



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA E GESTÃO AMBIENTAL

ALANA MAYARA XIMENES DE SOUZA

TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ÁGUA RESIDUÁRIA TÊXTIL *IN NATURA* POR
***ASPERGILLUS NIGER* AN 400 UTILIZANDO REATORES EM BATELADAS**
DISPOSTOS EM SÉRIE

FORTALEZA

2017

ALANA MAYARA XIMENES DE SOUZA

**TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ÁGUA RESIDUÁRIA TÊXTIL *IN NATURA*
POR *ASPERGILLUS NIGER* AN 400 UTILIZANDO REATORES EM
BATELADAS DISPOSTOS EM SÉRIE**

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e
Gestão Ambiental do Instituto Federal do
Ceará como requisito para obtenção do título
de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental.

Orientador: Profa. Dra. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa

Coorientador: Profa. Dra. Glória Maria Marinho Silva

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI
Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S729t Souza, Alana.
Tratamento biológico de água residuária têxtil in natura por *Aspergillus niger* AN 400 utilizando reatores em batelada dispostos em série / Alana Souza. - 2017.
95 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental, Campus Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa.
Coorientação: Prof. Dr. Glória Maria Marinho Silva.
1. Índigo. 2. Biorremediação fúngica. 3. Sacarose. 4. Glicose. 5. Toxicidade. I. Título.
- CDD 628
-

ALANA MAYARA XIMENES DE SOUZA

**TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ÁGUA RESIDUÁRIA TÊXTIL IN NATURA POR
ASPERGILLUS NIGER AN 400 UTILIZANDO REATORES EM BATELADAS
• DISPOSTOS EM SÉRIE**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental.

Aprovada em ____/____/____

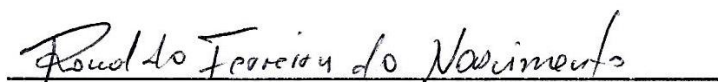
BANCA EXAMINADORA



Presidente Profa. Dra. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa - IFCE Campus Fortaleza



Membro Profa. Dra. Glória Maria Marinho Silva - IFCE Campus Fortaleza



Membro Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento - Universidade Federal do Ceará - UFC

*A tudo que tenho: Deus, minha
família e amigos.*

*“Enquanto a terra durar, sementeira
e sega, e frio e calor, e verão e
inverno, e dia e noite, não cessarão.”*

Gênesis 8:22

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor e Salvador Jesus Cristo, que me dá a certeza do meu viver.

Aos meus pais, Noélia e Mansueto, que me dão o amor, o carinho e apoio para que eu possa escolher, apesar da distância.

A todos os meus familiares, que contribuíram para essa conquista, em especial as minhas tias, ao meu avô e ao meu primo, que são o conforto do meu lar.

A Professora Kelly, pela oportunidade de aprender, de melhorar e de admirá-la. Não tenho como quantificar a importância do tempo que tive no LATAM para a minha vida. Obrigada por todas as conversas, que me orientaram além dos meus trabalhos. Conte comigo.

A Professora Glória, que enriquece o LATAM. Obrigada pelo conhecimento, pelo apoio e pelos sorrisos.

Ao Professor Rinaldo Araújo, pela contribuição para a execução do trabalho e por tantas vezes ceder as dependências do Laboratório de Tecnologia Química.

Ao Professor Ronaldo Ferreira do Nascimento por aceitar o convite de contribuir grandemente para este trabalho, nas bancas de qualificação e defesa.

Aos amigos da graduação, do mestrado e da vida, Andreza, Sandra e Ítalo, pelos sorrisos e palavras trocados em tantos momentos.

A todos os colegas do LATAM, em especial os que fizeram parte da pesquisa dando um suporte indispensável: Igor, Cleber, Gabriel, Gustavo, Gabriele, Modiane e Thalita.

Aos professores, colegas e a Clédina, que fazem parte do PGTGA e participaram dessa conquista.

Ao IFCE, que tem sido minha segunda casa há mais de 6 anos.

Ao CNPq e a CAPES, pelo suporte financeiro concedido desde a iniciação científica.

RESUMO

A indústria têxtil se caracteriza como uma fonte de poluição ambiental, devido aos compostos químicos presentes em seus efluentes, em especial os corantes, que podem ser responsáveis pela deterioração dos corpos hídricos, dos solos e até mesmo da saúde humana. Tratamentos que utilizam fungos tem demonstrado grande potencial para remoção de corantes de águas residuais, em decorrência do seu baixo custo operacional e boa eficiência. Neste trabalho foi estudada a viabilidade de aplicação do fungo *Aspergillus niger* AN 400 para a remoção de corante índigo presente em efluente têxtil *in natura* em reatores com biomassa imobilizada operado em regime de bateladas sequenciais dispostos em série. A pesquisa foi dividida em três fases operacionais: primeiro os reatores foram operados utilizando sacarose (1 g/L em R1 e 0,5 g/L em R2) como fonte de carbono; na segunda fase glicose foi utilizada nas mesmas concentrações e a terceira fase, sacarose foi novamente utilizada (1 g/L em R1 e sem adição em R2). A água residuária permanecia 48 h em R1 e depois mais 48 h em R2. Foram realizados 10 ciclos operacionais em cada reator, compreendidos em 56 dias para cada fase. Os reatores foram monitorados através das variáveis: concentração de corante, pH, varreduras, demanda química de oxigênio, amônia, nitrito e nitrato. Foram realizados ensaios de toxicidade, saturação e quantificação das Unidades Formadoras de Colônias/mL, ao fim de cada fase. Foram registradas remoções médias de 92%, 80% e 71% para o corante, correspondentes às Fases I, II e III. Na mesma ordem houve remoção percentual de demanda química de oxigênio da fração dissolvida em 61%, 43% e 66%. Quanto às formas de nitrogênio avaliadas no meio foram registradas remoções percentuais de amônia em 9,1%, 31% e 8% durante as Fases I, II e III, respectivamente. Na mesma ordem, houve remoção de nitrato de 61%, 83% e 87%. A Fase I apresentou média de pH efluente de 5,3; já na Fase II, a média foi de 6,6, enquanto na Fase III essa média foi de 6,3. Enquanto nas Fases II e III foi obtido pH na faixa do padrão de lançamento, na maioria dos ciclos da Fase I não se enquadraram nesse aspecto. Todavia, os valores ficaram próximos da faixa recomendada, sendo necessário um pequeno ajuste. Além disso, quando a sacarose foi a fonte de carbono, a diminuição da demanda química de oxigênio e de corante foi superior. As varreduras do espectro de absorção (UV-Vis) das amostras dos reatores indicaram que houve a quebra do grupo cromóforo do corante nas três fases e que, principalmente, na Fase II, houve a formação de subprodutos da degradação da molécula do corante, na faixa entre 200 e 300 nm, justificando os baixos percentuais de remoção de demanda química de oxigênio obtidos e a possível inibição metabólica do reator R2. A aplicação da técnica *spread-plate* demonstrou que as condições de operação das Fases I e III favoreceram a predominância da comunidade fúngica, em relação à bacteriana, ressaltando o fato de que os reatores não eram operados em condições estéreis. Nas três fases houve uma diminuição na toxicidade da água residual, após a passagem pelo sistema de reatores, nesse aspecto, novamente, as Fase I e III se sobressaíram a Fase II.

Palavras-chave: Índigo. Biorremediação fúngica. Sacarose. Glicose. Toxicidade.

ABSTRACT

The textile industry is marked as a source of environmental pollution due to the chemical compounds present in their wastewaters, specially dyes, which can be responsible for the deterioration of water bodies, soil and even human health. Treatments using fungi has shown great potential for removal of dyes from wastewater, due to its low operating costs and good efficiency. In this work the fungus application viability *Aspergillus niger* AN 400 for the Indigo dye removal present in textile *in natura* effluent reactors with immobilized biomass operated in sequential batch system arranged in series. The research was split into two operational phases: first, the reactor was operated using sucrose as the carbon source (1g/L in R1 and 0,5g/L in R2); in the second phase glucose was used in the same concentration and in the third one, sucrose was used again (1g/L in R1 and no addition in R2). The wastewater remained at 48 h at R1 and then at 48 h at R2. Ten operational cycles were performed in each reactor, included in 56 days for each phase. The reactors were monitored through the following variables: dye concentration, pH, scans, chemical oxygen demand, ammonia, nitrite and nitrate. Toxicity assays, adsorption and quantification of the Colony Forming Units/mL were performed at the end of each stage mean removals of 92%, 80% and 71% for the dye corresponding to Phases I, II and III were recorded. In the same order, there was a percentage removal of chemical oxygen demand from the fraction dissolved in 61%, 43% and 66%. As for the nitrogen forms evaluated in the medium, ammonia percentages were recorded in 9.1%, 31% and 8% during Phases I, II and III, respectively. In the same order, there was nitrate removal of 61%, 83% and 87%. Phase I presented a pH mean effluent of 5.3; already in Phase II, the average was 6.6, while in Phase III that average was 6.3. While the Phases II and III obtained in the pH range standard release, most Phase I cycles did not fit on this respect. However, pH values were close to the recommended range and a small adjustment was necessary. In addition, when sucrose was the carbon source the decrease in chemical oxygen demand and dye removal was higher. The spectral absorption scans (UV-Vis) of the reactor samples indicated that the chromophore group of the dye had been broken in the three phases and that, mainly in Phase II, there was the formation of by-products of the degradation of the dye molecule, in the range between 200 and 300 nm, justifying the low percentages of removal of chemical oxygen demand obtained and the possible metabolic inhibition of the R2 reactor. The implementation of *spread-plate* technique has been shown that the operating conditions of Phases I and III favored the predominance of fungal community in relation to the bacterial one, pointing out the fact that the reactors was not operated under sterile conditions. In the three phases there was a decrease in the toxicity of the residual water, after passing through the reactor system, in this aspect, again, Phases I and III surpassed Phase II.

Key-words: Indigo. Fungal Bioremediation. Sucrose. Glucose. Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado da geração de efluentes na indústria têxtil. -----	5
Figura 2. Estrutura molecular do corante índigo.-----	12
Figura 3. Esquema dos procedimentos realizados neste trabalho para a avaliação do tratamento do efluente têxtil pelos reatores.-----	22
Figura 4. Fungos imobilizados no material suporte no interior dos reatores. -----	26
Figura 5. Reatores em bateladas sequenciais, dispostos em série, contendo biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> AN 400, sendo (a) reator R1 e (b) reator R2.-----	27
Figura 6. Concentração de corante Índigo na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase I. -----	33
Figura 7. Varreduras das amostras do afluente e efluente dos reatores em bateladas sequenciais R1 e R2, com biomassa imobilizada de <i>A. niger</i> , no 10º ciclo da Fase I. --	34
Figura 8. Concentração de corante no afluente e efluente dos reatores em bateladas sequenciais R1 e R2, com biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> , na Fase II de operação – com glicose como cossustrato.-----	36
Figura 9. Varredura das amostras do afluente e efluente dos reatores R1 e R2 no ciclo 7 da Fase II – com glicose como cossustrato. -----	38
Figura 10. Concentração de corante índigo na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase III. -----	39
Figura 11. Varredura das amostras dos reatores no 4º ciclo da terceira fase. -----	41
Figura 12. Varredura das amostras dos reatores no 9º ciclo da Fase III. -----	42
Figura 13. Amostras do oitavo ciclo de operação dos reatores em bateladas sequenciais (RBS) em série, na Fase II. -----	43
Figura 14. Valores de pH detectados nos reatores em série operados na Fase I. -----	46
Figura 15. Valores de pH detectados na Fase II -----	46
Figura 16. Valores de pH detectados na terceira Fase operacional. -----	47
Figura 17. Concentração de DQO (mg O ₂ /L) nas amostras dos reatores na Fase I. -----	48

Figura 18. Concentração de DQO (mg O ₂ /L) no afluente e efluente dos reatores na Fase II. -----	50
Figura 19. Concentração de DQO (mg O ₂ /L) no afluente e efluente dos reatores em bateladas sequenciais R1 e R2, com biomassa imobilizada de <i>Aspergillus niger</i> , na Fase III. -----	51
Figura 20. Concentração de nitrato na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase I. -----	53
Figura 21. Concentração de nitrato na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase II. -----	54
Figura 22. Teores de nitrato detectados nas amostras dos reatores em série na terceira fase de operação. -----	55
Figura 23. Concentração do íon nitrito na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase I. -----	56
Figura 24. Concentração do íon nitrito na água residuária e na entrada e saída dos reatores RBS em série, R1 e R2, ao longo da Fase II. -----	57
Figura 25. Concentração de nitrito nas amostras dos reatores na Fase III. -----	58
Figura 26. Concentração de amônia na Fase I na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2. -----	59
Figura 27. Concentração de Amônia (Fase II). -----	60
Figura 28. Concentração de amônia nas amostras dos 10 ciclos operacionais da Fase III. -----	61
Figura 29. Varredura das amostras do 6º ciclo do afluente e efluente dos reatores R1 e R2 da Fase I. -----	63
Figura 30. Varredura das amostras do oitavo ciclo operacional da Fase II. -----	65
Figura 31. Varredura das amostras obtidas no 10º ciclo da Fase III. -----	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos corantes sintéticos de acordo com seu grupo cromóforo...	10
Tabela 2. Classificação dos corantes têxteis pelo modo como são aplicados à fibra.	11
Tabela 3. Alguns exemplos de tratamentos físicos e químicos e seus modos de aplicações em águas residuárias têxteis.....	14
Tabela 4. Composição do meio CYA, utilizado para produção de esporos.	23
Tabela 5. Composição do Concentrado CZAPEK	24
Tabela 6. Composição do meio basal nutriente de imobilização da biomassa.....	25
Tabela 7. Composição da solução de micronutrientes (Vishiniac).	25
Tabela 8. Composição do meio Martin utilizado para contagem de UFCs fúngicas.	30
Tabela 9. Resultados das análises da água residuária têxtil <i>in natura</i>	32
Tabela 10. Balanço de massa de corante índigo no sistema de reatores R1 e R2.	44
Tabela 11. Inibição do crescimento das raízes no teste de Toxidade realizado na Fase I (dados do 6º ciclo).	62
Tabela 12. Inibição do crescimento das raízes no teste de Toxidade realizado na Fase II (dados do 8º ciclo).	64
Tabela 13. Inibição do crescimento das raízes no teste de Toxidade realizado na Fase III (dados do 10º ciclo).	66
Tabela 14. Contagem das Unidades Formadoras de Colônias por mL nas Fases realizadas.	68

