



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CAMPUS ALTO PARAÓPEBA

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

ADSORÇÃO E BIOADSORÇÃO DO CORANTE AZUL DE TRIPAN
UTILIZANDO O FUNGO *Chrysosporthe cubensis*

Amanda Faier Pereira

Orientadora: Sandra de Cássia
Dias

Ouro Branco

Dezembro, 2017



ADSORÇÃO E BIOADSORÇÃO DO CORANTE AZUL DE TRIPAN
UTILIZANDO O FUNGO *Chrysosporthe cubensis*.

Amanda Faier Pereira

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado em cumprimento às
exigências do Curso de
Bacharelado em Engenharia de
Bioprocessos da Universidade
Federal de São João del Rei.

Orientadora: Sandra de Cássia
Dias

Ouro Branco

Dezembro, 2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

ADSORÇÃO E BIOADSORÇÃO DO CORANTE AZUL DE TRIPAN
UTILIZANDO O FUNGO *Chrysosporthe cubensis*.

Amanda Faier Pereira

A Banca Examinadora, composta pelos membros abaixo, aprovou este TCC:

Profa. Dra. Sandra de Cássia Dias – Orientadora

Prof. Dr. Ênio Nazaré de Oliveira Júnior – Examinador 1

Eng. Paula Resende – Examinador 2

Ouro Branco, ____________

Resumo

O Brasil é o sexto maior produtor mundial de têxteis e vestuário. Essas indústrias utilizam corantes que são classificados de acordo com o modo de fixação à fibra do tecido, sendo o corante azo o tipo mais utilizado. Porém, esses corantes, quando não fixados de maneira eficiente às fibras dos tecidos são eliminados na etapa de lavagem, gerando um efluente tóxico. O efluente têxtil, que não recebe tratamento eficaz, quando lançado no meio ambiente pode prejudicar os corpos hídricos, vegetação e até mesmo a saúde humana. Os tratamentos mais utilizados para o efluente têxtil são os biológicos e físico-químico. Entretanto, alguns estudos mostram a eficiência de fungos da podridão branca na adsorção de corantes apontando para o biológico em efluentes têxteis. O objetivo foi avaliar a bioadsorção (fungo ativo) e a adsorção (biomassa seca, fungo inativo) do corante Azul de Tripan pelo fungo *Chrysosporthe cubensis*. Para a bioadsorção foi realizado o cultivo do fungo comparando a eficiência do cultivo realizado entre 7 e 14 dias. Posteriormente, realizou-se o ensaio de adsorção para a análise da melhor concentração de biomassa seca e corante utilizando o planejamento fatorial 2^2 . Após os ensaios de bioadsorção e de adsorção foi feito o teste de fitotoxicidade, utilizando a semente de *Lactuca sativa* (alface), para ambos após o tempo em que foi observada maior descoloração do meio (72 horas). O fungo bioadsorveu 100% do corante presente no meio em 14 dias. No ensaio de adsorção verificou-se a influência da concentração de corante na eficiência do processo, sendo o melhor resultado obtido em 72 horas utilizando biomassa seca (75mg/mL) e corante (20mg/L). A taxa de germinação para as amostras do ensaio de bioadsorção retiradas no 14º dia foi de 83%. Para o ensaio de adsorção, foi observado 100% de germinação nos ensaios 4 (biomassa seca 75mg/mL e corante 20mg/L), 6 e 7 (biomassa seca 45mg/mL e corante 12,5mg/L). O fungo bioadsorveu e adsorveu o corante e reduziu a fitotoxicidade do meio, porém a bioadsorção obteve melhor resultado com a biomassa fúngica adquirindo a coloração do corante Azul de Tripan. As amostras com melhor eficiência de descoloração foram as que apresentaram menor fitotoxicidade.

Palavras Chaves: *Chrysosporthe cubensis*, Azul de Tripan, Bioadsorção, Adsorção.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química característica de um grupo cromóforo de um azocorante (Kunz, <i>et al.</i> 2001).....	9
Figura 2 – Principais tipos de métodos utilizados para o tratamento de efluentes industriais (Freire <i>et al.</i> , 2000).....	16
Figura 3 – Resultado das análises de bioadsorção de acordo com a porcentagem da eficiência de descoloração (Equação 1). O <i>C. cubensis</i> foi incubado durante 14 dias a 30 °C, 150 rpm, 50 mg/L de corante azul de tripan. Amostras foram retiradas nos dias 7e 14, as células foram removidas por centrifugação e o sobrenadante utilizado para monitorar a bioadsorção a 590nm. Os ensaios foram feitos em triplicata. O controle abiótico utilizado foi composto de meio e corante.....	23
Figura 4 - Tubos centrifugados a 6 mil rpm, por 20 minutos contendo o meio de cultivo, corante e fungo <i>C. cubensis</i> após 14 dias de incubação a 150 rpm e 30°C. A coloração do corante foi adquirida pela biomassa do fungo.....	24
Figura 5 - Teste de fitotoxicidade do ensaio de bioadsorção, representado a taxa de sementes germinadas (%) por amostra analisada. Todos os poços haviam 10 sementes de <i>Lactuca sativa</i> , em algodão hidrófilo e 1 mL de solução salina acrescido de 1 mL do sobrenadante livre de células. O controle água foi composto somente por água, os controles abióticos continham o meio de cultivo e corante, no controle biótico não havia presença de corante, apenas meio e inóculo. As sementes foram incubadas por 96 horas, a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.....	25
Figura 6 – Eficiência de descoloração do ensaio de adsorção realizada após incubação de 24, 48 e 72 horas. Diferentes concentrações de biomassa e corante foram incubadas (conforme a Tabela 7) a 30°C e 150 RPM, durante 72 horas. Amostras foram retiradas a cada 24 horas e centrifugadas a 6000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante, livre de biomassa, foi utilizado para análise de descoloração.....	27
Figura 7 - Representação geométrica do planejamento fatorial 2 ² do sistema A (concentração de biomassa) x B (concentração de corante) na adsorção do corante Azul de Tripan pelo fungo <i>C.cubensis</i> . [resposta: % da eficiência de descoloração].....	30
Figura 8 – Teste de fitotoxicidade do ensaio de adsorção comparando os tempos de 0 e 72 horas de cultivo na determinação da taxa de germinação (%) de cada amostra. As mesmas amostras (1 a 7) foram utilizadas para a realização do planejamento fatorial 2 ² do ensaio do teste de fitotoxicidade (Tabela 9 e Figura 9).....	32
Figura 9 - Representação geométrica do planejamento fatorial 2 ² do sistema A x B no teste de fitotoxicidade do ensaio de adsorção. [resposta: média de sementes de <i>Lactuca sativa</i> (alface) germinadas].....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção física nacional (em mil toneladas) e participação relativa (em %) da indústria têxtil, por grupos, segundo região (Campos, 2002).....	6
Tabela 2 - Características típicas de efluente de um processo de tingimento têxtil (Ottoni, 2012).....	7
Tabela 3 – Corantes têxteis, suas características e estrutura molecular.....	10
Tabela 4 - Propriedades e estrutura do corante Azul de Tripan (Anantha e Venkatesha, 2013).....	12
Tabela 5 – Metais pesados e suas fontes de contaminação (Hassemer, 2006).....	14
Tabela 6 - Meio de cultivo utilizado, segundo Visser, <i>et al.</i> (2013).....	20
Tabela 7 – Planejamento fatorial 2^2 com duas variáveis independentes, concentração de biomassa (A) e concentração de corante (B) em 2 diferentes níveis.....	21
Tabela 8 – Planejamento Fatorial 2^2 para a otimização da eficiência de adsorção do corante azul de tripan pelo fungo <i>C. cubensis</i> . Avaliando a concentração de biomassa seca (mg/mL) (variável A) e a concentração de corante (mg/L) (variável B). [resposta: % de eficiência de descoloração].....	28
Tabela 9 - Planejamento Fatorial 2^2 para o ensaio de fitotoxicidade utilizando ensaios de 72 horas. Avaliando a concentração de biomassa seca (mg/mL) (variável A) e a concentração de corante (mg/L) (variável B) no crescimento de sementes de <i>Lactuca sativa</i>	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo Geral.....	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Indústria Têxtil.....	5
3.1.1 Efluente Têxtil	6
3.2 Corantes têxteis	8
3.3 Toxicidade do efluente têxtil	13
3.4 Tratamento do efluente têxtil	14
3.4.1 Tratamento por processos oxidativos	16
3.4.2 Tratamento por Adsorção	16
3.4.3 Tratamento Biológico com microrganismos.....	17
3.5 <i>Chrysosporthe cubensis</i>	18
4. METODOLOGIA.....	19
4.1 Microrganismo.....	19
4.2 Ensaio de Bioadsorção do corante Azul de Tripan.....	19
4.3 Ensaio Adsorção	20
4.4 Ensaio de fitotoxicidade	21
4.5 Degradação do corante pelo fungo.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1 Ensaio de bioadsorção do corante Azul de Tripan	22
5.2 Teste de fitotoxicidade da solução de corante tratada com bioadsorção ..	24
5.3 Ensaio de adsorção e planejamento fatorial 2 ²	25
5.4 Teste de fitotoxicidade do ensaio de adsorção	29
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. INTRODUÇÃO

A contaminação de águas naturais tem sido apontada como um dos maiores problemas da sociedade moderna. Neste contexto, o setor têxtil apresenta especial destaque por utilizar grandes quantidades de água e por gerar grandes volumes de efluentes, os quais apresentam composição extremamente heterogênea. Estes efluentes apresentam coloração intensa porque aproximadamente 20% da produção total de corantes são perdidos para o meio ambiente durante a etapa de tingimento das fibras (Higa, 2008).

A maioria, dos efluentes gerados pelas unidades industriais têxteis, são tratados por processo físico-químico e biológico, os quais apresentam bons resultados na redução de material em suspensão. Entretanto, tem uma alta produção de lodo o que requer a disponibilidade de grandes áreas para implantação de aterros. (Silva, 2011).

Recentemente, os fungos têm sido caracterizados como organismos adequados para tratamentos de efluentes e têm sido extensivamente pesquisados (Kaushik e Malik, 2009). Dentre os fungos comumente avaliados, existem alguns relatos com actinomicetos e deuteromicetos, porém a maioria dos estudos está concentrada nos basidiomicetos, pertencentes ao grupo dos fungos da podridão branca da madeira (Ottoni, 2012).

