic study and equilibrium isotherm analyses. **Dyes and Pigments**. v. 69, n. 3, p. 210-223, 2006.

MALL, I.D.; SRIVASTAVA, V.C.; AGARWAL, N.K.; MISHRA, I. M. Adsorptive removal of malachite green dye from aqueous solution by bagasse fly ash and activated carbon-kinetic study and equilibrium isotherm analyses. **Colloids and Surfaces A**: Physicochemical Engineering Aspects, v. 264, n. 1-3, p. 17-28, 2005.

MARCANTI-CONTATO, I.; CORSO, C. R.; OLIVEIRA, J. E. Induction of physical paramorphogenesis in *Aspergillus* sp. **Brazilian Journal of microbiology**, v. 28, p. 65-67, 1997.

MARTINS, M. A. M.; FERREIRA, I. C.; SANTOS, I. M.; QUEIROZ, M. J.; LIMA, N. Biodegradation of bioaccessible textile azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. **Journal of Biotechnology**. v. 89, n. 2-3, p. 91–98, 2001.

MOU, D. G.; LIM, K. K.; SHEN, H. P. Microbial agents for decolorization of dye wastewater. **Biotechnology Advanced**, v. 9, n. 4, p. 613-622, 1991.

MURMANN, J. P. **Knowledge and competitive advantage**: the coevolution of firms, technology and national institutions. 1 ed. New York: Cambridge University Press, 2003. 287 p.

OLIVEIRA, D. P. **Corantes como importante classe de contaminantes ambientais – um estudo de caso.** 2005. 159 p. Tese (Doutorado em Toxicologia e análises toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 2005.

ORANUSI, N. A.; OGUGBUE, C. J. Effect of pH and Nutrient Starvation on Biodegradation of Azo Dyes by *Pseudomonas* sp. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 9, n. 1, p. 39-43, 2005.

OWALUDE, S. O.; TELLA, A. C. Physico-chemical analysis and toxicological studies of *Madaran sukudai* (a local drink in Northern Nigeria). **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 2, n. 6, p. 61-63, 2008.

PASZCZYNSKI, A., CRAWFORD, R.C., 1995. Potential for bioremediation of xenobiotic compounds by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Biotechnology Progress**. v. 11, n. 4, p. 368-379, 1995.

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

PINHEIRO, H. N.; TOURAUD, E.; THOMAS, O. Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. **Dyes and Pigments**, v. 61, n. 2, p. 121-139, 2004.

POLJANSEK, I.; KRAJNC, M. Characterization of Phenol-Formaldehyde Prepolymer Resins by In Line FT-IR Spectroscopy. **Acta Chimica Slovenica**, v. 52, n. 3, p. 238-244, 2005.

POLUNIN, K. E.; SOKOLOVA, N. P.; GORBUNOV, A. M.; BULGAKOVA, R. A.; POLUNINA, I. A. FTIR Sprectroscopic Studies of intercations of Stilbenes with Silicon Dioxide. **Protection of Metals,** v. 44, n. 4, p. 352-357, 2008.

PONTECORVO, G.; ROPER, J. A.; FORBES, E. Genetic recombination without sexual reproduction in *Aspergillus niger*, **Journal of General Microbiology**, v.8, p. 198-210, 1953.

ROBERT, P.; MARQUIS, M. L.; BARRON, C. C.; GUILLON, F.; SAULINIER, L. FT-IR Investigation of Cell Wall Polysaccharides from Cereal Grains. Arabinoxylan Infrared Assignment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 18, p. 7014-7018, 2005.

ROBINSON, T.; MCMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource Technology** v. 77, n. 3, p. 247–255, 2001.

ROMÃO, B. M. V.; DINIZ, M. F.; AZEVEDO, M. F. P.; LOURENÇO, V. L.; PARDINI, L. C.; DUTRA, R. C. L.; BUREL, F. Caracterização por FT-IR de agentes de cura utilizados em resinas epoxídicas-II-polimercaptana, poliaminoamida e amida modificada. **Polímeros:** Ciência e Tecnologia, v. 13, n. 3, p. 173-180, 2003.

SAIEN, J.; SOLEYMANI, A. R. Degradation and mineralization of Direct Blue 71 in a circulating upflow reactor by UV/TiO2 process and employing a new method in kinetic study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 144, n. 1-2, p. 506-512, 2007.

SAKKA, S. **Sol-gel science and technology**: Topics in fundamental research and applications. v. 3. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 2003. 397 p.

SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J. B. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. **Bioresource Technology,** v. 98, n. 12, p. 2368-2385, 2007.

SANTOS, G. C.; PEDRO, R. J.; RODRIGUES, H. D. P.; MITTER, E. K.; CORSO, C. R. Análise de biodegradabilidade dos corantes têxteis Procion Blue MX-G e Crystal Scarlet em solução ácida por *Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus oryzae*. **O Biológico,** São Paulo, v. 71, n. 2, p.192, 2009.