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo Geral	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. REFERENCIAL TEÓRICO	4
3.1. Indústrias têxteis e seu potencial poluidor	4
3.2. Corantes.....	6
3.2.1. <i>Classificação dos corantes</i>	<i>9</i>
3.2.2. <i>Índigo e sua complexidade</i>	<i>11</i>
3.3. Tratamentos empregados na remoção de corantes têxteis	13
3.3.1. <i>Biorremediação de corantes têxteis</i>	<i>15</i>
3.3.2. <i>O uso de fungos para o tratamento de águas residuais</i>	<i>17</i>
3.3.2.2. <i>Condições operacionais para tratamento biológico</i>	<i>18</i>
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1. Caracterização do efluente	23
4.2. Cultivo do micro-organismo	23
4.3. Imobilização do micro-organismo.....	24
4.4. Operação dos reatores em bateladas sequenciais (RBS) em série	26
4.5. Monitoramento dos reatores	27
4.5.1. <i>Quantificação da biomassa aderida ao material suporte (Sólidos Suspensos Voláteis - SSV).....</i>	<i>28</i>
4.5.2. <i>Quantificação do corante adsorvido no biofilme</i>	<i>28</i>
4.5.3. <i>Ensaio de saturação do corante no material suporte</i>	<i>29</i>
4.5.4. <i>Teste de toxicidade</i>	<i>29</i>

4.5.5. <i>Contagem de colônias por mL de água residuária</i>	30
4.6. Estatística descritiva dos dados e análise de variância	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6. CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS	72

1. INTRODUÇÃO

Um dos setores industriais que mais ascendem ao correr dos anos é o têxtil, cuja geração de efluentes é proporcional ao seu crescimento, e, dessa forma, é imprescindível objetivar menor consumo de água, bem como produção de efluentes com menor potencial de poluição (IMRAN, *et al.*, 2015).

Dentre os compostos alvos de remoção dos tratamentos dos efluentes têxteis estão os corantes, os quais, por não fixarem em sua totalidade à fibra dos tecidos, estão presentes em teores elevados nas águas residuais (ANASTASI, *et al.*, 2012). Além da deterioração estética dos ambientes naturais, essas substâncias são biologicamente persistentes e, comprovadamente, causam efeitos deletérios à saúde humana. Para tanto, processos físicos, químicos, biológicos e, geralmente, a combinação dos mesmos são aplicados para tratá-los com o objetivo de atender limites regulamentares de despejo (MANU e CHAUDHARI, 2003).

Muitos tratamentos físicos e químicos são efetivos, entretanto, devido ao alto custo e aos problemas com a disposição dos resíduos, a maioria desses métodos não tem vasta aplicação nas indústrias têxteis, assim alcançar uma alternativa econômica e segura é um desígnio importante (ADESOLA, ADEWALE e PATRICIA, 2014). Nessa conjuntura, desenvolvendo-se diante de um número crescente de pesquisas, está o biotratamento destes efluentes, por meio de uma variedade de organismos, incluindo plantas, bactérias e fungos (IMRAN, *et al.*, 2015).

Dentre esses organismos, os fungos têm sido empregados como ótima opção para tratamento de diferentes efluentes industriais, como os têxteis, pois eles podem regular o fluxo de nutrientes e energia em quase todos os ecossistemas (SINGH, 2006). Desse modo, vários estudos são conduzidos para obtenção de tratamento adequado, avaliando fatores bióticos e abióticos na busca de melhores condições para que haja um aperfeiçoamento do potencial fúngico de degradação dos compostos recalcitrantes (KALPANA, *et al.*, 2012).

Quanto à descoloração de efluentes têxteis, esta pode ocorrer via adsorção, biosorção, degradação das moléculas do corante por enzimas produzidas ou a combinação de ambos, no entanto, a efetividade dessas ações depende de certos fatores (SOLÍS, *et al.*, 2012), por exemplo, a concentração inicial do corante deve ser tal que o

mesmo não se constitua de um inibidor da atividade metabólica do micro-organismo (RANI, *et al.*, 2014). Bem como os compostos químicos usados como fonte de carbono, que devem ser de fácil assimilação para o fungo, facilitando seu desenvolvimento e, além disso, devem ser acessíveis economicamente (TIBERIUS e CĂTĂLIN, 2013). Ainda, segundo Sharari *et al.* (2013), uma estratégia para melhor aproveitamento da atividade das enzimas extracelulares é a imobilização células, que além disso, também tem como vantagem sobre o inóculo disperso uma menor possibilidade de colmatação de um reator em bateladas.

Outro aspecto importante, de acordo com Espinosa-Ortiz e colaboradores (2016), reside no fato de que é comum a presença de concentrações significativas de matéria orgânica em efluentes do tratamento que se baseia na biomassa fúngica, sendo nesses casos recomendado um pós-tratamento do efluente para garantir a qualidade final almejada. Então, um reator em sequencia, com menor disponibilidade de fonte de energia poderia garantir a remoção da matéria orgânica remanescente, utilizando a mesma como fonte para o seu metabolismo.

Assim, considerando tais fatores operacionais, na busca de uma tecnologia econômica e ambientalmente viável, este trabalho foi conduzido buscando-se que o tratamento da água residuária tivesse como resultado um efluente de menor toxicidade, se comparado às condições anteriores ao processo e isento de compostos residuais mais prejudiciais aos ecossistemas e ao ser humano. Tal condição deve ser o diferencial de uma alternativa biológica, em relação aos demais métodos de remediação (EBENCY, *et al.*, 2013).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a eficiência do tratamento de um efluente têxtil *in natura*, diluído em 20% (v/v), em reatores operados em série, sob regime de bateladas sequenciais, contendo biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Comparar a influência da sacarose e da glicose como fonte primária de carbono na remoção do corante têxtil índigo, diminuição de DQO e na formação de subprodutos;
- ✓ Verificar a remoção das frações nitrogenadas no sistema de reatores em bateladas sequenciais dispostos em série;
- ✓ Verificar dentre a via biológica ou física (adsortiva) a principal via de remoção do corante;
- ✓ Avaliar a eficiência do uso do sistema de reatores em série para a obtenção de um efluente final com menor potencial tóxico e melhor qualidade em relação ao afluente;
- ✓ Verificar se o tratamento possibilita o descarte do efluente conforme a legislação vigente.
- ✓ Definir a melhor condição de operação dos reatores dentre as utilizadas no estudo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Neste tópico serão descritos os trabalhos que auxiliaram na forma como a pesquisa foi conduzida. Levantando aspectos relevantes, como deste trabalho para a sociedade, como o potencial poluidor da indústria têxtil e dos corantes, em especial o índigo, bem como o embasamento da potencialidade biológica no tratamento dos mesmos, com ênfase no uso de fungos em reatores, buscando uma metodologia mais simples para sua operação.

3.1. Indústrias têxteis e seu potencial poluidor

No Brasil, a indústria têxtil é o segundo maior empregador da indústria de transformação, perdendo apenas para a indústria alimentícia, e o país é o quarto maior parque produtivo de confecção, quinto maior produtor têxtil e o segundo maior produtor de jeans em todo o mundo (ABIT, 2016). Na economia asiática o setor têxtil tem a Índia como o segundo maior exportador de corantes, perdendo apenas para a China, e ainda assim, a quantidade de corante utilizada pelo segundo colocado chega a 80.000 toneladas por ano (MATHUR, BHATNAGAR e BAKRE, 2003; ABIT, 2016).

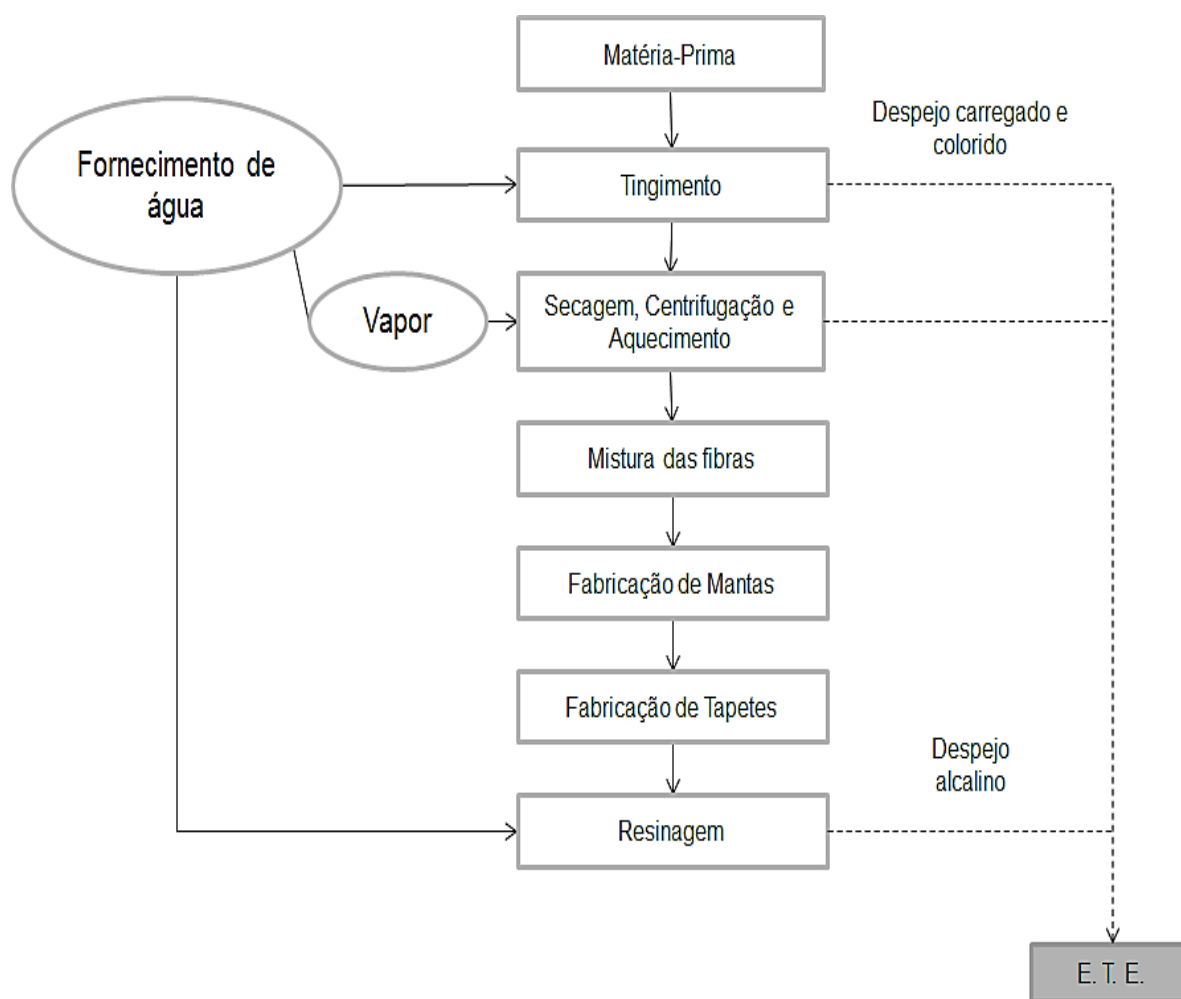
Embora seu grande papel no desenvolvimento econômico seja incontestável, o seu potencial poluidor é proporcional. Grandes quantidades de água são necessárias para o processamento de têxteis, tingimento e estampagem (OHIOMA, LUKE e AMRAIBURE, 2009). A quantidade de água consumida e lançada varia de acordo com o tipo de tecido produzido. Entre 0,08-0,15 m³ de água são usados para produzir 1 kg de tecidos. Outro volume de água é necessário para lavagem do tecido tingido e impresso. Utiliza-se água para limpeza das máquinas de impressão, entre outros processos. Estima-se um volume de 1.000 a 3.000 m³ de água residual gerada após o processamento entre 12-20 toneladas de têxteis por dia (GHALY, *et al.*, 2014). Mais de 3600 corantes individuais são produzidos atualmente. Em todo o mundo, cerca de dez milhões de toneladas de corantes sintéticos são produzidos anualmente, dos quais, estima-se que até 10% acabam em águas residuais, que podem chegar ao meio ambiente (PEREIRA e ALVES, 2012).

Mas, não somente os corantes contidos nos efluentes têxteis tem potencial poluidor. O trabalho de OHIOMA, LUKE e AMRAIBURE (2009) caracterizou o efluente de três indústrias têxteis localizadas no norte da Nigéria e os resultados obtidos

pelo estudo demonstraram que os efluentes tinham elevados teores de alcalinidade e sais. Além disso, as concentrações de nitrogênio, fósforo, metais pesados, sólidos e as demandas química e bioquímica de oxigênio, eram significativamente maiores que os padrões recomendados pela Agência Federal de Proteção Ambiental (FEPA).

Simplificadamente, na Figura 1 está um esquema da geração de efluentes nas etapas do processamento têxtil.

Figura 1. Esquema simplificado da geração de efluentes na indústria têxtil.



Fonte: Martins Neto, H. (2014).

Esse setor industrial utiliza mais de 8000 químicos em vários processos, garantindo em seus efluentes a presença de enxofre, naftol, corantes de cuba, nitratos, ácido acético, sabões, compostos de cromo e metais pesados como arsênio, chumbo, cádmio, mercúrio, além de determinados produtos químicos auxiliares. Podem conter ainda, outros produtos químicos nocivos, como formaldeídos nos quais se baseiam os

agentes de fixação de corante e hidro amaciadores à base de carbono não biodegradáveis (KANT, 2012).