O fungo que será utilizado, *Chrysosporthe cubensis*, é conhecido por causar cancrios nos troncos das árvores, principalmente espécies de eucalipto podendo levar à sua ruptura ou morte. Apresentam micélio branco com manchas amarronzadas e borda mais clara. São de crescimento rápido em uma temperatura ótima de 30°C (GOMES, 2014).

O fungo será avaliado quanto à capacidade de bioadsorção e de adsorção do corante Azul de Tripan que se caracteriza por ser um corante azo de coloração cinza azulado, solúvel em água e insolúvel em álcool (Malta, *et al.* 2006).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a bioadsorção e adsorção do corante azul de tripan pelo *Chrysosporthe cubensis*.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar a capacidade de bioadsorção do azul de tripan pelo fungo *Chrysosporthe cubensis*.
- Avaliar a influência da concentração de biomassa e de corante na adsorção do azul de tripan pelo *Chrysosporthe cubensis* utilizando o planejamento fatorial 2^2 .
- Realizar o teste de fitotoxicidade nos ensaios de bioadsorção e adsorção.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Indústria Têxtil

A indústria têxtil tem como objetivo a transformação de fibras em fios, de fios em tecidos e de tecidos em peças de vestuário, têxteis domésticos como roupa de cama e mesa, ou em artigos para aplicações técnicas, como *airbags* e cintos de segurança (Hassemer e Sens, 2002).

De acordo com o Instituto de Estudos e Marketing Industrial, o Brasil é o sexto maior produtor mundial de têxteis e vestuário. O setor reúne cerca de 26.000 empresas e emprega 1,53 milhões de pessoas em toda a cadeia, qualificando-se como o segundo maior empregador formal da indústria de transformação. A indústria têxtil e de confecções participa com 5,2% do faturamento total da indústria de transformação (Instituto, 2007).

Parte desse faturamento vem dos estados de São Paulo e Santa Catarina, onde apenas na bacia hidrográfica do rio Itajaí-Açú encontram-se setenta e cinco indústrias, sendo trinta e seis do setor têxtil (Hassemer e Sens, 2002). Em Minas Gerais, a indústria têxtil se desenvolveu ao longo do século XIX e dividia-se em duas ramificações distintas, em termos de processos produtivos: a produção doméstica e a produção fabril. Um dos fatores que estimularam essa atividade no estado mineiro se encontrava na relativa disponibilidade de mão-de-obra. A maioria das fábricas têxteis instaladas em Minas Gerais, neste período, caracterizavam-se por empreendimentos de pequeno porte (Sottoriva, 2002).

Atualmente, Minas Gerais é considerado o quarto polo brasileiro da indústria têxtil, sendo o mercado favorável aos produtores pelos preços acessíveis e pela qualidade do algodão produzido no estado. Na safra 2015/2016, o Proalminas (Programa Mineiro de Incentivo à Cultura do Algodão) registrou o atendimento a 43 indústrias e 61 produtores. A produção tem girado em torno de 26 mil toneladas, cerca de 20% da produção brasileira (Libby, 2015).

Nos setores de fiação, há uma predominância da região Nordeste, seguida da região Sudeste. Na tecelagem, a ordem se inverte: a região Sudeste possui um predomínio absoluto. Já no setor de malharia, destaca-se a

região Sul, representando 55,7% da produção total, seguida da região Sudeste, com 150,6 mil toneladas (31,7%) (Campos, 2004).

A região Sudeste, no setor de confecções, concentra a maior parte da produção nacional e lidera nos setores de tecelagem e confecções, conforme mostra a tabela 1 (Campos, 2004).

Tabela 1 - Produção física nacional (em mil toneladas) e participação relativa (em %) da indústria têxtil, por grupos, segundo região (Campos, 2002).

REGIÕES	FIAÇÃO	TECELAGEM	MALHARIA	CONFECÇÕES
NE	495,7 / 39,8	263,7 / 21,6	53,1 / 11,2	1131,7 / 12,0
SD	463,5 / 37,2	768,9 / 63,1	150,6 / 31,7	4975,8 / 52,6
SL	280,2 / 22,5	152,3 / 12,5	264,8 / 55,7	2523,6 / 26,7
OUTRAS	5,8 / 0,5	33,4 / 2,8	6,8 / 1,4	828,3 / 8,7
TOTAL	1254,2 / 100,0	1218,3 / 100,0	475,3 / 100,0	9459,4 / 100,0

Legenda: NE – Região Nordeste / SD – Região Sudeste / SL – Região Sul

Visto a importância desse setor na economia nacional, é importante conhecer o processo de fabricação de tecidos e os possíveis impactos causados. O processo tem início com a fiação (fabricação dos fios), em seguida a malharia (fio de algodão é transformado em tecido propriamente dito), beneficiamento (acabamento e estamparia do algodão), seguida de talharia (corte do tecido), estamparia, confecção e embalagem (Santos, 2010).

De todas as etapas citadas anteriormente, a de beneficiamento é a maior responsável por impactar o meio ambiente, por parte do setor têxtil. Isso devido a adição de alvejantes e corantes, alto consumo de água usada diretamente para lavagem, tingimento e amaciamento, ou indiretamente para resfriamento, aquecimento e produção de vapor em caldeiras. Todo o processo produtivo utiliza cerca de 100 m³ de água para cada tonelada de tecido processado (Freitas, 2002).

3.1.1 Efluente Têxtil

A água que é utilizada na lavagem tem como objetivo retirar o excesso de corante que não foi fixado de forma eficiente à fibra do tecido nas etapas anteriores, resultando em um efluente com coloração indesejada (Claudia, et al. 2000). Segundo Immich, 2006 de 10 a 20% do corante não se fixa à fibra do tecido satisfatoriamente.

Além da coloração, o efluente gerado por indústrias têxteis possui composição extremamente heterogênea e uma grande quantidade de material tóxico e recalcitrante, o que torna seu tratamento difícil. Esses efluentes apresentam uma grande quantidade de sólidos suspensos, pH instável, temperatura elevada, alta DQO (Demanda Química de Oxigênio), considerável quantidade de metais pesados (ex. Cr, Ni e Cu) compostos orgânicos clorados e surfactantes (Araújo, *et al.* 2006), como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Características típicas de efluente de um processo de tingimento têxtil (Ottoni, 2012).

Aspectos/Componentes	Valor
pH	2 a 10
Temperatura °C	30 a 80
DQO (mg·l ⁻¹)	50 a 5000
DBO (mg·l ⁻¹)	200 a 300
Sólidos suspensos (mg·l ⁻¹)	50 a 500
Nitrogênio orgânico (mg·l ⁻¹)	18 a 39
Fósforo total (mg·l ⁻¹)	0,3 a 15
Crômio total (mg·l ⁻¹)	0,2 a 0,5
Cor (mg·l ⁻¹)	> 300

Legenda: DQO – Demanda Química de oxigênio / DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

De acordo com Sottoriva, 2002, estudos comprovaram a existência de bactérias intestinais e enzimas hepáticas capazes de metabolizar os corantes produzindo compostos aromáticos aminados, altamente carcinogênicos. Esses estudos mostraram a necessidade do tratamento eficaz do efluente líquido que contém em sua composição corantes têxteis.

A grande maioria dos efluentes gerados pelas unidades industriais têxteis é tratada por processo físico-químico e biológico, os quais apresentam bons resultados na redução de material em suspensão. Porém, têm como principal inconveniente à alta produção de lodo o que requer a disponibilidade de grandes áreas para implantação de aterros (Dallago e Smaniotto, 2005).

Os resíduos sólidos, bem como as águas contaminadas, ameaçam a qualidade do solo e das águas. Nesse caso, é preciso utilizar técnicas, para evitar a degradação ambiental, como o tratamento dos efluentes líquidos e utilização de filtros para os particulados (Santos, 2010).

O descarte dos efluentes têxteis sem tratamento nos ambientes aquáticos pode levar rapidamente ao esgotamento do oxigênio dissolvido, tendo como consequência o desequilíbrio desse ecossistema. A presença de corantes nessas águas impede a penetração da luz solar nas camadas mais profundas, alterando a atividade fotossintética do meio, resultando em deterioração da qualidade dessa água, diminuindo a solubilidade de oxigênio, e resultando em efeitos tóxicos sobre a fauna e flora aquática e consequentemente a saúde humana (Sottoriva, 2002).

3.2 Corantes têxteis

Os produtos têxteis são derivados da manufatura de fibras que podem ser naturais ou sintéticas. As duas principais fibras naturais são lã e o algodão. As principais fibras sintéticas incluem o poliéster, o rayon, o nylon, o poliacrílico e as poliamidas (Silva, 2011).

Para garantir a qualidade do produto final e a satisfação do consumidor o processo de tingimento das fibras do tecido é fundamental. Nesse processo o tecido ganha cores que o consumidor espera ser resistente à luz, transpiração e lavagem. Para garantir essas propriedades, as substâncias que conferem coloração à fibra devem apresentar alta afinidade, uniformidade na coloração, resistência aos agentes desencadeadores do desbotamento e ainda apresentar-se viável economicamente (Silva, 2011).

É importante evidenciar a diferença existente entre corantes e pigmentos. Os pigmentos são caracterizados por serem praticamente insolúveis no meio nos quais eles são aplicados. Por outro lado, os corantes, são completamente ou parcialmente solúveis e podem ser aplicados em vários substratos como materiais têxteis, papel e couro (Soares, 1998).

Aproximadamente, 10.000 diferentes corantes e pigmentos são usados industrialmente, o que representa um consumo anual de cerca de 7×10^5 tons no mundo e 26.500 tons somente no Brasil (Salgado, *et al*, 2009).

A origem dos corantes têxteis é incerta, mas há indicações de seu uso pelo homem desde os primórdios das civilizações. No Egito, muitos tecidos encontrados em múmias eram coloridos. No Brasil, desde seu descobrimento, sua história tem estado relacionada à produção de corantes. A começar pelo seu nome, uma vez que este é proveniente da madeira “Pau Brasil”, da qual

era extraído um pigmento capaz de tingir tecidos com cores fortes, como vermelho, rosa ou marrom (Dallago e Smaniotto, 2005).

Atualmente, aproximadamente 10.000 corantes são produzidos em escala industrial. Destes, cerca de 2.000 encontram-se disponíveis para a indústria têxtil. Inicialmente, os corantes eram obtidos de fontes naturais, que ainda são utilizadas, e em larga escala como o índigo, um pigmento azul, extraído de planta homônima (*indigofera tinctoria*) e a henna, utilizado na indústria de cosméticos. Já os artificiais só tiveram espaço no início de 1856 (Immich, 2006).