SCIAMARELI, J.; COSTA, J. R.; TAKAHASHI, M. F. K.; DINIZ, M. F.; LOURENÇO, V. L.; DAVID, L. H.; IHA, K.; MIYANO, M. H.; FERREIRA, C. Síntese e Caracterização do Polímero Energético Metil Azoteto de Glicidila (GAP) Via Análises Instrumentais. **Polímeros**: Ciência e Tecnologia, v. 19, n. 2, p. 1-4, 2009.

SHAKERI, M.; SUGANO, Y.; SHODA, M. Stable Repeated-Batch Production of Recombinant Dye-Decolorizing Peroxidase (rDyP) from *Aspergillus oryzae*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 105, n. 6, p. 683-686, 2008.

SHIMIZU, A.; TAKEKIYO, T.; KATO, M.; TANIGUCHI, Y.; YOSHIMURA, Y. Pressure Effect on the Conformational Equilibrium of [Leu]5-Enkephalin in Water. **Journal of Physics**: Conference Series, v. 215, n.1, 2010.

SILVA FILHO, H. A.; SANTOS, E. V. M.; SAMPAIO, G. M. M. S.; RODRIGUES, K. A.; ARTHAUD, I. **Ensaios de toxicidade e remoção de corantes têxteis por Processo biológico**. In: II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa, PB, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgâncios.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

SRINIVASAN, A.; VIRARAGHAVAN, T. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 10, p. 1915-1929, 2010.

STOLZ, A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 1-2, p. 69-80, 2001.

SUN, Z.; CHEN, Y.; KE, Q.; YANG, Y.; YUAN, J. Photocatalytic degradation of cationic azo dye by TiO_2/bentonite nanocomposite. **Journal of Photochemistry and Photobiology A:** Chemistry, v. 149, n. 1-3, p. 169-174, 2002.

TEIXEIRA, R. S. S.; PEREIRA, P. M.; FERREIRA-LEITÃO, V. Extraction and Application of Laccases from Shimeji Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) Residues in Decolourisation of Reactive Dyes and a Comparative Study Using Commercial Laccase from *Aspergillus oryzae*. **Enzyme Research**, p. 1-8, 2010.

TELKE, A. A.; KADAM, A. A.; JAGTAP, S. S.; JADHAV, J. P.; GOVINDWAR, S. P. Biochemical Characterization and Potential for Textile Dye Degradation of Blue Laccase from *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 15, n. 4, p. 696-703, 2010.

United States Environmental Protection agency (USEPA), **Biotechnology Program under the Toxic Substances Control Act (TSCA)**, 1997. Disponível em: <http://www.epa.gov/biotech_rule/pubs/fra/fra007.htm> Acesso em: 8 fev. 2011.

VITOR, V.; CORSO, C. R. Decolorization of textile dye by *Candida albicans* isolated from industrial effluents, **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 11, p. 1353-1357, 2008.

WANG, S.; BOYJOO, Y.; CHOUEIB, A.; ZHU, Z. H. Removal of dyes from aqueous solution using fly ash and red mud. **Water Research**, v. 39, n. 1, p. 129-138, 2005.

WANG, C.; XI, J.Y; HU, H. Y.; WEN, X. H. Biodegradation of gaseous chlorobenzene by White-rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium.* **Biomedical and environmental sciences**, v. 21, n. 6, p. 474-478, 2008.

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 1-2, p. 161-187, 2003.

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

XIONG, X. J.; MENG, X. J.; ZHENG, T. L. Biosorption of C.I. Direct Blue 199 from aqueous solution by nonviable *Aspergillus niger*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1-3, p. 241-246, 2010.

YAVUZ, O.; AYDIN, A. H. Removal of Direct Dyes from aqueous solution using various adsorbents. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.15, n. 1, p. 155-161, 2006.

YADAV, B. S.; ALI, I.; KUMAR, P.; YADAV, P. FTIR and Laser Raman spectra of 2-hydroy-5-methyl-3-nitro pyridine. **Indian Journal of Pure & Applied Physics**, v. 45, n. 12, p. 979-983, 2007.

YILDIZ, E.; BOZOK, N. Synthesis of Compounds Containing Fluorine, Vinylsulfone Groups and Transition Metal Complexes and their Applications to Textiles. **E-Journal of Chemistry**, v. 5, n. special 1, p. 997-1007, 2008.

ZEE, F. P. Van der. **Anaerobic dye reduction**. 2002. 142 p. Doctoral thesis. Wageningen University, Wageningen, Netherlands, 2002.

ZOLLINGER, H. **Color Chemistry:** Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments. 2 ed. Weinheim: VCH, 1991. 496 p.