A matéria coloidal presente juntamente com os corantes e espuma aumentam a turbidez dando a água uma má aparência e odor fétido. As águas residuais, se lançadas no sistema de coleta de esgotos sem tratamento, corroem e colmatam a tubulação. Se um efluente como esse alcançar um corpo receptor, terá efeito direto sobre o processo de fotossíntese, impedindo a penetração da radiação solar requerida pelas algas para realização do mesmo (ASHFAQ e KHATOON, 2014). Isto interfere no mecanismo de transferência de oxigênio na interface ar-água, fazendo com que a concentração de oxigênio no meio decaia, afetando a vida aquática. Isso também dificulta o processo de autodepuração da água, tornando-a imprópria para o consumo humano, pois muitos desses compostos químicos são altamente prejudiciais para a saúde humana direta ou indiretamente, podendo ainda ser um meio fértil para o desenvolvimento de bactérias e vírus. Além disso, quando esse efluente flui nos campos há uma obstrução os poros do solo, resultando em perda de produtividade da terra (CHO e HYU, 2015).

Concomitantemente, impurezas na água afetam o processamento têxtil de muitas maneiras. Na lavagem e branqueamento, o tecido branco pode ficar amarelado. Na fase de tinturaria, íons metálicos presentes na água muitas vezes, combinam com os corantes que causam desbotamento dos tons (KANT, 2012). Essa situação fecha o ciclo do uso da água nesse ramo industrial. As empresas, por tanto, têm o desafio de modificar os métodos de produção, de modo que eles sejam mais amigáveis ecologicamente, a um preço competitivo, usando corantes e produtos químicos mais seguros e reduzindo os custos do tratamento de efluentes/eliminação. Além disso, o reuso se tornou algo imprescindível (ASHFAQ e KHATOON, 2014; MOISÉS, *et al.*, 2010). Aliás, a indústria têxtil de acabamento foi colocada sob imensa pressão para redução do uso de substâncias nocivas, especialmente mutagênicas, cancerígenas e alergênicas. Desse modo, a legislação em relação à remoção de corantes de efluentes industriais está se tornando cada vez mais rigorosas. A aplicação da lei continuará a assegurar que a têxtil e outras indústrias que utilizem corantes, tratem seus efluentes conforme a exigência das normas (ROBINSON, *et al.*, 2001).

3.2. Corantes

Um corante pode ser definido como uma substância colorida que tem afinidade pelo substrato ao qual será aplicado, sendo que é colorida por que absorve na região do

visível do espectro a um determinado comprimento de onda (PEREIRA e ALVES, 2012). Nesse contexto, de acordo com a American Chemical Society (ACS) materiais corantes/corantes que são aplicados como uma solução e se aderem a tudo o que eles são aplicados (por exemplo, têxteis, cabelo, madeira, alimentos), podem ser usados como identificadores, a exemplo da tintura roxa que alguns países usam para abalizar os dedos do eleitor durante uma eleição ou os corantes de lã que pastores de ovelhas utilizam para marcá-las.

Os corantes de avivamento fluorescentes melhoraram a aparência de têxteis e papel. Lasers a base de corantes emitem luz laser sobre uma gama de comprimentos de onda, produzindo feixes de laser adequados para aplicações médicas e biológicas, pesquisa astronômica e espectroscopia. Pigmentos são materiais insolúveis que têm de ser misturados com ligantes ou veículos para fixá-los a um substrato. Os pigmentos são frequentemente derivados de sais minerais, mas podem também ser produzidos sinteticamente. Os pigmentos são utilizados em tintas, plásticos, tecidos, cosméticos, alimentos, entre outros. Eles são muitas vezes melhores do que os corantes quanto à durabilidade de sua cor e por sua resistência a fatores ambientais ou agentes químicos. Por outro lado as tintas são líquidos ou pastas que contêm corantes ou pigmentos, e tem aplicações como tintas anti-falsificação, incluindo tintas gel, algumas tintas de caneta-tinteiro e tintas utilizadas para papel-moeda, que reagem com a celulose para produzir uma mudança de cor permanente (ACS, 2016).

Plantas, animais e minerais eram a única fonte conhecida de corantes, pigmentos e tintas, até meados do século XIX. O corante indigóide é provavelmente o corante natural mais antigo usado pelo homem. Sabe-se que a planta *Indigofera tinctoria* é conhecida na Índia há cerca de 4000 anos. Comerciantes e migrantes fenícios introduziram esse corante no Mediterrâneo e seu uso foi gradativamente sendo difundido pela Europa, que passou a ter como a fonte mais importante do mesmo a planta *Isatis tinctoria*, usada desde a Idade do Bronze, da qual a fórmula química do Índigo pôde ser extraída. O processo de coloração era simples, contudo não eram resistentes às intempéries, mas com o tempo procedimentos e corante mais complexos foram desenvolvidos (GÜRSES, *et al.*, 2016).

Agentes corantes naturais são de origem inorgânica (argilas, minerais, sais de metais, e até mesmo pedras semipreciosas) ou orgânica, tradicionalmente divididos em 2 grupos, um dos animais e o outro de origem vegetal. Sem dúvida, fontes botânicas

foram os mais importantes, mas uma grande variedade de outros organismos foi utilizada, incluindo líquens, insetos e crustáceos (ACS, 2016).

Corantes orgânicos apresentam um amplo espectro de compostos com diferentes propriedades físicas e químicas. Entre eles, corantes vermelhos antraquinona (por exemplo, cochonilha, corantes lac ou *madder root*) foram de grande interesse. *Madder root* tem uma longa tradição como um corante por causa de sua cor vermelha, no entanto, extratos de raiz Madder contêm principalmente alizarina (1,2-di-hidroxi-antraquinona) e vários subprodutos que comprovadamente tem caráter mutagênico, restringindo seu uso. Entretanto, nem todas as tonalidades são diretamente disponíveis a partir de uma fonte natural, assim, corantes sintéticos rapidamente substituíram os corantes naturais tradicionais, custando menos, ofereceram uma vasta gama de novas cores, e transmitiram propriedades melhoradas para os materiais tingidos. Assim, uma ampla variedade de corantes está disponível, naturais ou sintéticos, sendo corantes sintéticos comumente utilizados para fibras têxteis, enquanto corantes naturais tendem a ser reservados para a indústria alimentar (PEREIRA e ALVES, 2012).

A luz do dia normal, ou luz branca, é uma mistura de todos os comprimentos de onda a que possamos responder e alguns a que não podemos, como os infravermelhos e raios ultravioleta. Nós respondemos a comprimentos de onda entre cerca de 400-700 nm. Quando a absorção de luz ocorre no intervalo visível, os compostos atingem uma cor que é complementar da luz absorvida, esta é aproximadamente representada pelo comprimento de onda de absorção máxima. A capacidade de um composto para absorver a luz depende da presença de determinados tipos de características estruturais, denominados cromóforos. Os cromóforos usuais são $C = C$, $C = N$, $C = S$, $N = N$, NO_2 e anéis quinoides. Como um complemento para os aceptores de elétrons os grupos são chamados auxocromos, que são doadores de elétrons, geralmente no lado oposto da molécula e tem como função básica aumentar a cor. Alguns auxocromos incluem $-NH_3$, $-COOH$, $-OH$ e HSO_3 . Estes grupos também tem a importante propriedade de promover uma maior afinidade para com a fibra. O cromogênio, que é uma estrutura aromática (normalmente benzeno, naftaleno ou anéis antraceno), faz parte de uma estrutura de cromogênio-cromóforo juntamente com um auxocromo. (JADHAV e PHUGARE, 2012).

O primeiro contaminante a ser reconhecido em águas residuais, é geralmente a cor, porque uma quantidade muito pequena de corantes sintéticos em água (cerca de 1ppm) são altamente visíveis, afetando a estética, a transparência e a solubilidades dos

gases nas águas (PEREIRA e ALVES, 2012). Eles absorvem e refletem a luz solar impedindo sua penetração na água, interferindo assim no crescimento de espécies aquáticas e consequentemente a fotossíntese. Além disso, eles podem ter efeitos agudos e/ou crônicos nos organismos em função da sua concentração e da duração da exposição (BHATTACHARYA, *et al.*, 2011). A remoção de cor a partir de águas residuais contendo o corante é a primeira grande preocupação, mas também é um ponto crucial eliminar, ou reduzir substancialmente, a toxicidade (RÍO, MOLINA e CASES, 2009). Em geral, os corantes têm uma baixa toxicidade em mamíferos e organismos aquáticos, mas os produtos formados por sua biodegradação, amins aromáticas principalmente, são bastante prejudiciais (BHATTACHARYA, *et al.*, 2011).

3.2.1. Classificação dos corantes

De acordo com GÜRSES, *et al.* (2016), os corantes podem ser classificados pela sua estrutura química (Tabela 1) e pelo seu método de aplicação no substrato (Tabela 2).

Tabela 1. Classificação dos corantes sintéticos de acordo com seu grupo cromóforo.

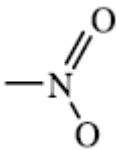
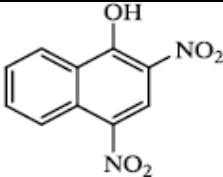
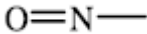
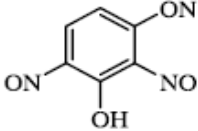
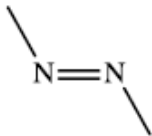
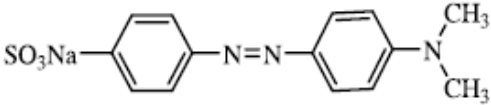
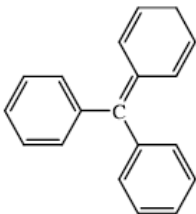
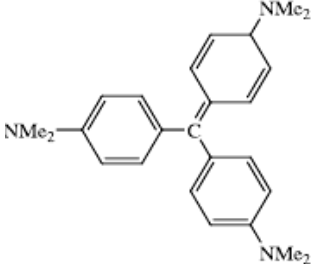
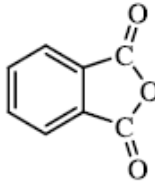
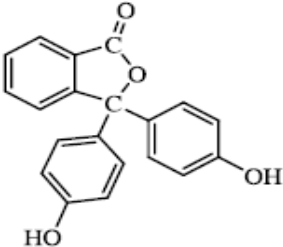
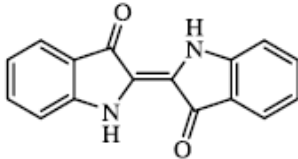
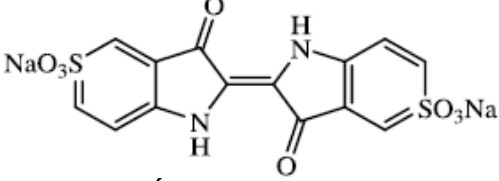
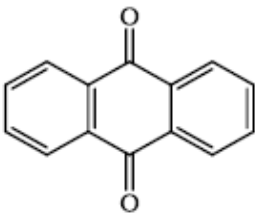
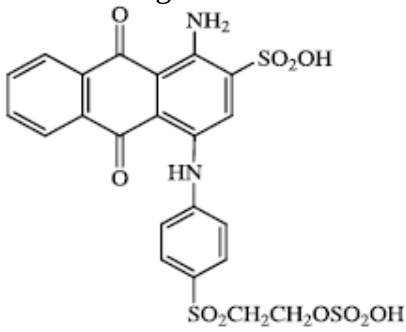
Classe	Cromóforo	Exemplo
Nitro		 Acid Yellow 24
Nitroso		 Fast Green O
Azo		 Laranja Metileno
Trimetilmetano		 Basic Violet
Ftaleína		 Fenolftaleína
Índigo		 Índigo Carmim
Antraquinona		 Azul Reativo 19

Tabela 2. Classificação dos corantes têxteis pelo modo como são aplicados à fibra.

Classificação	Principais características
Reativos	É a mais importante classe de tingimento de fibras celulósicas. Utilizados para tingir fibras proteicas tais como lã e seda. Formam ligações covalentes com a molécula da fibra e são os mais eficazes e permanentes por, geralmente, funcionarem bem em qualquer fibra de celulose em diferentes temperaturas.
Dispersos	São corantes insolúveis em água aplicados em fibras de celulose e outras fibras hidrofóbicas através de suspensão, como acetato, nylon e poliésteres.
Ácidos	São solúveis em água, facilmente aplicados em fibras proteicas e de poliamida sintética, como lã, seda e nylon, devido a existência de grupos sulfônicos.
Básicos	Grupo de corantes catiônicos e solúveis em água, podendo ser azoicos, antraquinona dentre outros.
Diretos	São aplicados em um banho aquoso contendo eletrólitos e sais iônicos. Não formam ligações fortes e ficam fracamente associados às moléculas da fibra. São aplicados em temperaturas de 79,4-93,3 °C para o tingimento de rayon, linho e fibras celulósicas, bem como lã e seda, usando agentes fixadores químicos. Uma das vantagens destes corantes é o menor custo em relação aos os outros corantes.
À cuba	Têm como base os corantes índigos. São insolúveis em água e para que sejam solubilizados e se agreguem as fibras são submetidos ao um banho em solução alcalina.

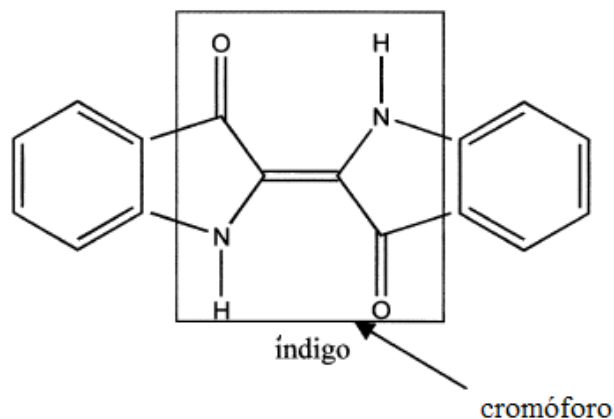
Fonte: Ghaly, *et al.*, 2014; Guaratini e Zanoni, 2000.