Segundo Kunz, *et al.*(2001), a molécula do corante utilizada para tingimento da fibra têxtil pode ser dividida em duas partes principais, o grupo cromóforo e a estrutura responsável pela fixação à fibra. Existem vários grupos cromóforos utilizados atualmente na síntese de corantes. No entanto, o grupo mais empregado (cerca de 60 % dos corantes) pertence à família dos azocorantes (Figura 1), que se caracterizam por apresentarem um ou mais grupamentos N=N ligados a sistemas aromáticos.

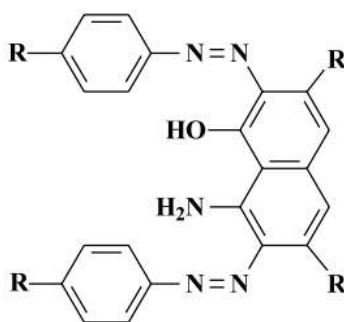
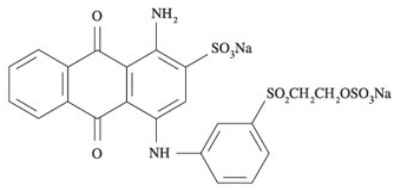
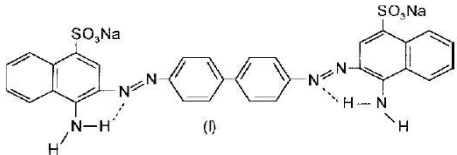
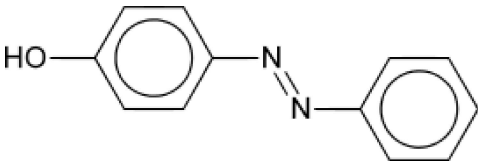
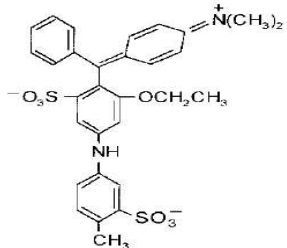
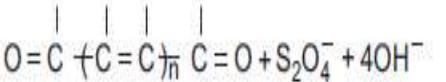
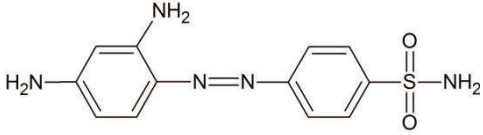
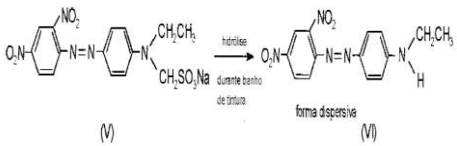
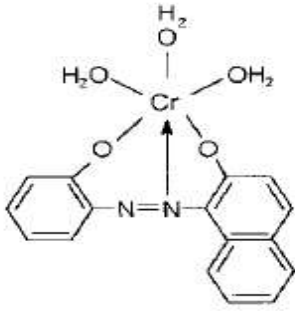
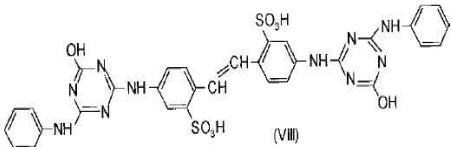


Figura 1 - Estrutura química característica de um grupo cromóforo de um azocorante (Kunz, *et al.*2001).

Os corantes têxteis podem ser divididos em grupos de acordo com suas características em comum, tabela 3. Outra classificação é o modo de fixação as fibras do tecido (Freitas, 2002).

Tabela 3 – Corantes têxteis, suas características e estrutura molecular.

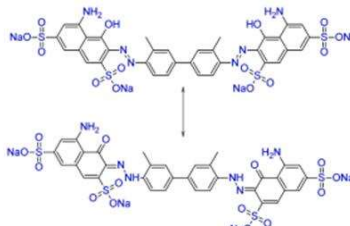
CORANTE	CARACTERÍSTICAS	ESTRUTURA MOLECULAR
Reativos	Alta solubilidade em água e o estabelecimento de uma ligação covalente entre o corante e a fibra, conferindo maior estabilidade na cor do tecido quando comparado a outros tipos de corante. No Brasil é o mais utilizado para a tintura de algodão (Ruiz Silva e Zonignan, 1992).	
Diretos	São solúveis em água e tingem diretamente as fibras de celulose como o algodão e viscose através das interações de Van der Waals (FREITAS, 2002).	
Azóicos	Formado de dois compostos, o naftol e uma base. O naftol é um composto aromático que se fixa à celulose. Já a base é um composto químico insolúvel em água, o qual é solubilizado por meio de nitrito de sódio e ácido clorídrico (FREITAS, 2002).	
Ácidos	São solúveis em água e tingem diretamente as fibras proteicas e poliamídicas. Corresponde a um grande grupo de corantes aniônicos portadores de um a três grupos sulfônicos (FREITAS, 2002).	
A cuba	São insolúveis em água. Através de redução com hidrossulfito de sódio em meio alcalino, se tornam solúveis e tingem os materiais têxteis celulósicos. A maior aplicação deste tipo de corante tem sido a tintura de algodão, embora devido às suas excelentes propriedades de fixação, outros materiais também são utilizados (FREITAS,	

	2002).	
Ao Enxofre	São insolúveis em água e são aplicados ao tecido após solubilização com sulfeto de sódio. Após a aplicação são oxidados convertendo-se nos corantes insolúveis originais. São ideais para fibras celulósicas na obtenção de cores intensas (castanho, azul marinho, preto). Podem ser considerados o tingimento mais ecológico sobre fibras celulósicas e suas misturas (Valldeperas <i>et al.</i> 2001).	
Dispersos	Constitui uma classe de corantes insolúveis em água aplicados em fibras de celulose e outras fibras hidrofóbicas através de suspensão. Para sua aplicação são necessários agentes dispersantes (OLIVEIRA, 2005).	
Pré-Metalizados	Tingem principalmente fibras proteicas e poliamida. São caracterizados pela presença de um grupo hidroxila ou carboxila na posição orto em relação ao cromóforo azo, permitindo a formação de complexos com íons metálicos. A desvantagem ecológica deste tipo de corante está associada ao alto conteúdo de metal (cromo) no efluente (OLIVEIRA, 2005).	
Branqueadores	São também chamados de branqueadores ópticos ou mesmo branqueadores fluorescentes. São aplicados para diminuir a aparência amarelada das fibras (FREITAS, 2002).	

O Azul de Tripán é caracterizado como um corante azóico (Tabela 3) de coloração cinza azulado, solúvel em água e insolúvel em álcool, com base em o-toluidina muito utilizado na tintura de têxteis, couro e papel. Esse corante, na indústria têxtil, é aplicado em tecidos com fibras celulósicas, como o algodão e o rayon (Anantha e Venkatesha, 2013).

As moléculas que compõem o corante Azul de Tripán (o-toluidina, benzidina e o-dianisidina) são cancerígenas. A Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer fornece evidências suficientes dos efeitos cancerígenos e teratogênicos desse corante em animais e possivelmente em seres humanos, além de causar a morte e o atraso na regeneração de organismos aquáticos quando o efluente líquido, que contém o corante, é lançado em corpos hídricos sem o devido tratamento (Anantha e Venkatesha, 2013). As propriedades e estrutura do Azul de Tripán estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Propriedades e estrutura do corante Azul de Tripán (Anantha e Venkatesha, 2013).

Propriedades	Estrutura Química
Fórmula molecular: $C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{14}S_4$	
Peso molecular: 960,8	
Número de índice de cores: 23850	
Amáx/nm = 590	

O Azul de Tripán, e a maioria dos corantes, contribui para a poluição de recursos hídricos, dificultam a penetração dos raios solares, prejudicando o metabolismo fotossintético de algumas espécies como plantas aquáticas, podendo, através da cadeia alimentar, levar a toxicidade para os peixes e até humanos (Salgado, *et al*, 2009).

Além disso, apresentam-se como recalcitrantes e potencialmente cancerígenos se forem oralmente administrados ou se entrarem em contato com a corrente sanguínea, podendo ser metabolizados pelas enzimas do fígado e de outros órgãos. Essa metabolização acarreta na quebra da molécula do corante, gerando subprodutos tóxicos, como aminas e benzidinas que têm potencial para causarem câncer (Hassemer, 2006).

Cerca de 4% da produção de corantes orgânicos, decorrente dos processos de síntese e aplicação, se perde para o meio ambiente, dando origem a efluentes fortemente coloridos e tóxicos (Salgado, *et al*, 2009).

3.3 Toxicidade do efluente têxtil

Um dos obstáculos encontrados pelas indústrias têxteis é a gestão ambiental. Principalmente o controle e remoção dos corantes presente nos efluentes. A coloração deve ser removida antes do lançamento dos efluentes no meio ambiente ou em sistemas de tratamento biológicos. Em um estudo realizado por Walsh *et al.* (1980) foram detectados 56 agentes químicos em efluentes de indústria têxtil, dentre eles: dietil-ftalato, samário, gadolínio, itrio, erbio, tolueno, tântalo, háfnio, itérbio e corantes reativos entre outros (Cetesb, 2007).

Segundo Hassemer (2006) a composição de um efluente misto em uma indústria de processamento têxtil, normalmente apresenta a cor forte como a característica visual mais notória do efluente têxtil. Porém, alguns outros compostos conferem alta complexidade, como altas concentrações de AOX (Organohalogenados Adsorvíveis), sulfitos e metais pesados encontrados nos alvejantes e halógenos, enxofre ou metal pesado que se encontram presentes muitas vezes nos corantes como mostra a tabela 5.

Tabela 5 – Metais pesados e suas fontes de contaminação (Hassemer, 2006).

Metais	Fontes de contaminação
Arsênio	Fibras e água industrial
Cádmio	Impureza nos sais
Cromo, Cobalto e Níquel	Corante
Cobre	Corante, água industrial e fibras
Chumbo	Corante e tubulação
Estanho	Produtos de acabamento final
Mercúrio	Corante e impurezas químicas
Titânio	Fibras
Zinco	Corante, impurezas químicas, água industrial e tubulação

De acordo com Souza e Rosado (2009), os corantes são os principais contaminantes detectados nos efluentes têxteis, sendo que uma pequena porção destes resíduos é suficiente para que sejam visíveis seus efeitos, como a alteração na transparência e solubilidade de gases na água.

Nas indústrias têxteis os corantes são produzidos para resistir à exposição, à transpiração, à luz, à água, a produtos químicos como agentes oxidantes e a ataques microbianos. Desta forma eles se mantêm de forma recalcitrante no meio ambiente.

Os corantes mais usados na indústria têxtil são os reativos azo, devido suas características de brilho e solidez. Nos processos de tingimento, uma grande fração é perdida no efluente devido à hidrólise do corante nos banhos de esgotamento alcalinos. Esta classe de corante é a que apresenta maior toxicidade devido a clivagem redutiva nos anéis aromáticos, que originam a formação de aminas aromáticas com potencial carcinogênico e mutagênico (Hassemer, 2006).

Os processos convencionais de tratamento de efluentes têxteis não removem estes corantes de forma satisfatória. A poluição de corpos d'água com estes corantes provoca poluição visual e afeta, principalmente, a biota aquática, como no processo de fotossíntese devido a proliferação de algas que contribuem para não permitir a chegada da luz nos locais mais profundos, afetando toda a vida aquática e de pessoas que dependem desses locais para subsistência. A combinação da cor e de um grande conteúdo de sólidos suspensos resulta em uma alta turbidez do efluente, contribuindo para a dificuldade do tratamento (Peruzzo, 2003).

Os corantes têxteis representam um importante grupo de substâncias orgânicas que podem apresentar efeitos indesejáveis ao ambiente aquático, sendo por isso necessária a avaliação de sua toxicidade e mutagenicidade (Higa, 2008).

3.4 Tratamento do efluente têxtil

O efluente gerado no processamento têxtil apresenta alto teor de sólidos suspensos e corantes. Para tratar este tipo de efluente são utilizados os tratamentos primários, secundários e terciários, que objetivam a remoção das

partículas ou poluentes mediante operações físicas, químicas e biológicas. O objetivo do tratamento é reduzir os sólidos totais, eliminar a turbidez e cor e oxidar química e bioquimicamente estas substâncias, além de remover a toxicidade (Freitas, 2002).

Os processos de tratamento físico-químico (tratamento primário) como coagulação, floculação e sedimentação apresentam elevada eficiência na remoção de material particulado em suspensão. No entanto, se mostram deficientes na remoção de cor e compostos orgânicos dissolvidos (Giordani, 2004).

Por isso é inserido o processo de tratamento secundário que, conforme Sperling (1996), o principal objetivo é a remoção da matéria orgânica dissolvida (DBO solúvel) e matéria orgânica em suspensão) (Higa, 2008).

Em geral, na indústria têxtil o processo secundário de tratamento é biológico via sistema de lodos ativados. Este consiste na agitação dos efluentes na presença de microrganismos e ar, durante o tempo necessário para metabolizar e flocular uma grande parte da matéria orgânica. O processo apresenta a produção de um grande volume de lodo (Kunz, *et al*, 2001).

O tratamento terciário é eficiente na remoção do fósforo e o nitrogênio, responsáveis pelo processo de eutrofização de corpos d'água, na remoção de compostos tóxicos ou não biodegradáveis, insuficientemente removidos nas etapas anteriores do tratamento. Exemplos de tratamento terciário incluem a troca iônica, osmose reversa, ultrafiltração, ultravioleta, ozonização, adsorção em leito de carvão ativado (Silva, 2011).

A figura 2 mostra os principais métodos utilizados para o tratamento de efluentes industriais e como esses métodos se organizam (Freire *et al*, 2000).



Figura 2 – Principais tipos de métodos utilizados para o tratamento de efluentes industriais (Freire *et al*, 2000).

3.4.1 Tratamento por processos oxidativos

Os processos oxidativos (POAs) se apresentam como tecnologias capazes de reduzir os problemas ambientais gerados por efluentes têxteis e baseiam-se no emprego de agentes oxidantes destinados a acelerar a degradação de corantes têxteis.

Os processos oxidativos têm como principal característica a geração de radicais hidroxilas, que reagem rápida e indiscriminadamente com muitos compostos orgânicos, ou por adição à dupla ligação ou por abstração do átomo de hidrogênio em moléculas orgânicas alifáticas. O resultado é a formação de radicais orgânicos que reagem com oxigênio, dando início a uma série de reações de degradação que podem culminar em espécies inócuas, tipicamente CO_2 e H_2O . Vários processos de produção do radical hidroxila podem ser utilizados utilizando ozônio, peróxido de hidrogênio, semicondutores e reagente de Fenton (Tiburtius, *et al*, 2003).

Os POAs degradam um grande número de substâncias recalcitrantes através de procedimentos de custo relativamente baixo e de simples operação. Tem como vantagens a aplicação no tratamento de contaminantes cuja concentração seja muito baixa, podem ser aplicados para reduzir a concentração de compostos formados em etapas de pré-tratamento, como por exemplo, aromáticos halogenados formados durante a desinfecção convencional e na maioria dos casos, os POAs não geram resíduos, com exceção de alguns processos que podem envolver precipitação.

Entretanto, nem todos os processos estão disponíveis em escala adequada, os custos podem ser elevados, principalmente devido ao consumo de energia, além de existir a formação de subprodutos de reação, os quais em alguns casos são tóxicos (Dallago e Smaniotto, 2005).

3.4.2 Tratamento por Adsorção

A operação de adsorção sólido-líquido explora a habilidade que certos sólidos têm de concentrar na sua superfície substâncias específicas de soluções aquosas. Dessa forma, os componentes das soluções aquosas

podem ser separados. O material inicial a ser adsorvido é o adsorbato, e o material sólido onde ocorre a adsorção é chamado de adsorvente (Immich, 2006).

A adsorção, um método físico, tem sido considerada superior a outras técnicas para reuso de água, oriunda do tratamento de efluente. Devido ao custo inicial, flexibilidade, simplicidade de projeto e facilidade de operação. Contudo, o primeiro passo para um processo de adsorção eficiente é a escolha de um adsorvente com alta seletividade (Silva, *et al.*, 2011).

A adsorção, em alguns casos, por não se tratar de um método destrutivo, possibilita a recuperação do corante sem perda de sua identidade química. Atualmente, o material que apresenta maior capacidade de adsorção, amplamente utilizado para o tratamento de efluentes, é o carvão ativado. Entretanto, em função de sua superfície ser quimicamente positiva, a adsorção de corantes de caráter catiônico é limitada (Dallago e Smaniotto, 2005).

3.4.3 Tratamento Biológico com microrganismos

Alguns métodos de biodegradação, tais como a bioadsorção de corante por fungos, algas e bactérias, degradação microbiológica, adsorção por biomassa microbiológica e sistemas de bioremediação, são frequentemente aplicados para tratamento de efluentes industriais, pois muitos microrganismos como bactérias, algas e fungos são capazes de acumular e degradar diferentes poluentes (Immich, 2006; Kaushik e Malik, 2009).

Phanerochaete chrysosporium é o fungo da podridão branca mais utilizado em estudos relacionados ao tratamento de efluente têxtil. Este fungo tem a capacidade de mineralizar, além da lignina, uma variedade de poluentes resistentes a degradação. Seu sistema lignolítico é formado pelas enzimas lignina e manganês peroxidase, as quais são produzidas em meios contendo fontes limitadas de carbono e nitrogênio. Estas enzimas tem a capacidade de despolimerizar a lignina e uma grande variedade de outros compostos como os corantes têxteis (Kunz, *et al.*, 2001).

3.5 *Chrysoporthe cubensis*

Chrysoporthe cubensis é um importante patógeno que pertence à família *Cryphonectriaceae*. É conhecido por causar cancrios nos troncos das árvores, principalmente espécies de eucalipto, reduzindo o crescimento, pode levar a ruptura ou morte destes vegetais. Apresentam micélio branco com manchas amarronzadas e borda mais clara. São de crescimento rápido em uma temperatura ótima de 30°C (GOMES, 2014).

Assim como o fungo mais utilizado no tratamento de efluentes têxteis, *Phanerochaete chrysosporium*, o *Chrysoporthe cubensis* também é um fungo ligninolítico da podridão branca. Além de Eucaliptus o patógeno pode infectar outras melastomataceas como cravo da Índia (*Eugenia caryophyllata*), araçazeiro (*Psidium* spp.), quaresmeira (*Tibouchina* sp.) e goiaba-de-anta (*Bellucia dichotoma*) (Dutra, 2013).

Em estudo prévio, descobriu-se que o fungo *C. cubensis* secreta enzimas lignocelulolíticas com atividade em processos de sacarificação de biomassa. Ainda demonstraram que as xilanases presentes no coquetel lignocelulolítico do fungo *C. cubensis* apresentam alta termoestabilidade, característica que é muito interessante para o setor industrial (Falkoski *et al*, 2013).

4 METODOLOGIA

4.1 Microrganismo

O fungo *C. cubensis* foi gentilmente cedido pela professora Flávia Donária do Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos da Universidade Federal de São João Del Rei.

O fungo foi mantido em placa com ágar *Yeast extract-Malt* (YM). Quinzenalmente, o fungo foi repicado em placas de petri contendo o meio YM. As placas foram incubadas 28°C, durante 7 dias. Decorrido o tempo, as placas foram armazenadas a 4°C durante 7 dias. Ao final deste período um novo repique foi realizado e o procedimento descrito acima foi repetido.

4.2 Ensaio de Bioadsorção do corante Azul de Tripán

O meio de cultivo utilizado para o ensaio de bioadsorção está apresentado na tabela 6.

Tabela 6 - Meio de cultivo utilizado, segundo Visser, *et al.* (2013)

COMPOSTO	QUANTIDADE (g/L)
Glicose	10,0
NH ₄ NO ₃	1,0
KH ₂ PO ₄	1,0
MgSO ₄	0,5
Extrato de levedura	2,0

A placa de petri contendo o *C. cubensis*, retirada da estufa, foi lavada com 50 ml de solução salina para recuperação celular. A seguir, 3,0 mL da suspensão celular foram transferidos para erlenmeyers de 250 mL contendo 30 mL do meio descrito na tabela 6 e 50mg/L de corante Azul de Tripán. Os frascos foram agitados a 30 °C e 150 rpm durante 14 dias. Amostras foram retiradas no 7º e 14º dias para quantificar a descoloração e realizar os testes de fitotoxicidade. O controle abiótico foi composto de meio de cultura e corante Azul de Tripán 50 mg/L e o controle biótico foi composto de meio de cultura e 3,0 mL de suspensão celular, todos os ensaios em duplicata.

4.3 Ensaio Adsorção

A primeira etapa do ensaio de adsorção consistiu em obter a biomassa, células e esporos do *C.cubensis*. O cultivo para obtenção de biomassa foi realizado em erlenmeyers de 250 mL contendo 30 mL do meio de cultura descrito na tabela 6. Placas de petri contendo o *C.cubensis*, após 7 dias incubados a 28°C, foram lavadas com 3mL de solução salina, todo o volume da suspensão recuperado foi transferido para 1 erlenmyer.