3.2.2. Índigo e sua complexidade

O índigo sintético (2,2' –bis –índigo), (CI Vat Blue I) ou índigo à cuba, com fórmula química $C_{12}H_{10}O_2N_2$ (Figura 2) é um pó cristalino azul escuro. Sua principal aplicação é na indústria de calças e outros produtos Azul Denim. Tem um elevado ponto de fusão (390- 392 °C), é insolúvel em água, álcool ou éter, devido às forças provocadas por ligações de hidrogênio intermoleculares. A estrutura da cor produzida é um sistema conjugado ou grupo H-cromóforos que consiste de uma única ligação dupla entre os

carbonos substituídos por dois doadores (NH) e dois aceptores (CO) (QUINTERO e CARDONA, 2010; VAUTIER, GUILLARD e HERRMANN, 2001). Pertencente ao grupo dos corantes á cuba, que, no processo de tingimento permanecem fixos entre 5 e 20%, podendo ser encontrado também na forma sulfatada, também conhecida como Índigo carmim ($C_{16}H_8O_8N_2S_2Na_2$) (PODGORNIK, POLJANSĚK e PERDIH, 2001).

Figura 2. Estrutura molecular do corante índigo.



Fonte: Vautier, Guillard e Herrmann (2001).

Os métodos para a fixação do índigo são mecanismos de complexos de óxido-redução, devido à insolubilidade do mesmo em água e não-afinidade com as fibras de celulose. A redução ocorre em meio alcalino (pH 11-14) por hidróxido de sódio, sais de metais ou solução de potássio. O índigo reduzido (leuco - forma aniônica) chega com menos cor e é solúvel em água, tem uma elevada afinidade para as fibras celulósticas e entra nos espaços abertos das fibras. Depois de tingidas, as fibras são expostas ao ar e as moléculas do corante voltam a ser insolúveis, mas ficarão presas no interior da fibra, quando o tecido atinge a coloração azul permanentemente. O controle do processo de redução ocorre através da medição do potencial redox. Após o tingimento, uma reação de oxidação é realizada para remover o corante em excesso. Agentes oxidantes comuns são o peróxido de hidrogênio ou oxigênio atmosférico a pH e temperatura elevados e catalisadores dispendiosos e perigosos. Após oxidação dos corantes à cuba, são sujeitos a um tratamento térmico em uma solução alcalina fornecida por detergentes para obtenção do produto têxtil final (QUINTERO e CARDONA, 2010; VAUTIER, GUILLARD e HERRMANN, 2001).

Considerando esse intrincado processo para utilização desse corante, uma indústria que o empregue, terá um efluente de igual complexidade. A produção anual de

corante índigo sintético foi estimada em 22.000 toneladas em 2001, sabe-se que ele possui elevada toxicidade, podendo causar irritação da pele e dos olhos de seres humanos. Se consumido por gestantes, pode causar danos aos fetos em sua natureza reprodutiva, desenvolvimento mental e intoxicação. Ele também pode causar irritação gastrointestinal com náuseas, vômitos e diarreia (PRABHAVATHI, *et al.*, 2014). Sem tratamento, os corantes são estáveis e podem permanecer no ambiente por longos períodos de tempo. Portanto, grandes quantidades de índigo em águas residuais, especialmente, devem ser tratados antes de serem descarregados no meio ambiente (BALAN e MONTEIRO, 2001).

3.3. Tratamentos empregados na remoção de corantes têxteis

Uma ampla variedade de métodos tem sido empregada para a remoção da cor de um efluente industrial, podendo ser classificados em biológicos, físicos e químicos (COUTO, 2009).

Tecnologias de tratamento de águas residuais tradicionais são marcadamente ineficazes para o tratamento de águas residuais de corantes têxteis sintéticos, devido à estabilidade química dos poluentes (FORGACS, *et al.*, 2004). Além disso, muitas vezes, eles não abordam a questão da reciclagem de água. As principais desvantagens de métodos físico-químicos são principalmente o alto custo, necessidade de equipamento especializado, interferência com outros constituintes de águas residuais e o tratamento dos resíduos gerados (KAUSHIK e MALIK, 2010).

Alguns exemplos de tratamentos físicos e químicos normalmente utilizados estão discriminados na Tabela 3.

Tabela 3. Alguns exemplos de tratamentos físicos e químicos e seus modos de aplicações em águas residuárias têxteis.

Técnica	Metodologia	Características	Literatura consultada
Filtração por membranas	Nano filtração e osmose reversa usando membranas com uma porosidade inferior à 10 nm.	Método rápido com baixa exigência espacial. Uma vantagem deste método é a possibilidade de reutilização dos corantes. Dentre as desvantagens, estão o declínio do fluxo e entupimento da membrana.	Yun, <i>et al.</i> , (2006); Han <i>et al.</i> , (2016); Jadhav e Phugare, (2012).
Coagulação/ Floculação	Uso de coagulantes como sais de alumínio e polímeros orgânicos para floculação e coagulação de corantes.	Este método é utilizado para remover parte da cor do efluente bruto.	Joo, <i>et al.</i> , (2007); Han <i>et al.</i> , (2016); Kadam, <i>et al.</i> , (2015).
Adsorção	Adsorção de corantes utilizando vários adsorventes, por exemplo, carvão ativado, biomassa de celulose modificada ou não, quitina, materiais do solo, bauxita ou alumina ativada, resíduos de fábrica de celulose.	A capacidade de equilíbrio varia de acordo com o corante e o adsorvente. Sistema de batelada.	Crini., <i>et al.</i> , (2006); Debrassi, Largura e Rodrigues, (2011);
Fotocatálise (TiO ₂)	Catalisadores TiO ₂ podem ser suportadas em três diferentes tipos de adsorventes.	Mais de remoção de cor, através de Fenton, de 95%, entretanto ocorre a geração de radicais reativos prejudiciais.	Bizani, <i>et al.</i> , (2006); Ghaly, <i>et al.</i> , (2014)
Ozonização	Variando as condições operacionais entre ozônio, e ozonização melhorada com ultrassom.	A constante de velocidade é aumentada para 200% utilizando entradas de energia de ultrassom em comparação com ozonização somente. A desvantagem desta técnica é a geração de radicais reativos altamente oxidantes.	Gultekin e Ince (2006); Anjaneyulu, Chary e Raj (2005).
Eletrólise	Aplicação de uma corrente elétrica nas águas residuais utilizando eletrodos.	Corantes foram descoloridos utilizando oxidação eletroquímica combinada e redução, eletrocoagulação e eletro flotação. Dentre as desvantagens está a grande quantidade de energia.	Daneshvar, Oladegaragoze e Djafarzadeh, (2006); Río, Molina e Cases (2009);

Fonte: Ghaly, *et al.*, 2014; Guaratini e Zanoni, 2000.

Os métodos físicos podem efetivamente remover a cor, mas as moléculas de corante não são degradadas, gerando um concentrado que requer eliminação adequada. Assim, tratamentos físicos transferem os poluentes de uma fase para outra, sem eliminá-los (JADHAV e PHUGARE, 2012).

Com as técnicas químicas, em contrapartida, embora os corantes sejam removidos, a acumulação de lodos concentrados pode criar um problema de eliminação. Há também a possibilidade de que um problema de poluição secundária se desencadeie, devido às quantidades excessivas de produtos químicos envolvidos. Recentemente, outras técnicas de processos de oxidação avançada emergiram, baseadas na geração de agentes oxidantes muito poderosos, como radicais hidroxilas foram aplicadas com sucesso na degradação do poluente. Exemplificando, temos os Processos Oxidativos Avançados (POAs), que lidam com a geração e utilização de radicais livres reativos para oxidar a maioria dos produtos químicos presentes nos efluentes. POAs podem converter os poluentes orgânicos complexos dissolvidos em produtos mais simples e não tóxicos. A geração de radicais livres altamente reativos podem ser alcançados com a utilização de UV, UV/O₃, UV/H₂O₂, Fe²⁺/H₂O₂, TiO₂/H₂O₂, entre outros (GUPTA *et al.*, 2015).

Embora estes métodos sejam eficazes para o tratamento de águas contaminadas com substâncias poluentes, eles são pouco atrativos economicamente. A alta demanda de energia elétrica e o consumo de reagentes químicos são problemas comuns. Assim, o desenvolvimento de tecnologias eficientes e ambientalmente amigáveis para reduzir o teor de corante nas águas residuais a níveis aceitáveis a um custo acessível é de extrema importância (COUTO, 2009).

3.3.1. Biorremediação de corantes têxteis

Deslocar a abordagem no sentido da utilização de métodos biológicos para tratar esses efluentes contendo corantes e produtos químicos tóxicos, é uma alternativa. Estes métodos estão ganhando mais importância nos dias de hoje devido ao seu menor custo, eficácia e natureza sustentável. Os metabólitos produzidos após biodegradação são na sua maioria não-tóxicos ou comparativamente menos tóxicos na natureza que os gerados pelos tratamentos anteriormente citados (JADHAV e PHUGARE, 2012).

De acordo com Imhan *et al.* (2015), uma quantidade substancial de trabalhos tem sido realizada sobre o isolamento e caracterização de cepas microbianas para a

degradação de corantes de efluentes têxteis simulados e reais. No seu conjunto, estes estudos mostram que a taxa de descoloração é significativamente reduzida nas águas residuais reais, em comparação com efluente simulado, pela impossibilidade de controlar as condições físicas e químicas do meio. Portanto, este se constitui de um desafio a ser sanado.

Métodos biológicos de descoloração utilizam várias classes de micro-organismos, incluindo bactérias, algas e fungos que degradam os corantes e efluentes industriais. Muitos investigadores demonstraram biodegradação completa ou parcial dos corantes utilizando fungos, algas, actinomicetes e culturas puras ou mistas de bactérias ou suas enzimas de descoloração de corantes tem recentemente recebido muita atenção, uma vez que é um método rentável. Os métodos biológicos são geralmente considerados ambientalmente amigáveis porque eles podem levar a mineralização completa de poluentes orgânicos a um baixo custo, podendo remover também DBO, DQO e sólidos em suspensão. A limitação principal pode estar relacionada, em alguns casos, com a toxicidade de alguns corantes e/ou os seus produtos de degradação para os organismos utilizados no processo (PEREIRA e ALVES, 2012).

Biorremediação é definida como a ruptura molecular, biologicamente mediada, de compostos químicos. É um processo em que a capacidade natural de organismos é reforçada para degradar produtos químicos tóxicos e resíduos (JADHAV e PHUGARE, 2012).

Os micro-organismos ou enzimas são aplicados para auxiliar na remoção de xenobióticos – compostos orgânicos sintéticos, os quais não são encontrados na natureza, e são, portanto, estranhos para a biota – de ambientes poluídos. Os processos biológicos são desenvolvidos para tirar partido das reações bioquímicas que são realizados em células vivas e/ou através das enzimas sintetizadas por elas. Porém, são processos dependentes de energia e, geralmente, envolvem o colapso do poluente, formando subprodutos (ESPINOSA-ORTIZ, *et al.*, 2016).

Os corantes sintéticos não estão presentes no ambiente de forma natural, o que dificulta sua biodegradação, pois os micro-organismos não conseguem utiliza-los como fonte de alimento, uma vez que estes corantes são produzidos para serem resistentes à degradação microbiana em condições aeróbias. Além disso, a elevada solubilidade em água, em especial, de corantes sulfonados e o seu elevado peso molecular inibem a permeação através de membranas biológicas (PEREIRA e ALVES, 2012).

A descoloração via biológica de corantes pode ocorrer tanto por adsorção no crescimento de células microbianas mortas, livres ou imobilizadas; biosorção ou biodegradação dos corantes pelas células (FU e VIRARAGHAVAN, 2001). Na adsorção, a estrutura original das tinturas permanece intacta e o problema da poluição do meio ambiente não é erradicado, porque o poluente não é destruído, em vez disso, torna-se aprisionado na biomassa microbiana. Em contraste, na biodegradação a estrutura do corante original é destruída, e o poluente é dividido em fragmentos pelas células microbianas, por vezes atingindo a mineralização completa, isto é, conversão do xenobiótico em CO₂, H₂O e alguns sais de origem inorgânica. Apesar de muitas moléculas orgânicas serem degradadas, muitas outras são recalcitrantes, devido à sua estrutura química complexa e a sua origem (PEREIRA e ALVES, 2012).

3.3.2. O uso de fungos para o tratamento de águas residuais

Os fungos que podem infectar e colonizar a madeira, denominados da podridão branca, marrom e fungos da podridão macia, têm sido extensivamente estudados principalmente devido à sua capacidade para degradar as paredes celulares da madeira. Estes fungos desempenham um papel importante na natureza, e em particular no ecossistema da floresta onde eles contribuem significativamente para a reciclagem do carbono, como os resíduos remanescentes a partir da coleta de árvores e troncos, que são atacados e degradados, especialmente por fungos da podridão branca e marrom que são ávidos colonizadores e degradadores de madeira em tais ambientes (SINGH e SINGH, 2014).

A biologia, valor econômico e patogenicidade dos fungos não são novidade para a sociedade humana. Os fungos são envolvidos na biodegradação de materiais ou compostos indesejáveis, convertendo-os em produtos inofensivos, toleráveis ou até mesmo úteis. Além disso, muitos pesquisadores têm utilizado fungos lignolíticos e não lignolíticos para a descoloração de efluentes, observando-se que várias estirpes de fungos são conhecidas por degradar uma ampla variedade de compostos recalcitrantes, como xenobióticos e corantes, com suas enzimas extracelulares, as quais são capazes de atuar sobre vários tipos de corantes sintéticos, tais como azo, metano trifenilo, polimérico, ftalocianina e corantes heterocíclicos (JADHAV e PHUGARE, 2012).

O crescimento dos fungos leva normalmente de três a sete dias. Eles podem ser cultivados em diferentes meios de cultura, tais como extrato de levedura, extrato de

malte, ágar, amido de batata e dextrose utilizando baixos valores de pH que variam normalmente de 3 a 5 (FU e VIRARAGHAVAN, 2001). A temperatura de crescimento ótima depende da espécie, mas está entre 20 e 35 °C, quando geralmente ocorrem as melhores atividades de descoloração e biodegradação, as quais são influenciadas positivamente em meios ácidos ou com pH próximo à neutralidade. O processo pode levar horas, sendo mais frequentemente a duração de vários dias (SANGHI, *et al.*, 2009). Ainda assim, vários tipos de sistemas de reatores usando fungos foram já descritos (SINGH e SINGH, 2014). Segundo Rohilla, *et al.* (2012) o rápido crescimento do fungo em um meio contendo apenas corante indica que o fungo utiliza o poluente como a única fonte de carbono e produz enzimas para degradá-los.

3.3.2.2. Condições operacionais para tratamento biológico

Os ecossistemas são ambientes dinâmicos com condições abióticas variáveis, por exemplo, pH, temperatura, oxigênio dissolvido, concentração de nitratos, ions metálicos, sais, etc. Os micro-organismos, bem como as enzimas liberadas, são afetados por mudanças nesses parâmetros, e, conseqüentemente, suas atividades de decomposição também são comprometidas. A transferência de oxigênio, por exemplo, é um aspecto limitante para o desempenho de muitos sistemas biológicos, pois está relacionado com a síntese de enzimas responsáveis pela quebra e a utilização da energia do substrato, a manutenção das células, bem como é um aceptor de elétrons necessário para o crescimento e o metabolismo do micro-organismo e, portanto, a atividade enzimática e subsequente remoção do poluente (ESPINOSA-ORTIZ, *et al.*, 2016). Portanto, a garantia de uma fonte de aeração é essencial em reatores com biomassa aeróbia.

Efluentes têxteis resultam de diferentes classes de corantes, e, conseqüentemente, variam na sua composição e pH. Portanto, é importante, ao avaliar o potencial de diferentes micro-organismos para degradação de corantes, ponderando os efeitos de outros compostos presentes. Considerar o aperfeiçoamento das condições abióticas auxiliará no desenvolvimento de biorreatores em escala industrial para biorremediação (ANJANEYULU, CHARY e RAJ, 2005).

Valores de temperatura e pH ideais são sempre relacionados com o ambiente onde os organismos foram coletados, mas normalmente fungos, tanto para o crescimento quanto para a degradação de compostos, se desenvolvem melhor em meio

ácido ou neutro, enquanto que as bactérias preferem condições alcalinas. A atividade microbiana pode diminuir com o aumento da concentração do corante, que pode ser atribuído à toxicidade dos corantes para as células microbianas que crescem em concentrações mais elevadas (na biodegradação) e/ou saturação de células (biosorção). Nos estudos de descoloração enzimática, as cinéticas são descritas pelo modelo de Michaelis-Menten e um aumento da concentração do corante deve ser observado até a saturação (PEREIRA e ALVES, 2012). Quanto a esse aspecto, é relevante considerar a diluição do efluente têxtil, principalmente quando se trata de um estudo com efluente real (*in natura*), pois a concentração de inibição de corante não é a mesma para todos os micro-organismos, e para os mesmos organismos, a concentração de inibição dependerá do corante.

Os processos que utilizam células em crescimento imobilizadas têm se destacado em relação àqueles que utilizam células livres, uma vez que o primeiro pode ser reproduzido continuamente com células adaptadas às condições e à água residuária a ser tratada. Além disso, as culturas imobilizadas são mais resistentes a perturbações ambientais, por exemplo, pH ou exposição a concentrações tóxicas de produtos químicos, do que culturas em suspensão (PEREIRA e ALVES, 2012; COUTO, 2009).

A adaptação de uma comunidade microbiana a um composto é muito útil para melhorar a taxa do processo de descoloração, devido à expressão natural de genes que codificam as enzimas responsáveis pela sua degradação, quando exposto anteriormente (COUTO, 2009).

Assim, quando a remoção de corantes de águas residuais é mediada pela ação prioritária de fungos, este processo ocorre baseado, principalmente, na formação de enzimas responsáveis pela ruptura das ligações das moléculas, observando-se ainda adsorção do corante na parede do micélio fúngico, mecanismo este que pode exercer relevante desempenho (ESPINOSA-ORTIZ, *et al.*, 2016), assim como a adsorção no material suporte da imobilização do biofilme, como é o caso deste trabalho.

Geralmente, as células/enzimas microbianas são imobilizadas usando métodos adequados para serem utilizados em estudos de descoloração. A imobilização vem ganhando estatura como uma tecnologia-chave para a remediação dos resíduos perigosos. Sistemas de imobilização são aplicados às enzimas, organelas celulares microbianas, vegetais e células animais. Estes sistemas destinam-se a incluir o biocatalisador para o espaço definido, de tal modo que eles mantêm a sua atividade e podem ser utilizados durante um longo período de tempo (CHO e HYU, 2015).

A utilização de células microbianas inteiras imobilizadas ou organelas elimina muitas vezes o fastidioso consumo de tempo e os dispendiosos passos envolvidos no isolamento e purificação de enzimas. Também tende a aumentar a estabilidade das mesmas através da retenção em seu ambiente de origem durante a imobilização e subsequente operação (JADHAV e PHUGARE, 2012).

Outro aspecto operacional relevante pode ser elucidado no trabalho de Rohilla, *et al.* (2012), onde três fontes de carbono (glicose, frutose e sacarose) foram usadas a 5 g/L para a descolorização do corante Reactive Black HFGR, utilizando o fungo *Aspergillus allhabadii* MTCC 9988. A gama de atividade na descoloração do corante com glicose foi maior ($90,57\% \pm 0,33$), seguido de frutose ($87,22\% \pm 0,22$) e sacarose ($74,06\% \pm 0,55$), ao fim de dez dias de incubação, em agitação. Segundo os autores, o meio de crescimento pode melhorar as capacidades de adsorção/degradação de fungos, pois a adição de carbono de fácil biodegradação e outros nutrientes aumentou a descoloração até 92,9% em um curto período de tempo. Para biorremediação, uma fonte de carbono e energia adicional de fácil biodegradação tem de estar presente (PEREIRA e ALVES, 2012).

No trabalho de Namdhari, *et al.* (2012), utilizando as mesmas fontes de carbono na mesma concentração do trabalho citado anteriormente, na remoção do corante Reactive blue MR, verificou-se que a maior descoloração mostrado por *Aspergillus allhabadii* ($95,13\% \pm 0,11$), *Aspergillus sulphureus* ($93,01\% \pm 0,25$) e mínimos por *Aspergillus niger* ($82,60\% \pm 0,21$) em meio suplementado com sacarose. O percentual máximo de descoloração no meio contendo frutose e glucose foi detectada máxima com *Aspergillus niger* ($77,89\% \pm 0,28$) e *Aspergillus sulphureus* ($71,87\% \pm 0,84$). Os autores afirmaram que os resultados da investigação inferem que todas as estirpes de fungos testadas foram eficientes na descoloração com meio suplementado sacarose.

O estudo suracitado ainnda confirma que o principal mecanismo de descoloração é devido a adsorção/degradação por micélio de fungos com redução da intensidade corante em solução devido às alterações causadas por eles. Além disso, a taxa de remoção de corantes pode ser ligada com os cossustratos disponíveis, com a fase de crescimento exponencial, com a espécie do corante, e com as necessidades nutricionais do fungo. Assim, diante de trabalhos como esses, se faz necessário a avaliação da melhor fonte de carbono para subsidiar a remoção de corantes por vias biológicas.

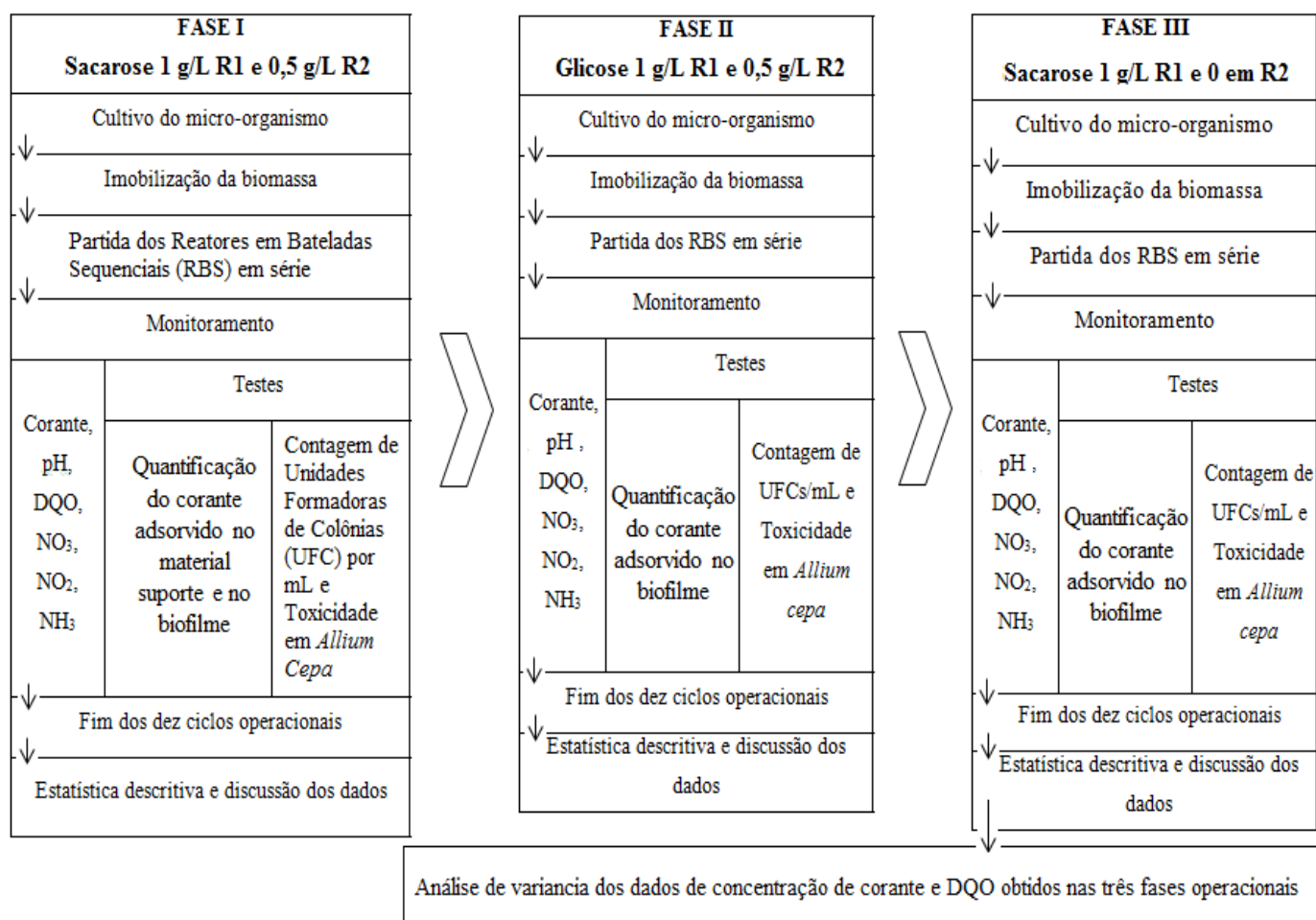
Considerando mais um importante parâmetro na biorremediação e objetivando aproximar os ensaios laboratoriais da aplicação em escala real, devemos ressaltar a

operação em condições ambiente, sem a necessidade de garantir condições estéreis para os reatores. Segundo Quintero e Cardona, (2010) em uma cultura mista, a descoloração pode ser resultante da ação sinérgica de vários micro-organismos, apresentando, em geral, maior estabilidade, mesmo em condições de *stress* provocado por mudanças nas características da água residuária como o pH ou a composição do meio.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste tópico são descritos os procedimentos realizados na pesquisa desenvolvida, tendo-se primeiramente: A produção de esporos para procedimento de imobilização dos fungos no material suporte e sua posterior introdução nos Reatores em Bateladas Sequenciais (RBS) operados em série, visando um maior polimento do efluente do primeiro reator. O tempo reacional em cada reator foi de 48 h, assim, após a partida dos reatores, o experimento teve a duração de 168 dias. Foi avaliado o grau de toxicidade do afluente e efluente dos reatores, o número de colônias microbianas, após a operação dos mesmos, bem como realizado ensaio de saturação do corante no suporte e no biofilme para determinação da parcela adsorvida e a biologicamente removida. Na Figura 3 estão esquematizados e ordenados os procedimentos realizados no estudo.

Figura 3. Esquema dos procedimentos realizados neste trabalho para a avaliação do tratamento do efluente têxtil pelos reatores.



Fonte: Autor (2017).

4.1. Caracterização do efluente

O efluente *in natura* utilizado nesta pesquisa foi proveniente de uma indústria têxtil local, localizada na região metropolitana de Fortaleza (Ceará), sendo que as coletas ocorreram com retirada da água residuária do tanque de equalização da estação de tratamento de esgotos localizada na indústria.

O recipiente de coleta foi um frasco de polietileno de 5 L descontaminado com HCl P.A. Após a coleta, o efluente *in natura* era encaminhado para o Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), no Instituto Federal do Ceará – Campus Fortaleza, para a realização das análises físicas, químicas e de toxicidade, a fim de efetuar sua caracterização, processo este que ocorreu por todas as semanas, as quais os reatores foram operados.

4.2. Cultivo do micro-organismo

Foram esterilizadas em autoclave a 121°C, durante 20 minutos, 15 placas de Petri que, posteriormente, receberam 10 mL $\pm$ 2 de meio de cultura CYA (Ágar de Levedura Autolisada) (OTTONI, 2012), discriminado na Tabela 4, previamente esterilizado também com calor úmido. Após a solidificação do meio nas placas, a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 foi inoculada no centro da placa com o auxílio de uma agulha de platina.

Tabela 4. Composição do meio CYA, utilizado para produção de esporos.

Componente	Concentração
K ₂ HPO ₄	1 g/L
Extrato de levedura	5 g/L
Sacarose	10 g/L
Agar-Agar	15 g/L
Concentrado CZAPEK (descrito na Tabela 5)	10 mL/L

Fonte: Ottoni (2012).

A composição do concentrado CZAPEK é apresentada na Tabela 5.

Tabela 5. Composição do Concentrado CZAPEK

Componente	Concentração
NaNO ₃	30 g/L
KCl	5 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O	5 g/L
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g/L
ZnSO ₄ .5H ₂ O	0,05 g/L

Fonte: Ottoni (2012).

Após a inoculação, as placas foram mantidas em uma incubadora microbiológica à temperatura de 28°C ± 2, durante cinco dias. Ao final deste período foi observada a presença de esporos por toda a superfície do meio contido nas placas.