Portanto, foram utilizadas 3 placas de petri contendo o micro-organismo. Os erlenmeyers contendo o meio de cultivo e a suspensão de micro-organismo foram incubados durante 14 dias, a 30°C, a 150 rpm. No 14º dia, o cultivo foi centrifugado a 6 mil rpm, durante 20 minutos a 25° C. As células recuperadas foram mantidas a 50°C durante 24 horas.

O planejamento fatorial 2^2 com duas variáveis independentes, concentração de biomassa e concentração de corante, e duas variáveis dependentes % de descoloração e fitotoxicidade foi realizado (Tabela 7).

Sete experimentos, em duplicada, foram realizados conforme apresentado na tabela 7. Cada experimento apresentou diferentes concentrações de células e de corante Azul de Tripán. Os tubos foram incubados a 30°C, 150 rpm durante 14 dias. Dois tubos de cada condição foram retirados em 0, 24, 48 e 72 horas.

Os tubos foram centrifugados a 6 mil rpm, 20 minutos para obtenção do sobrenadante. O sobrenadante foi utilizado para determinação da % de descoloração e fitotoxicidade.

Tabela 7 – Planejamento fatorial 2^2 com duas variáveis independentes, concentração de biomassa (A) e concentração de corante (B) em 2 diferentes níveis.

VARIÁVEL			NÍVEL(+)	NÍVEL (0)	NÍVEL (+)
A - CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA SECA (mg/mL)			75	45	15
B - CONCENTRAÇÃO DE CORANTE AZUL DE TRIPAN (mg/L)			20	12,5	5
EXPERIMENTOS	A - BIOMASSA		B - CORANTE		
	NÍVEL	mg/mL	NÍVEL	mg/L	
1	-	15	-	5	
2	.	75	-	5	
3	-	15	.	20	
4	.	75	.	20	
5	0	45	0	12,5	
6	0	45	0	12,5	
7	0	45	0	12,5	

4.4 Ensaio de fitotoxicidade

Os ensaios de fitotoxicidade foram realizados em placas de 24 furos, e semente de *Lactuca sativa* (Alface). O teste foi realizado de acordo com Diniz, 2015. Os poços foram forrados com algodão hidrofílico e sobre o algodão foram depositadas sementes de *Lactuca sativa*. A seguir, em cada poço foram adicionados 1 mL do sobrenadante dos ensaios de 7 e 14 dias, para o teste de bioadsorção, e 1mL de solução salina.

Para os ensaios de adsorção foi adicionado 1 mL do sobrenadante obtido em 72 horas. O teste foi realizado em duplicata. A placa foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 96 horas. Após esse período foi contado o número de sementes germinadas. Para o ensaio de bioadsorção foram utilizadas 10 sementes em cada poço e para o ensaio de adsorção foram utilizadas 7 sementes.

4.5 Degradação do corante pelo fungo

O monitoramento da eficiência de descoloração foi determinado através da diminuição da absorbância no comprimento de onda máximo para cada corante em relação ao controle abiótico (meio de cultura sem inóculo acrescido de corante). A eficiência de descoloração foi expressa em termo de percentual de remoção de corante calculado conforme descrito na equação 1:

$$Eficiência\ de\ descoloração = \frac{Abs_o - Abs_t}{Abs_o} \times 100 \quad (1)$$

Onde Abs_o é a absorbância da amostra no tempo zero e Abs_t é a absorbância no tempo analisado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaios de bioadsorção do corante Azul de Tripan

Os resultados obtidos das leituras a 590nm das amostras retiradas no sétimo e décimo quarto dia estão apresentadas na figura 3.

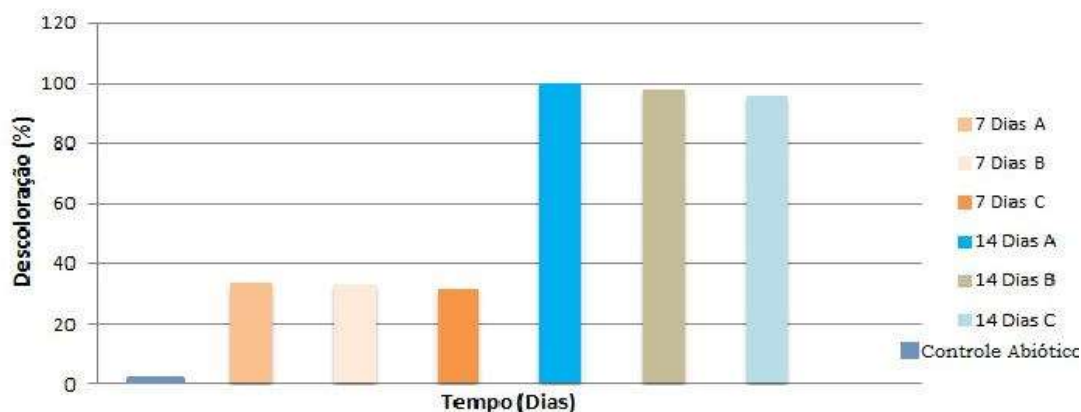


Figura 3 – Resultado das análises de bioadsorção de acordo com a porcentagem da eficiência de descoloração (Equação 1). O *C. cubensis* foi incubado durante 14 dias a 30 °C, 150 rpm, 50 mg/L de corante azul de tripan. Amostras foram retiradas nos dias 7 e 14, as células foram removidas por centrifugação e o sobrenadante utilizado para monitorar a bioadsorção a 590nm. Os ensaios foram feitos em triplicata. O controle abiótico utilizado foi composto de meio e corante.

Observando o gráfico concluímos que o tempo de incubação interferiu significativamente na bioadsorção do corante pelo fungo. Nos sete primeiros dias a eficiência de descoloração foi entre 30% a 35%, no 14º de incubação a bioadsorção do corante pelo fungo *C. cubensis* se mostrou efetiva, atingindo 100% de descoloração.

Após a centrifugação do meio de cultura, foi possível observar que a biomassa do fungo *C. cubensis* adquiriu a coloração azul do corante (Figura 4). Da mesma forma ocorreu no trabalho de Diniz, (2015) onde foi estudado o emprego de fungos na descoloração de efluentes têxteis. Esse resultado indica que a descoloração ocorreu em função da adsorção do corante à biomassa fúngica.



Figura 4 - Tubos centrifugados a 6 mil rpm, por 20 minutos contendo o meio de cultivo, corante e fungo *C. cubensis* após 14 dias de incubação a 150 rpm e 30°C. A coloração do corante foi adquirida pela biomassa do fungo.

No trabalho de Diniz, (2015) a biomassa dos fungos adquiriu coloração amarela e os três fungos (FG1, FD19 e FD4) reduziram a coloração do meio contendo um corante amarelo reativo em 82,6%, 28,5% e 15%, respectivamente.

Entretanto, Balan e Monteiro (2001), estudando a descoloração do corante têxtil índigo Carmin por fungos ligninolíticos isolados de efluentes têxteis, observaram uma descoloração visível do meio nas primeiras 24 horas.

Os resultados mostraram que certa quantidade do corante foi removida devido à bio sorção ao micélio que adquiriu coloração azul.

5.2 Teste de fitotoxicidade da solução de corante tratada com bioadsorção

O sobrenadante livre de células do ensaio de bioadsorção obtido no 7º e 14º dia foi utilizado para teste de fitotoxicidade. Os resultados obtidos estão apresentados na figura 5.

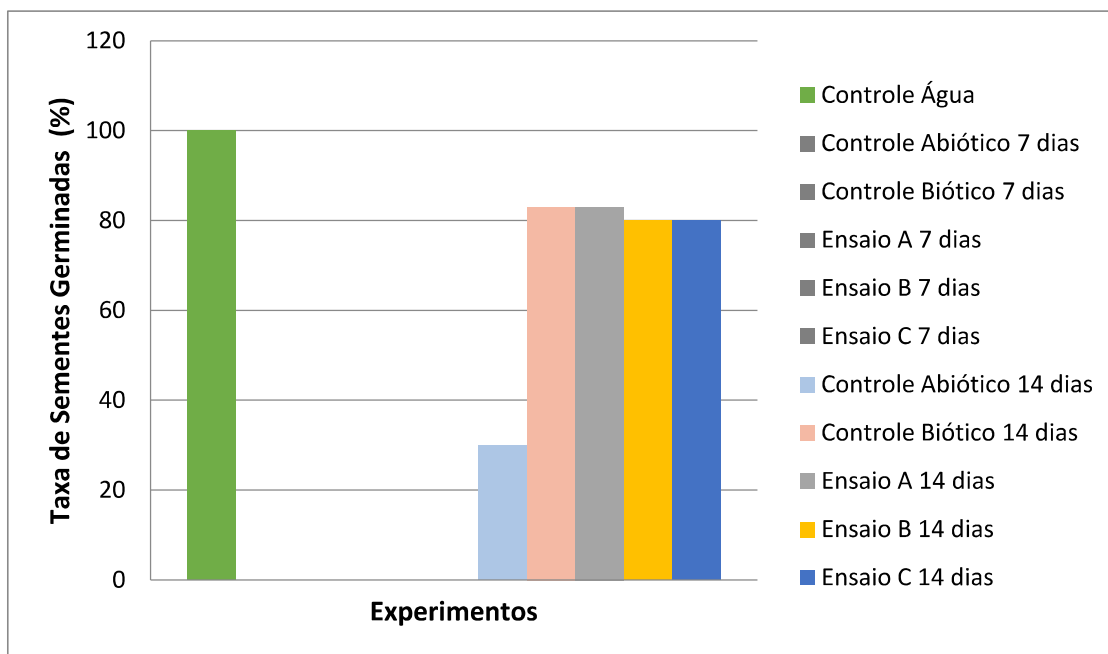


Figura 5 - Teste de fitotoxicidade do ensaio de bioadsorção, representado a taxa de sementes germinadas (%) por amostra analisada. Todos os poços haviam 10 sementes de *Lactuca sativa*, em algodão hidrófilo e 1 mL de solução salina acrescido de 1 mL do sobrenadante livre de células. O controle água foi composto somente por água, os controles abióticos continham o meio de cultivo e corante, no controle biótico não havia presença de corante, apenas meio e inóculo. As sementes foram incubadas por 96 horas, a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

De acordo com a Figura 5, em 7 dias de cultivo nenhuma semente germinou nas amostras obtidas do ensaio de bioadsorção. Provavelmente devido a pequena degradação do corante (Figura 3). No controle biótico, também não foi observado germinação das sementes. Por outro lado, foi observado crescimento fúngico sobre as sementes o que impediu a germinação destas.

Entretanto, as amostras retiradas em 14 dias apresentaram 30% de germinação (controle abiótico), 83% (controle biótico e amostra A) e 80% (amostras B e C), figura 3.

Oliveira, (2013) avaliou a fitotoxicidade de efluente têxteis, tratados com processos oxidativos, utilizando sementes de *Lactuca sativa* (alface). A melhor taxa de germinação (90,7%) foi obtida utilizando a diluição de 25%. Quando a diluição de 50% foi utilizada a taxa de germinação foi de 84,93%.

Comparando a diluição de 50% utilizando o tratamento com processos oxidativos com os resultados obtidos pelo tratamento com o fungo *C. cubensis* (onde a diluição também foi de 50% e a melhor taxa de germinação foi de 83%), é possível perceber a proximidade da taxa de germinação obtida nos dois trabalhos. O que permite concluir que o tratamento com fungo *C. cubensis* é promissor.

5.3 Ensaio de adsorção e planejamento fatorial 2²

A figura 6 mostra a eficiência de adsorção, calculada utilizando a equação 1 a partir dos dados da densidade ótica medida a 590 em 24, 48 e 72 horas utilizando os sobrenadantes das amostras de 1 a 7. De acordo com a figura 6, os ensaios 1 (biomassa 15mg/mL e corante 5mg/L), 2 (biomassa 75mg/mL e corante 5mg/L) e 3 (biomassa 15mg/mL e corante 20mg/L) apresentaram a menor eficiência de descoloração em 24, 48 e 72 horas. A maior eficiência de adsorção em 48 e 72 horas foi obtida nos ensaios 4 (biomassa 75mg/mL e corante 20mg/L), 5, 6 e 7 (biomassa 45mg/mL e corante 12,5mg/L).

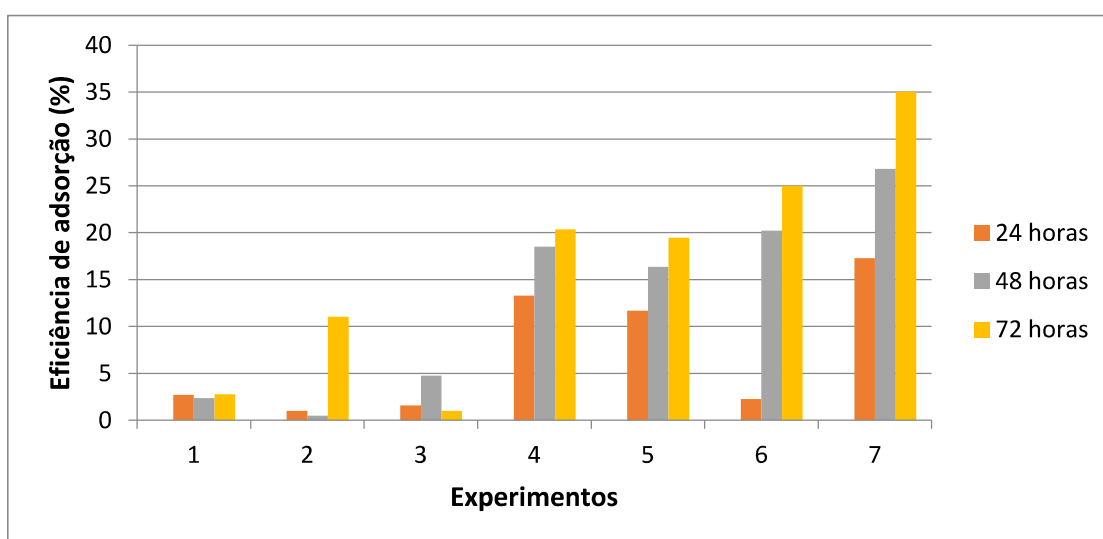


Figura 6 – Eficiência de descoloração do ensaio de adsorção realizada após incubação de 24, 48 e 72 horas. Diferentes concentrações de biomassa e corante foram incubadas (conforme a Tabela 7) a 30°C e 150 RPM, durante 72 horas.

Amostras foram retiradas a cada 24 horas e centrifugadas a 6000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante, livre de biomassa, foi utilizado para análise de descoloração.

A maior eficiência de adsorção foi obtida em 72 horas para a maioria dos ensaios, exceto o ensaio 3 (Figura 6). Portanto, os resultados obtidos em 72 horas foram utilizados para planejamento estatístico, tabela 8.

Tabela 8 – Planejamento Fatorial 2^2 para a otimização da eficiência de adsorção do corante azul de tripan pelo fungo *C. cubensis*. Avaliando a concentração de biomassa seca (mg/mL) (variável A) e a concentração de corante (mg/L) (variável B). [resposta: % de eficiência de descoloração]

VARIÁVEL		NÍVEL (-)	NÍVEL (0)	NÍVEL (+)
A - CONCENTRAÇÃO BIOMASSA SECA (mg/mL)		15	45	75
B - CONCENTRAÇÃO CORANTE (mg/L)		5	12,5	20

EXPERIMENTO	VARIÁVEIS			RESPOSTA (Eficiência de Descoloração %)		
	A	B	AxB	R1	R2	R
1	-	-	+	2,77	22,65	12,71
2	+	-	-	11,05	10,98	11,01
3	-	+	-	1	1,02	1,01
4	+	+	+	20,37	20,3	20,33
5	0	0	0	19,46	19,38	19,42
6	0	0	0	25	24,96	24,98
7	0	0	0	35,03	35	35,01

Efeitos Principais:

$$A - \text{Concentração de biomassa seca (mg/mL)} = \frac{(-12,71+11,015-1,01+20,335)}{2} = +8,81$$

$$B - \text{Concentração de azul de tripan (mg/L)} = \frac{(-12,71-11,015+1,01+20,335)}{2} = -1,19$$

Efeitos de Segunda Ordem:

$$AxB = \frac{(+12,71-11,015-1,01+19,42)}{2} = +10,51$$

De acordo com as informações contidas na tabela 9, a única diferença entre os ensaios 1 e 2 está representada pela modificação da concentração de A (Biomassa seca). Desta forma, a diferença observada na resposta ($11,015 - 12,71 = -1,7$) indicou que a adsorção diminui 1,7% quando a concentração de A muda do nível inferior (-) para o superior (+), mantendo-se fixo, no nível inferior, a concentração do corante Azul de Tripan (B).

Uma análise similar permitiu calcular o efeito da concentração da biomassa quando a concentração do corante foi mantida fixa no nível superior (ensaios 3 e 4). Nesta análise, o efeito ($20,335 - 1,01 = +19,32$) indicou um aumento de 19,32% na adsorção, quando a concentração de biomassa seca foi alterada do nível inferior (-) para o superior (+). O efeito global apresentado pela variável A foi obtido por meio da média aritmética dos efeitos supracitados $[(+19,32 - 1,7)/2] = + 8,81$.

O efeito da concentração do corante, variável B, mantendo-se a concentração de biomassa fixa no nível inferior e alterando B do nível inferior (-) para o nível superior (+) foi $(- 12,71 + 1,01 = -11,7)$ indicando que a adsorção diminui 11,7%. Ainda variando B do nível inferior (-) para o superior (+), porém fixando a concentração da biomassa no nível superior (+) (ensaios 2 e 4) o efeito da concentração de corante (B) foi $(-11,01 + 20,33 = + 9,32)$, indicando que a adsorção aumentou 9,32% .

Nesta análise, o efeito global apresentado pela variável B foi obtido por meio da média aritmética dos efeitos supracitados $[(-11,7 + 9,32)/2] = - 1,19$. Estes resultados permitem concluir que ambas variáveis influenciam a resposta monitorada, porém, a variável A, apresentou maior influência comparada a variável B.

Para maximizar a resposta, as condições escolhidas corresponderiam aos níveis superiores de ambas variáveis (experimento 4), onde pode ser verificado que foi dada a melhor resposta.

A interpretação destes resultados pode ser facilitada com o auxílio da figura 7, na qual estão representadas graficamente as respostas obtidas para os experimentos realizados como função das variáveis estudadas. Este tipo de representação (representação geométrica) é frequentemente utilizado e tem como objetivo fornecer uma visão global de como as variáveis otimizadas atuam sobre a resposta do sistema em estudo.

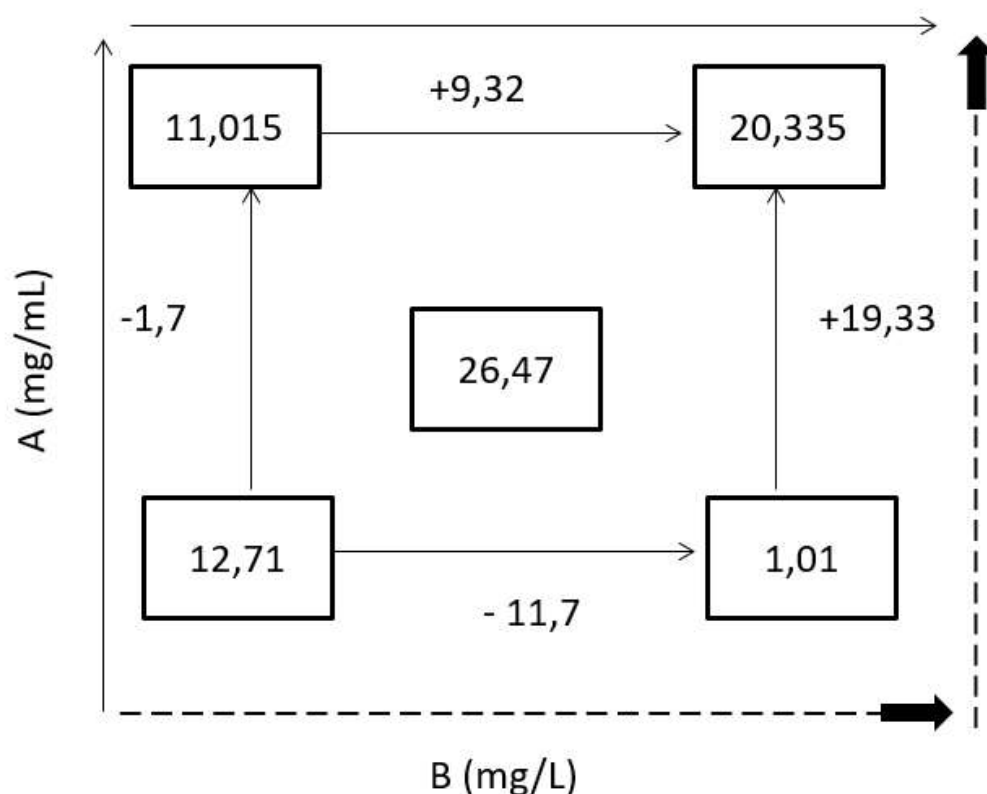


Figura 7- Representação geométrica do planejamento fatorial 2^2 do sistema A (concentração de biomassa) x B (concentração de corante) na adsorção do corante Azul de Tripan pelo fungo *C.cubensis*. [resposta: % da eficiência de descoloração].