Para a remoção dos esporos foi utilizada uma solução composta de NaCl (0,9%, m/v) e solução Tween 80 (0,5%, v/v), adicionada em cada placa em um volume de 5mL ±1 obtendo-se uma suspensão de esporos.

Seguindo procedimentos descritos em Wanderley *et al.* (2012) foram retirados 50 µL da suspensão, previamente agitada com Vórtex, e adicionados a 950 µL da solução salina com Tween 80, anteriormente descrita, em seguida, 20 µL desta mistura foram transferidos para uma câmara de Neubauer para a contagem dos esporos em microscópio óptico, com aumento de 400 vezes.

Foram utilizados para contagem dos esporos os quatro quadrantes das extremidades da câmara, sendo cada quadrante formado por 16 sub-compartimentos com a finalidade de facilitar a quantificação, empregando-se para estimativa da concentração a Equação 1, também descrita em Wanderley *et al.* (2012).

$$C = N \times \text{fator de diluição} \times V \quad \text{Equação (1)}$$

Sendo, C: concentração de esporos/mL, N: nº de esporos contados, V: volume da câmara de Neubauer (2,5 x 10⁵ mL).

4.3. Imobilização do micro-organismo

O material suporte para imobilização do *A. niger* AN 400 foi espuma de poliuretano (15 g para cada reator), lavada com água e sabão neutro e cortada em cubos de 2 cm de arestas com densidade de 44,06 kg/m³.

Os cubos de poliuretano foram colocados em sacos vazados formados por malha entrelaçada de polietileno e esterilizados por vapor úmido junto ao meio basal nutriente,

cuja composição está descrita na Tabela 6, para crescimento da biomassa em frascos de Duran, com capacidade de 5 L, os quais foram utilizados como reatores.

Tabela 6. Composição do meio basal nutriente de imobilização da biomassa.

Componente	Concentração
Glicose	5 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g/L
K ₂ HPO ₄	0,8 g/L
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,04 g/L
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,32 g/L
H ₂ MoO ₄	0,2 g/L
MnSO ₄ .H ₂ O	0,2 g/L
Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	0,2 g/L
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,16 g/L
Solução de micronutrientes Vishniac (composição na Tabela 7)	1 ml/L
Megacilin Super Plus® (Antibiótico)	0,1 g/L

Fonte: Adaptado de Rodrigues (2006).

Tabela 7. Composição da solução de micronutrientes (Vishiniac).

Componente	Concentração
H ₃ BO ₃	5 g/L
FeCl ₂ . 4H ₂ O	2 g/L
ZnCl ₂	0,50 g/L
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,50 g/L
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,38 g/L
AlCl ₃ .H ₂ O	0,9 g/L
CoCl ₂ .6H ₂ O	2 g/L

Fonte: Adaptado de Rodrigues (2006).

Após a esterilização do material suporte, com o meio em temperatura ambiente, de aproximadamente 25 °C, os esporos foram inoculados nos reatores de modo a obter a concentração de 2×10^6 esporos/mL. Nas primeiras 24 h, o sistema permaneceu sem aeração mecânica para que os esporos se fixassem naturalmente ao material suporte. Após esse período foi introduzida aeração no reator por meio de mini compressores de

ar, permanecendo assim por cinco dias. Em seguida, foi introduzido um novo meio de crescimento, estéril, com a mesma constituição do descrito anteriormente, mantendo-se esta condição por mais cinco dias para formação do biofilme (Figura 4).

Figura 4. Fungos imobilizados no material suporte no interior dos reatores.



Fonte: Autor (2017).

4.4. Operação dos reatores em bateladas sequenciais (RBS) em série

O estudo foi conduzido em três fases operacionais, as quais se distinguiram pela fonte primária de carbono utilizada e a sua concentração:

- ✓ Fase I: sacarose nas concentrações de 1 g/L em R1 e 0,5 g/L em R2;
- ✓ Fase II: glicose nas concentrações de 1g/L em R1 e 0,5 g/L em R2;
- ✓ Fase III: sacarose na concentração de 1g/L em R1 e dessa vez nenhuma fonte de carbono foi adicionada no segundo reator.

Em ambas as fases, os reatores utilizados no estudo possuíam volume reacional de 4 L (R1) e 3,6 L (R2). Estes foram dispostos em série, onde, R1 foi alimentado com efluente *in natura* a 20% (v/v), ou seja, diluído na proporção de 20 mL de efluente para 80 mL de água da torneira, sendo ainda adicionados a fonte de carbono (1g/L), a solução de Vishniac (1m/L) e o antibiótico Megacilin Super Plus® (0,1g/L). Além disso, o pH do meio era ajustado para 5,0 com o uso de H₂SO₄ 5 N e NaOH 6 N, a fim de propiciar melhores condições para o metabolismo fúngico (RODRIGUES, 2006).

Cada fase abrangeu período de 56 dias, resultando em 10 ciclos operacionais (30 no total). O efluente, após tempo reacional de 48 h em R1, era encaminhado para o reator R2, com a fonte de carbono na concentração correspondente com a fase, e

permaneceu no mesmo por mais 48 h, a fim de se obter maior mineralização da água residuária. O ajuste do pH para 5, também foi realizado, assim como o antibiótico Megacilin Super Plus® (0,1g/L) e a solução de micronutrientes (1mL/L) também foram adicionados nos afluentes do segundo reator.

Na Figura 5 são apresentados os reatores em bateladas sequenciais, R1 e R2, com biomassa de *Aspergillus niger* AN 400, utilizados em série para o tratamento de água residuária têxtil *in natura* diluída a 20% (v/v).

Figura 5. Reatores em bateladas sequenciais, dispostos em série, contendo biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400, sendo (a) reator R1 e (b) reator R2.



Fonte: Autor (2017).

Após o fim da primeira fase operacional, os reatores foram inativados e um novo processo de cultivo e imobilização foram realizados, conforme descrito anteriormente nos itens 4.2 e 4.3, dando-se novamente partida nos reatores para a segunda fase, procedimento que se repetiu para a operação dos reatores na terceira fase de operação.

4.5. Monitoramento dos reatores

As amostras retiradas para o monitoramento dos reatores foram nomeadas da seguinte forma: afluente R1 (ER1), efluente R1 (SR1), afluente R2 (ER2) e efluente R2 (SR2).

O acompanhamento dos reatores foi realizado através das análises de pH, Demanda Química de Oxigênio (DQO), amônia, nitrito e nitrato. As análises espectrofotométricas seguiram os procedimentos descritos em APHA (2005), à exceção nitrato que ocorreu conforme Rodier (1975).

A determinação da concentração de corante nas amostras se deu utilizando usando um espectrofotômetro UV-Vis – modelo Thermo Scientific™ Evolution 60S -, com a leitura em absorbância (λ : 660nm), através de curva de calibração construída, que, a partir dos padrões com concentrações conhecidas do corante (DyStar© Indigo Vat dye 40% Solution) – variando de 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 30 e 50 mg de corante/L. As absorbâncias de cada solução padrão foram medidas. Após, uma curva analítica foi construída e a equação da reta foi obtida por regressão linear, representadas pela Equação 2 (RODRIGUES *et al.*, 2011).

$$y = 27,691x - 0,0941, \text{ com } R^2 = 0,9949 \quad \text{Equação (2)}$$

Além disso, a varredura do espectro de absorção do corante índigo foi realizado para as amostras do efluente e afluente, visando verificar a possível formação de subprodutos resultantes da degradação do corante. Para tanto, foram executadas varreduras – obtenção das absorbâncias na região de comprimento de onda (λ) entre 200 e 1000 nm, das alíquotas usando um espectrofotômetro UV-Vis (Thermo Scientific™ Evolution 60S).

4.5.1. Quantificação da biomassa aderida ao material suporte (Sólidos Suspensos Voláteis - SSV)

Em cada um dos reatores, foi removido ao fim das fases operacionais, um cubo de espuma de poliuretano contendo a biomassa aderida, o qual foi transferido para erlenmeyer contendo solução salina (NaCl 0,9%, m/v) e pérolas de vidro.

Após agitação vigorosa do conjunto, a suspensão resultante foi submetida à filtração e a quantificação da biomassa se deu pela análise gravimétrica de sólidos em suspensão voláteis (SSV), realizado conforme APHA (2005).

4.5.2. Quantificação do corante adsorvido no biofilme

No final de cada fase de operação, determinou-se a quantidade de corante índigo adsorvido ao biofilme, realizando-se ensaio adaptado de Andrade (2012).

Assim, um cubo do material suporte contendo biomassa aderida foi transferido para erlenmeyer, adicionando-se solução salina (NaCl 0,9%, m/v) e pérolas de vidro. Em seguida o conjunto foi submetido à agitação vigorosa para propiciar a remoção da biomassa do meio suporte. O meio foi então centrifugado a 3500 rpm e o sobrenadante

retirado deixando somente a biomassa, onde adicionou-se uma alíquota de 10 mL de metanol como solvente para remover o corante adsorvido.

Após 20 min, foram adicionados mais 5 mL de metanol e uma nova centrifugação ocorreu. Do sobrenadante foi feita a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda do grupo cromóforo do corante Índigo.

4.5.3. Ensaio de saturação do corante no material suporte

Neste ensaio foi utilizado um béquer de 5L, ao qual foram adicionados 15 g de cubos de espuma de poliuretano previamente lavadas com sabão e secas em estufa a 50°C, e 4 L da água residuária diluída a 20% (v/v), em condições semelhantes à entrada do R1, conforme realizado nas duas etapas.

A massa de corante adsorvida na espuma de poliuretano foi avaliada com adaptações dos procedimentos descritos em Rodrigues (2006), retirando-se alíquotas e com a consecutiva leitura espectrofotométrica, em intervalos de tempo de 10 min até a saturação da espuma, quando a concentração de corante das alíquotas se manteve constante.

4.5.4. Teste de toxicidade

Os procedimentos foram adaptados de Mexico (2008), segundo o qual são utilizados bulbos de cebola (*Allium cepa*) para a verificação do grau de toxicidade dos afluentes e efluentes dos reatores a partir do crescimento de suas raízes, que pode ser inibido na presença de composto tóxico.

Para o procedimento, os bulbos foram selecionados através de um pré-teste, no qual as cascas e as raízes velhas foram cuidadosamente removidas e a base dos bulbos foi colocada em copos plásticos contendo água da torneira, sendo mantidos em local livre de umidade e ao abrigo da luz, a uma temperatura de 25°C. Após três dias nesta condição, o crescimento das raízes foi observado.

Apenas os bulbos que apresentaram o mesmo padrão de crescimento durante os três dias foram selecionados para o teste usando as amostras dos reatores. As raízes desenvolvidas durante o pré-teste foram removidas e os bulbos foram reutilizados. Nos testes de inibição de raiz, a base dos bulbos foi colocada em copos plásticos contendo as amostras: Caracterização (efluente *in natura*), ER1 (afluente ao primeiro reator), SR1 (efluente ao primeiro reator), ER2 (afluente ao segundo reator) e SR2 (efluente ao

segundo reator), todas em triplicata. Após 72 h, as raízes foram medidas com uma régua. Foram empregadas como controle negativo as cebolas expostas apenas em água da torneira.

A fim de justificar o porquê de haver alteração das amostras SR1 em relação à ER2, em basicamente todos os itens avaliados, foi realizado o ensaio de toxicidade com amostras de ER1 que não continham o esgoto têxtil, ou seja, amostras constituídas de água da torneira, antibiótico, pH ajustado para cinco, solução de micronutrientes e fonte de carbono nas mesmas proporções da entrada do primeiro reator.

4.5.5. Contagem de colônias por mL de água residuária

O procedimento de contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs/mL) se deu por meio da técnica *spread-plate* (ou diluições seriadas) em meio seletivo Martin (Tabela 8) para fungos e meio Nutriente-ágar (23g/L) para bactérias (APHA, 2005).

Tabela 8. Composição do meio Martin utilizado para contagem de UFCs fúngicas.

Componente	Concentração
K ₂ HPO ₄	1 g/L
Peptona	5 g/L
KH ₂ PO ₄	0,5 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g/L
Glicose	10 g/L
Extrato de levedura	0,5 g/L
Rosa bengala	0,033 g/L
Ágar-Ágar	18 g/L

Fonte: Andrade (2012).

Um cubo em poliuretano foi retirado de cada reator, transferindo-os para Erlenmeyers contendo 60 mL de solução salina (0,9% de NaCl, m/v) e pérolas de vidro estéreis para a remoção da biomassa aderida, através de agitação vigorosa. Posteriormente, alíquotas de 1 mL foram retiradas e transferidas para 9 mL de solução salina sucessivamente, obtendo-se concentrações de 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴. Em seguida, 0,1 mL das amostras das diluições, foram adicionadas aos meios de cultura já solidificados.

As placas inoculadas em duplicata permaneceram em incubadora microbiológica à temperatura de 28 °C ± 2, por 48 h e 120 h, respectivamente para bactérias e fungos.

Em seguida, efetuou-se contagem das colônias apenas das placas que possuíam número de colônias entre 30 e 300, em um contador de colônias mecânico. A obtenção do número de UFCs/mL foi obtida a partir da Equação 3, conforme APHA (2005).

$$\text{UFC/mL} = \text{n}^\circ \text{ de colônias} \times 5 \times \text{inverso da diluição} \quad \text{Equação (3)}$$

4.6. Estatística descritiva dos dados e análise de variância

Para representar o perfil espacial dos parâmetros analíticos analisados, foram utilizadas representações gráficas do tipo *Box-plot*, possibilitando a visualização da assimetria da distribuição, a faixa de variação dos dados, além de permitir a detecção de possíveis *outliers*. Além disso, permite a visualização dos parâmetros mínimo, mediana, máximo, Quartil 1 (Q1) e Quartil 3 (Q3), sendo que esses dois últimos representam 25% das amostras que estiveram naquele intervalo de valores e 75% das amostras que estiveram naquele intervalo de valores, respectivamente.