Na representação geométrica (Figura 7), pode ser observado que o efeito da concentração de biomassa seca, A, não é o mesmo para os níveis inferiores (-) e superiores (+) de B. Esta diferença também é percebida quando se avalia o efeito de B, e somente pode ser explicada em termos de interação entre variáveis. O valor numérico associado a esta interação (efeito de segunda ordem), foi calculado e encontra-se disponível na tabela 8.

Pela análise dos valores dos efeitos (principal e de interação) destes efeitos, pode-se concluir basicamente que as informações obtidas pelo cálculo dos efeitos principais indicam que a concentração de biomassa seca tem um efeito positivo (+8,81) e que a concentração de corante Azul de Tripan tem um efeito negativo (-1,19). Pelos cálculos dos efeitos secundários nota-se que os efeitos da concentração de biomassa seca e da concentração de corante não podem ser interpretados separadamente, devido ao valor de interação entre eles ser considerável (+10,51).

Os resultados desta análise evidenciaram que a melhor porcentagem de eficiência da adsorção do corante foi obtida no experimento em que o mesmo se encontra na condição de maior concentração e também em maior concentração de biomassa (experimento 4).

Portanto é possível dizer que a biomassa seca do fungo *C. cubensis* é capaz de adsorver o corante Azul de Tripan, quando utilizada em altas concentrações e em um intervalo de tempo de 72 horas de cultivo. O que indica a eficiência do processo.

Souza e Rosado, (2015) utilizaram consórcio de fungos basidiomicetes (*phanerochaete chrysosporium*, *pleurotus ostreatus*, *trametes versicolor*, *pleurotus sajor-caju*, *phellinus gilvus* e *picnoporus sanguineus*) para biodegradação de efluentes têxteis. Este consórcio foi eficiente para biodegradação e descoloração do efluentes têxteis.

Costa e Salgueiro, (2014) estudaram uma forma de diminuir o tempo de adsorção do Amarelo de Metila (corante azóico) e chegaram à conclusão de que o uso de consórcios microbianos contendo bactérias e fungos favoreceram a redução do tempo por ação das espécies utilizadas que atuaram em sinergismo. A ação desses consórcios em aerobiose degradou de forma eficiente o corante azoico dentro de 24 horas de cultivo.

5.4 Teste de fitotoxicidade do ensaio de adsorção

Para o teste de fitotoxicidade utilizou-se o tempo de incubação em que a eficiência de adsorção foi maior (72 horas), como mostra a figura 8. O ensaio que apresentou menor taxa de germinação das sementes foi o ensaio 3, e os ensaios 4, 5, 6 e 7 apresentaram as maiores taxas de germinação das sementes em 72 horas. Estes resultados foram utilizados para o tratamento estatístico do planejamento experimental 2², Tabela 9.

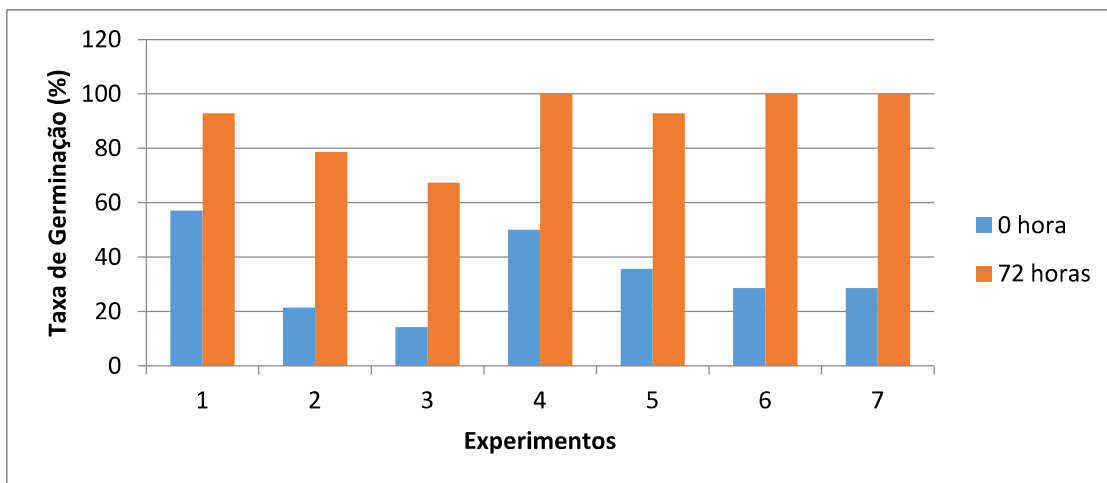


Figura 8 – Teste de fitotoxicidade do ensaio de adsorção comparando os tempos de 0 e 72 horas de cultivo na determinação da taxa de germinação (%) de cada amostra. As mesmas amostras (1 a 7) foram utilizadas para a realização do planejamento fatorial 2^2 do ensaio do teste de fitotoxicidade (Tabela 9 e Figura 9).

Tabela 9 - Planejamento Fatorial 2^2 para o ensaio de fitotoxicidade utilizando ensaios de 72 horas. Avaliando a concentração de biomassa seca (mg/mL) (variável A) e a concentração de corante (mg/L) (variável B) no crescimento de sementes de *Lactuca sativa*.

VARIÁVEL		NÍVEL (-)	NÍVEL (0)	NÍVEL (+)
A - CONCENTRAÇÃO BIOMASSA SECA (mg/mL)		15	45	75
B - CONCENTRAÇÃO CORANTE (mg/L)		5	12,5	20

EXPERIMENTO	VARIÁVEIS			RESPOSTA (Número de sementes Germinadas)		
	A	B	AxB	R1	R2	R
1	-	-	+	6	7	6,5
2	+	-	-	6	5	5,5
3	-	+	-	4	5	4,5
4	+	+	+	7	7	7
5	0	0	0	7	6	6,5
6	0	0	0	7	7	7
7	0	0	0	7	7	7

Efeitos Principais:

$$A - \text{Concentração de biomassa seca (mg/mL)} = \frac{(-6,5+5,5-4,5+7)}{2} = +0,75$$

$$B - \text{Concentração de azul de tripan (mg/L)} = \frac{(-6,5-5,5+4,5+7)}{2} = -0,25$$

Efeitos de Segunda Ordem:

$$A \times B = \frac{(+6,5-5,5-4,5+7)}{2} = +1,75$$

De acordo com as informações contidas na tabela 9, a única diferença entre os ensaios 1 e 2 está representada pela modificação da concentração de A (biomassa seca). Desta forma, a diferença observada na resposta (5,5 – 6,5 = - 1,0) indicou que o crescimento da semente de *Lactuca sativa* (alface) diminui 1% quando a concentração de A muda do nível inferior (-) para o superior (+), mantendo-se fixo, no nível inferior, a concentração do corante Azul de Tripan (B).

Uma análise similar permitiu calcular o efeito da concentração da biomassa quando a concentração do corante foi mantida fixa no nível superior (ensaios 3 e 4). Nesta análise, o efeito (7 - 4,5 = +2,5) indicou um aumento de 2,5% no crescimento da semente de *Lactuca sativa* (alface), quando a concentração de biomassa seca foi alterada do nível inferior (-) para o superior (+). O efeito global apresentado pela variável A foi obtido por meio da média aritmética dos efeitos supracitados [(-1,0 + 2,5) /2] = +0,75].

O efeito da concentração do corante, variável B, mantendo-se a concentração de biomassa fixa no nível inferior e alterando B do nível inferior (-) para o nível superior (+) foi (-6,5 +4,5 = -2,0) indicando que a adsorção diminui 2%. Ainda variando B do nível inferior (-) para o superior (+), porém fixando a concentração da biomassa no nível superior (+) (ensaios 2 e 4) o efeito da concentração de corante (B) foi (-5,5 + 7 = +1,5), indicando que a adsorção aumentou 1,5% .

Nesta análise, o efeito global apresentado pela variável B foi obtido por meio da média aritmética dos efeitos supracitados [(-2,0 + 1,5)/2] = - 0,25. Estes resultados permitem concluir que ambas variáveis influenciam a resposta monitorada, porém, a variável A, apresentou maior influência comparada a variável B.

A interpretação destes resultados pode ser facilitada com o auxílio da figura 9, na qual estão representadas graficamente as respostas obtidas para os experimentos realizados como função das variáveis estudadas.

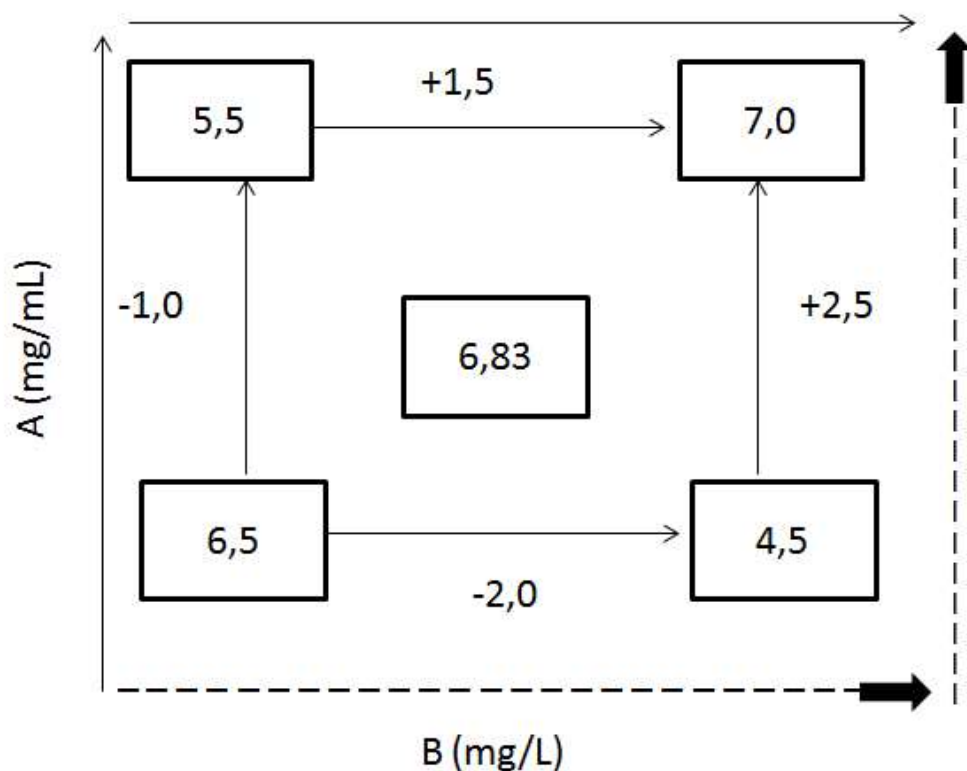


Figura 9- Representação geométrica do planejamento fatorial 2^2 do sistema A x B no teste de fitotoxicidade do ensaio de adsorção. [resposta: média de sementes de *Lactuca sativa* (alface) germinadas].