Os dados obtidos em todas as etapas foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) (fator único) com teste de Tukey para comparar os resultados e obter o parâmetro estatístico. As leituras foram consideradas significativas a um nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico são avaliados e discutidos os resultados obtidos com as análises físicas, químicas e biológicas realizadas para monitorar o desempenho dos reatores em bateladas sequenciais dispostos em série. Assim, serão comparados os resultados obtidos nas três fases operacionais com o objetivo de determinar, dentre as mesmas, qual a melhor estratégia operacional, a partir da eficiência de remoção do corante índigo, de DQO, nitrato, nitrito e nitrogênio amoniacal, procedendo-se ao acompanhamento da variação do pH e da diminuição da toxicidade da água residuária antes e após a passagem pelo sistema de reatores. Além disso, ao fim das fases de operação, era realizada a contagem de Unidades formadoras de colônias fúngicas e bacterianas nos reatores.

A água residuária coletada semanalmente foi submetida às mesmas análises das amostras dos reatores, de modo que os resultados obtidos estão discriminados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados das análises da água residuária têxtil *in natura*.

		pH	DQO _{total} (mg/L)	DQO _{dissolvida} (mg/L)	Nitrato (mg/L)	Nitrito (mg/L)	Amônia (mg/L)
Fase I	Média	10,0	2280,0	1652,0	2,2	10,0	45,9
	Máximo	12,4	3650,6	2592,2	3,3	18,7	71,1
	Mínimo	8,7	1145,7	934,3	1,3	5,9	32,6
Fase II	Média	9,3	2018,3	1401,6	2,6	32,3	23,4
	Máximo	11,4	3249,8	2020,0	3,7	46,2	56,2
	Mínimo	8,1	1194,3	860,5	1,5	21,1	7,2
Fase III	Média	9,7	2393,4	1728,6	1,9	6,8	33,6
	Máximo	12,1	3700,1	2486,6	2,9	9,9	49,3
	Mínimo	7,9	1818,3	991,7	1,3	3,1	21,9

Fonte: Autor (2017).

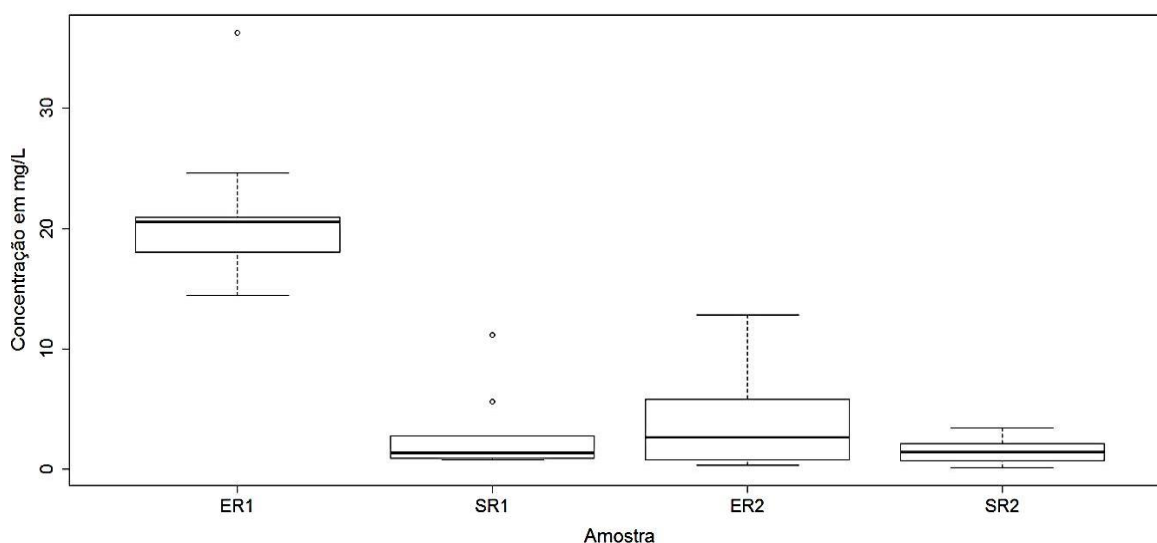
É possível observar concentrações inferiores de DQO, nitrato e amônia nas amostras de água residuária coletadas para operação dos reatores na Fase II, em comparação com as demais. Na Fase III, foi detectada uma concentração DQO um

pouco superior à primeira fase, que por sua vez, apresentou maiores concentrações de nitrogênio em relação às demais.

Estreando a discussão dos resultados obtidos na operação dos reatores, na primeira fase de operação do sistema, quando se adicionou a sacarose como cossubstrato, quanto à avaliação da remoção de corante, a eficiência média de remoção do índigo foi de $92\% \pm 5,1$, o equivalente, em concentração à $1,6 \text{ mg/L} \pm 1,1$. O sistema atingiu a máxima eficiência no 1º ciclo ($99,1\%$), representando a menor concentração de índigo registrada no efluente do sistema de reatores ($0,129 \text{ mg/L}$), e eficiência mínima de $83,2\%$, no 9º ciclo, com a concentração máxima de índigo no efluente de $3,4 \text{ mg/L}$.

Na Figura 6 são apresentados os valores referentes à concentração do corante na entrada e saída dos reatores R1 e R2 ao longo da operação na Fase I.

Figura 6. Concentração de corante Índigo na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase I.



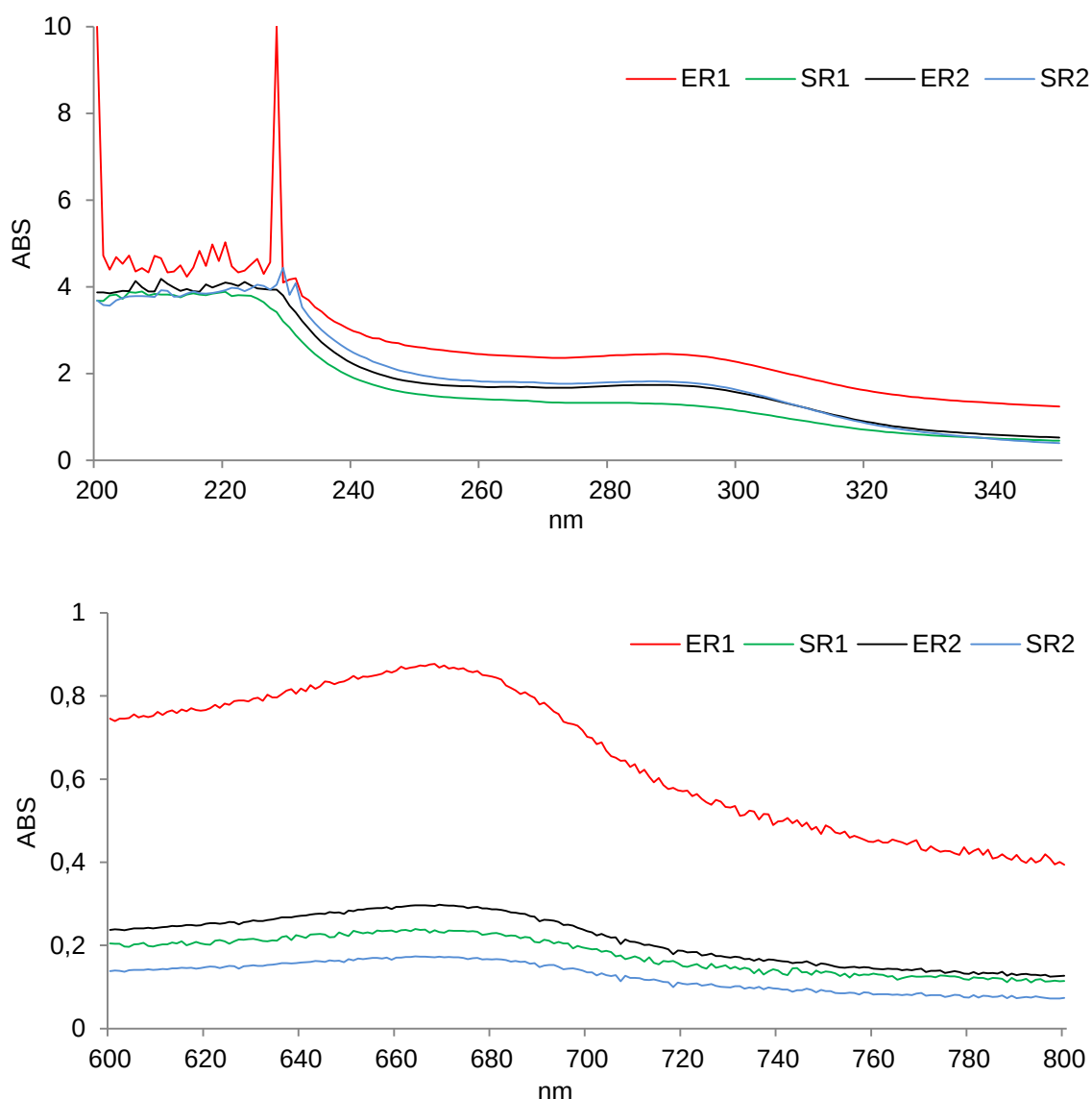
Fonte: Autor (2017).

O primeiro reator apresentou capacidade de remoção máxima de $96,7\%$, no 10º ciclo operacional, com concentração remanescente de corante de $0,6 \text{ mg/L}$, e mínima remoção no 6º ciclo, de $69,2\%$, período esse que o reator R1, após 48 h gerou um efluente com 11 mg/L de corante. O percentual médio de remoção de corante neste reator foi de $88\% \pm 9,7$.

O segundo reator em operação (R2), nesta mesma fase operacional, alcançou média de remoção de $46\% \pm 36$, registrando-se máxima remoção de 87%, no 5º ciclo, e nenhuma remoção nos ciclos 7, 8 e 10.

Na Figura 7 é observada a varredura das amostras do afluente e efluente do ciclo 10, ilustrando o comportamento do sistema quando não houve eficiência de remoção do corante índigo no reator R2.

Figura 7. Varreduras das amostras do afluente e efluente dos reatores em bateladas sequenciais R1 e R2, com biomassa imobilizada de *A. niger*, no 10º ciclo da Fase I.



Fonte: Autor (2017).

É possível observar que na faixa espectral do grupo cromóforo, no comprimento de onda próximo à 600 nm, ocorreu diminuição acentuada da banda relativa ao efluente em relação ao afluente, após a passagem por R1, denotando a ruptura da ligação

química do grupo cromóforo. Após a passagem da água residuária pelo reator R2, houve uma redução da absorbância de aproximadamente 33%.

A habilidade dos fungos em utilizar várias fontes de energia pode ser explorada na elaboração de estratégias de remediação de compostos persistentes usando materiais mais baratos, como é o caso da sacarose em relação à glicose, que resultou melhor desempenho neste estudo.

No trabalho de Khelifi *et al.* (2009) foi estudada a descoloração de meio contendo os corantes índigo e vermelho do congo pela espécie fúngica *Aspergillus alliaceus* 121C, na presença das fontes primárias de carbono: glicose, glicerol, amido e lactose. Em todas as concentrações testadas, a glicose apresentou-se como a mais eficiente para o processo de descoloração de ambos os corantes.

Em contraposição, em 2013, Tiberius e Cătălin avaliaram dez fontes de carbono e seis fontes de nitrogênio, em oito concentrações diferentes cada, para a biodegradação de três corantes, sendo eles *Congo Red*, *Acid Fuchsin* e *Toluidine Blue*. A concentração utilizada para todos os corantes foi de 100 mg/L e o tempo reacional testado foi de 10 dias. *Bjerkandera adusta* e *Trametes hirsuta* foram as espécies utilizadas, de modo que os pesquisadores conduziram 48 ensaios. Os açúcares simples, poli álcoois e as fontes de nitrogênio orgânico foram os que mais estimularam o desenvolvimento das espécies em meios ricos em corantes. Embora quase todos os macronutrientes utilizados no estudo de Tiberius e Cătălin (2013), tenha propiciado crescimento rápido da biomassa fúngica, a descoloração foi diferente dependendo do fungo e do corante presente. Assim como neste estudo, a sacarose se sobressaiu à glicose na remoção dos corantes, assim como manitol e sorbitol.

Para outros micro-organismos também o uso de sacarose como cossustrato tem demonstrado êxito, como no caso da bactéria *Kocuria rosea* MTCC1532U na biorremediação de efluente contendo o corante verde malaquita (50 mg/L) (PARSHETTI, *et al.*, 2006). Esses autores obtiveram resultado semelhante quanto à melhor eficiência de remoção do corante na presença de sacarose ao compará-la com a glicose como cossustrato. Em 12 horas os pesquisadores obtiveram remoção do corante de 81%, com a sacarose (1%), e de 31%, quando a glicose (3%) era o cossustrato adicionado no meio.