Na representação geométrica (Figura 9), pode ser observado que o efeito da concentração de biomassa seca, A, não é o mesmo para os níveis inferiores (-) e superiores (+) de B. O valor numérico associado a esta interação (efeito de segunda ordem), foi calculado e encontra-se disponível na tabela 9.

Pela análise dos valores dos efeitos (principal e de interação) e considerando o desvio padrão destes efeitos, pode-se concluir basicamente que as informações obtidas pelo cálculo dos efeitos principais indicam que a concentração de biomassa seca tem um efeito positivo (+0,75) e que a concentração de corante azul de tripan também tem um efeito negativo (-0,25). Pelos cálculos dos efeitos secundários nota-se que os efeitos da concentração de biomassa seca e da concentração de corante não podem ser interpretados

separadamente, devido ao valor de interação entre eles ser considerável (+1,75).

Os resultados desta análise evidenciaram que a melhor taxa de germinação de sementes é obtida no experimento em que o corante se encontre na condição de maior concentração, assim como a concentração de biomassa (experimento 4).

Seguido do experimento 4, os experimentos 6 e 7 também atingiram 100% de germinação, descartando a possibilidade de toxicidade do meio. Esses experimentos são denominados pontos centrais do planejamento fatorial, onde a concentração de A (45mg/mL) e B(12,5mg/L) se encontram em nível intermediário.

Comparando os resultados da figura 6 com a figura 8, foi possível verificar que as amostras com a maior porcentagem de descoloração, foram as que tiveram a melhor taxa de germinação de sementes, no teste de fitotoxicidade. O que indica que a fitotoxicidade está associada com a concentração de corante presente no meio.

Araújo, *et al.*, (2013) avaliaram a capacidade de descoloração do corante Índigo Carmin por *Aspergillus terreus* e *Aspergillus sclerotiorum* em meio líquido. O corante foi bioadsorvido pelos fungos. Entretanto as sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), tratadas com a solução de corantes bioadsorvidos, não germinaram. Indicando que esta solução apresenta fitotoxicidade.

6. CONCLUSÃO

O tratamento com o fungo *C. cubensis* mostrou a capacidade do mesmo de bioadsorver o corante têxtil Azul de Tripan presente no meio na concentração de 50mg/L, adquirindo 100% eficiência de descoloração no 14º de incubação. Após a centrifugação do meio de cultura, a biomassa do fungo *C. cubensis* adquiriu a cor azul do corante indicando que a descoloração ocorreu em função da bioadsorção do corante.

As amostras do ensaio de bioadsorção obtidas no 14º dia e utilizadas na diluição de 50 % não foram fitotóxicas. A taxa de germinação foi de 83%.

Para os ensaios de adsorção, a melhor condição foi experimento 4 (75mg/mL de biomassa e 20mg/L de Azul de Tripan). Indicando que a maior concentração de biomassa aumenta a adsorção do corante em 72 horas.

Com o teste de fitotoxicidade do ensaio de adsorção, foi possível verificar que, as amostras que tiveram maior redução na coloração foram as que apresentaram menor fitotoxicidade. O melhor tempo foi o de 72 horas de cultivo. Os experimentos 4, 6 e 7 do planejamento fatorial 2² atingiram 100% de germinação da semente de *Lactuca sativa* (alface).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo, *et al.* **Remoção de cor em soluções de corantes reativos por oxidação com H₂O₂/UV.** Departamento de Processos Inorgânicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Dezembro, 2006.

Araújo, G.R. *et al.* **Descoloração Do Corante Têxtil Índigo Carmin Por Espécies De *Aspergillus*.** Resumos Expandidos do I CONICBIO / II CONABIO / VI SIMCBIO (v.2) Universidade Católica de Pernambuco - Recife - PE - Brasil - 11 a 14 de novembro de 2013.

Balan, D.S.L.; Monteiro, R.T.R. 2001. **Decolorization of textile indigo dye by ligninolytic fungi.** *Journal of Biotechnology*, Amsterdam. 89: 141-145.

Beltrame, L.T.C. **Sistemas Microemulsionados Aplicados à Remoção da cor de Efluentes Têxteis.** Natal, Rio Grande do Norte, Outubro 2006.

Campos, A.C. **A Indústria Têxtil Brasileira em um Contexto de Transformações Mundiais.** *Revista Econômica do Nordeste*, Fortaleza, v. 37, nº 4, out-dez, 2006.

Costa, A.F.S e Salgueiro, A.A. **Obtenção De Consórcio Microbiano A Partir De Amostra De Efluentes Texteis.** Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais, Centro de Tecnologia e Meio Ambiente, Universidade Católica de Pernambuco, 2014.

Cunico M. W. M, *et al.* **Planejamento Fatorial: Uma Ferramenta Estatística Valiosa Para A Definição De Parâmetros Experimentais Empregados Na Pesquisa Científica.** *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.9, n.1, Jan. – Jun, 2008.

De Souza, *et al.* **Immobilization of iron (II) in alginate matrix and its use in textile dye degradation by Fenton processes.** Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.

Diniz, G.F.D. **Emprego de fungos na descoloração e redução da toxicidade de corantes têxteis.** Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João Del Rei. Sete Lagoas, 2015

Dutra, T. R. **Influência das fontes de carbono na indução de celulasas e hemicelulasas em *chrysosporthe cubensis* cultivado em meio líquido.** Dissertação de Pós Graduação na Universidade Federal de Viçosa, MG, 2013.

Freire, *et al.* **Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas.** Departamento de Química - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2000.

Freitas, K.R. **Caracterização E Reuso De Efluentes Do Processo De Beneficiamento Da Indústria Têxtil.** Dissertação submetida à Universidade Federal de Santa Catarina, Fevereiro 2002.

Gomes, K.S. **Purificação e caracterização de xilanases do Fungo *Chrysosporthe cubensis* e utilização na hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar.** Viçosa, Minas Gerais, 2014.

Guaratini e Zanoni. **Corantes têxteis.** Departamento de Química Analítica - Instituto de Química - UNESP, Araraquara - SP 2000.

Hassemer, M.E.N. **Tratamento do efluente de uma indústria têxtil. Processo físico-químico com ozônio e coagulação/floculação.** Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

Higa, M.C. **Aplicação de ensaios de toxicidade na avaliação da eficiência da radiação ionizante e da adsorção em zeólitas para o tratamento de efluentes coloridos.** Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Aplicações. São Paulo, 2008.

Immich, A.P.S. **Remoção de corantes de efluentes têxteis utilizando folhas de azadirachta indica como adsorvente.** Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Programa de pós-graduação em engenharia química, Florianópolis, Agosto, 2006.

Kunz, *et al.* **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis.** Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2001. Oliveira, D.P. **Corantes Como Importatante Classe de Contaminantes**

ambientais – um estudo de caso. Programa de Pós Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas. São Paulo, 2005.

Oliveira, G.S. **Avaliação Da Toxicidade De Efluente Têxtil Após Tratamento Por Processos Oxidativos Avançados.** Trabalho de Conclusão de Curso de Tecnologia em Processos Ambientais do Campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2011

Otoni, C. **Descoloração de corantes têxteis por fungos ligninolíticos em condições de pH e salinidade elevada.** Universidade do Minho, Escola de Engenharia. Junho, 2012.

Palácio, M.S, *et al.* **Estudo da toxicidade de efluente têxtil tratado por fotofenton artificial utilizando as espécies lactuca sativa e artemia salina.** ENGEVISTA, V. 14, n. 2. p. 127-134, agosto 2013.

Peruzzo, L.C. **Influência de agentes auxiliares na adsorção de corantes de efluentes da indústria têxtil em colunas de leito fixo.** Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

Royer, **Remoção de corantes têxteis utilizando cascas de sementes de Araucária como biossorvente.** Dissertação de Mestrado. Porto Alegre, janeiro, 2008.

Salgado, B.C.B *et al.* **Descoloração de efluentes aquosos sintéticos e têxtil contendo corantes índigo e azo via processos Fenton e foto-assistidos (UV e UV/H₂O₂).** Eng Sanit Ambient | v.14 n.1 | jan/mar 2009.

Santos, Simone. **Impacto ambiental causado pela indústria Têxtil.** UFSC - Engenharia de Produção e Sistemas - PPGEPP - Centro Tecnológico - Trindade - Florianópolis Santa Catarina, 2010.

Silva, S.C. **Tratamento químico e biológico de efluentes da indústria têxtil como forma de redução do impacto ambiental aos recursos hídricos. Estudo de caso: mar indústria têxtil e tinturaria Ltda.** Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, 2011.

Sottoriva, P.R.S. **Degradação de corantes reativos utilizando-se processos oxidativos avançados.** Programa De Pós-Graduação Em Química, Setor De Ciências Exatas, Universidade Federal Do Paraná, 2002.

Souza, A.F. **Utilização de fungos basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis.** Especialização em Bioquímica Aplicada da Universidade Estadual de Londrina, 2009.

Souza, A.F. e Rosado, F.R. **Bioadsorção de efluentes têxteis.** Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, v.2, n.1, p. 121-139, jan./abr. 2015.

Subba e Venkatarangaiah, **Electrochemical treatment of trypan blue synthetic wastewater and its degradation pathway.** School of Chemical Sciences, Kuvempu University, Outubro 2013.

Tiburtius, *et al.* **Contaminação de águas por btxs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados.** Centro Federal de Educação Tecnológica, Ponta Grossa – PR. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 3, 441-446, 2004.

Visser, *et al.* **Production and application of an enzyme blend from *Chrysoporthe cubensis* and *Penicillium pinophilum* with potential for hydrolysis of sugarcane bagasse.** Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, Viçosa, MG, 2013.