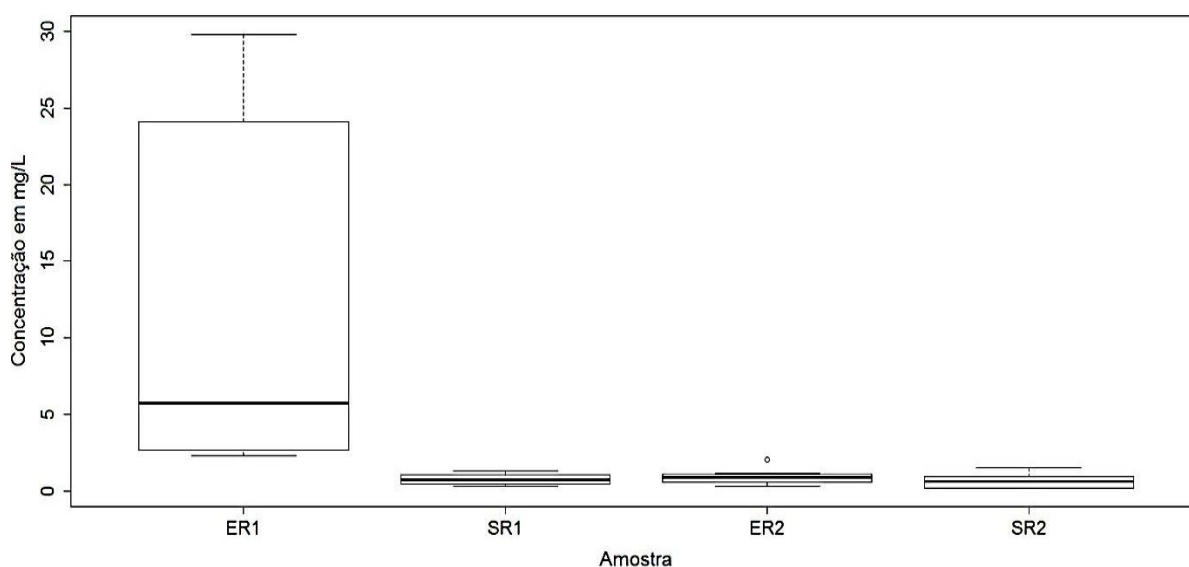
No estudo de Hamad *et al.* (2014) foi descrita a influência de várias fontes de carboidratos refinados, como glicose, frutose, maltose, sacarose e amido sobre o crescimento e atividade do fungo *A. niger*. Os sacarídeos foram utilizados nos meios

concentrações de 30 g/L e 15 g/L, cada um. Todos exerceram efeito positivo sobre o crescimento das colônias se comparados ao controle, mas alguns foram mais eficazes e, estatisticamente, não houve diferença entre as concentrações de 15 g/L e de 30 g/L. A absorção das hexoses (glicose e frutose) por *A. niger* foi um processo ativo, dependente da taxa de metabolismo normal do micélio. A glicose foi absorvida do meio pelos fungos mais rapidamente que a frutose, em ambas. Entretanto, a taxa de crescimento foi frequentemente mais rápida e extensa quando do uso da frutose, com formação de colônias de maior diâmetro, quando comparado ao uso de glicose.

Os autores supracitados verificaram ainda que a captação de açúcar por *A. niger* a partir de soluções de sacarose é dependente do metabolismo normal e, portanto, é um processo ativo do mesmo sentido de absorção das hexoses. As evidências sugerem que o processo envolveu desagregação de sacarose extracelular (invertase) para as hexoses (GOOSEN, *et al.*, 2007). Assim, os fungos não podem usar sacarose diretamente, mas a presença da frutose no meio, após a quebra da molécula de sacarose, pode determinar uma vantagem do dissacarídeo em relação ao monossacarídeo (glicose) na indução desenvolvimento e consequente aumento da biomassa de *Aspegillus niger*.

Na Figura 8 são apresentados os valores de concentração do corante na Fase II, quando a sacarose foi substituída pela glicose como cossustrato, na concentração e de 1 g/L em R1 e 0,5 g/L em R2.

Figura 8. Concentração de corante no afluente e efluente dos reatores em bateladas sequenciais R1 e R2, , na Fase II de operação – com glicose como cossustrato.



Fonte: Autor (2017).

A figura apresenta os resultados, que culminam no fato de que a eficiência média de remoção do corante no sistema (R1 – R2) foi de $80\% \pm 22$, com a remoção máxima de 99,2%, no Ciclo 9, e mínima de 33%, no 4º ciclo operacional.

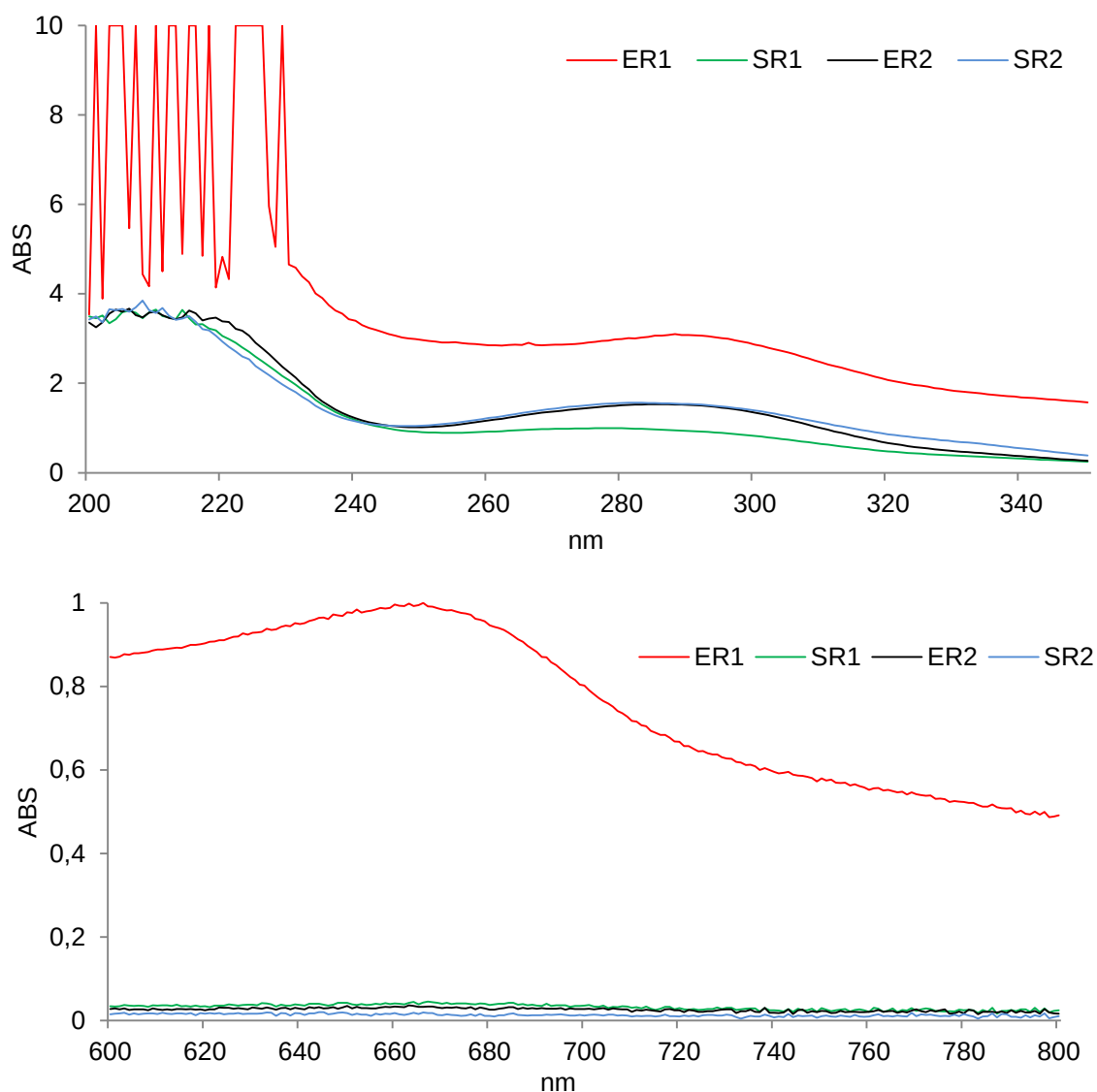
Separadamente, o Reator 1 apresentou eficiência média de $83\% \pm 17$, com máxima de 98% (Ciclo 10) e mínima de 44% (Ciclo 4). Em R2, a eficiência média de remoção foi de $31\% \pm 29$, sendo a máxima eficiência no Ciclo 7 (73%) e nenhuma eficiência nos Ciclos 1 e 3.

No trabalho de em Manu e Chadhari (2003), um reator semi-contínuo foi operado com 1 g/L de glicose, na presença de culturas mistas de bactérias anaeróbias. O reator tinha volume útil de 5 L e a concentração do corante índigo foi mantida em 100 mg/L. Um litro de sobrenadante era retirado a cada 24 horas e substituído por 1 L de meio basal, repetindo-se esse procedimento por 40 dias. Somente após esse período algumas variáveis físicas e químicas foram analisadas. A remoção do corante foi de 95% e a de remoção de DQO, de 90%. Entretanto, os autores observaram acréscimo da absorbância na região dos 295 nm, o que atribuíram à presença de subprodutos da degradação, semelhante ao que ocorreu na presente pesquisa no reator R2, na Fase II (Figura 9).

Na Figura 9 é mostrado o comportamento típico dos ciclos de maior eficiência dos reatores nessa fase, que se configuraram em uma drástica diminuição das bandas após a passagem por R1, com quase nenhuma alteração após a passagem por R2, sendo que esse comportamento se repetiu em relação à primeira fase. Algumas bandas, referentes aos compostos aromáticos, no comprimento de onda entre 200 e 300 nm, aumentaram após a passagem pelo segundo reator.

De acordo com resultados apresentados nas figuras, observou-se que a glicose não foi a melhor opção de cossustrato em relação à sacarose quanto à qualidade final da água residuária, pois além da menor remoção de corante ($92\% \pm 5$ Fase I em comparação a remoção de corante de $80\% \pm 22$ Fase II), e, consequentemente, menor eficiência na ruptura do cromóforo, próximo ao comprimento de onda de 660 nm (Figura 9), na Fase II houve acréscimo nas bandas na região entre 200 e 300 nm, após a passagem por R2 (Figura 9). O que não ocorreu quando a sacarose foi utilizada como cossustrato, já que não houve aumento das bandas nas varreduras após a passagem pelo segundo reator (Figura 7).

Figura 9. Varredura das amostras do afluente e efluente dos reatores R1 e R2 no ciclo 7 da Fase II – com glicose como cossubstrato.



Fonte: Autor (2017).

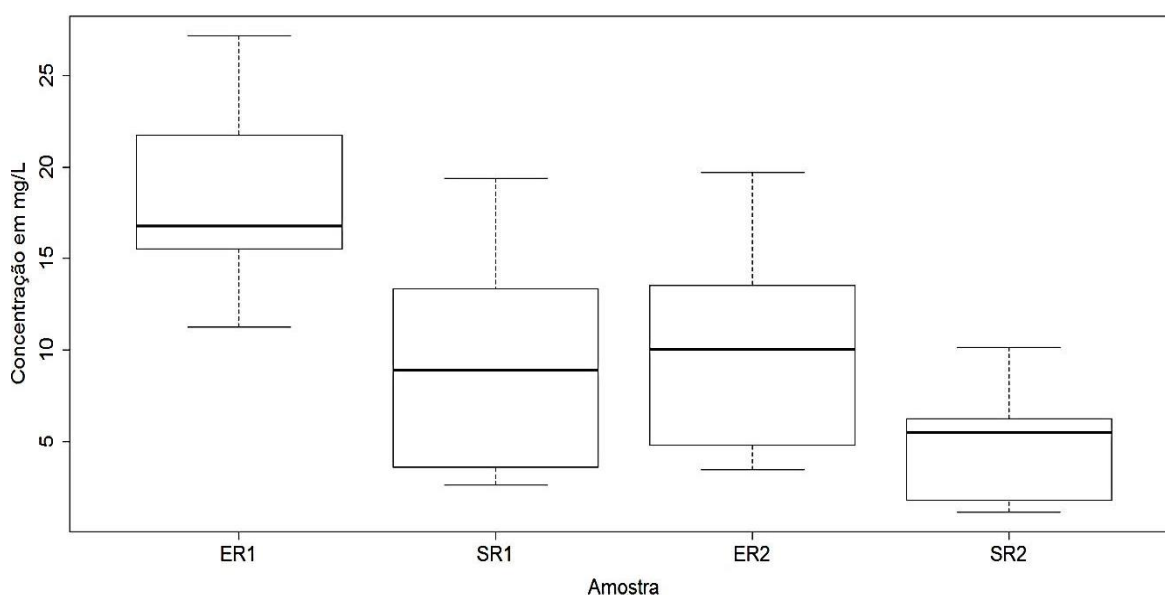
Assim, diante da comparação dos resultados de remoção de corante obtidos nas duas primeiras fases operacionais a sacarose foi novamente utilizada como cossubstrato no tratamento do efluente têxtil em questão (Fase III) na tentativa de obtenção de um efluente com qualidade superior, na concentração de 1g/L no R1, mas em R2, não foi adicionado nenhuma fonte de carbono como um ensaio para verificar se a biomassa removeria DQO e o corante remanescentes do primeiro reator.

Em boa parte dos ciclos, mais precisamente até sétimo ciclo, o comportamento do sistema de reatores se deu de maneira inversa ao ocorrido nas duas fases anteriores de modo que o primeiro reator apresentou desempenho inferior ao segundo, situação

que somente se inverteu a partir do oitavo ciclo, cujas remoções subsequentes se assemelharam às obtidas nas fases anteriores.

A seguir, na Figura 10, estão dispostos os teores do corante Índigo detectados nas amostras dos reatores com biomassa imobilizada de *A. niger* na terceira fase operacional.

Figura 10. Concentração de corante índigo na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase III.



Fonte: Autor (2017).

Nesta fase, a concentração média afluyente de índigo foi de $18,8 \text{ mg/L} \pm 4,5$. Nos dez ciclos operacionais, o sistema de reatores apresentou eficiência média de remoção de $71,1\% \pm 20$, porcentagem que representa concentração média efluente do corante índigo de $4,9 \text{ mg/L} \pm 3,4$.

O primeiro reator apresentou eficiência média de $49,7\% \pm 31$, representando concentração média efluente de $8,6 \text{ mg/L} \pm 4$ do corante índigo. A eficiência máxima deste reator ocorreu no décimo ciclo, de $88,5\%$, ciclo este, com a maior concentração de corante afluyente ao sistema de reatores nesta fase, de $27,2 \text{ mg/L}$, resultando em uma concentração de $1,14 \text{ mg/L}$. É fato que o primeiro reator, nesta fase, foi operado nas mesmas condições da primeira fase, o que deveria representar, experimental e teoricamente, resultados bem próximos, o que não ocorreu, visto que o mesmo apresentou eficiência bem inferior às demais fases.

Este desempenho inferior do reator R1 em relação à Fase I pode ter decorrido da presença de compostos químicos diferentes, ausente da composição da água residuária

utilizada na primeira fase, visto que as características da mesma estão sujeitas às atividades da indústria têxtil, não se tendo condições de identificar esses compostos, que inclusive podem ter variado durante o tempo reacional. Na Tabela 9 (Ver página 45), pode-se observar que a média de DQO dissolvida detectada na água residuária, antes da adição da sacarose, foi superior na Fase III, de 1728,6 de mg O₂/L $\pm$ 500,2, em comparação à Fase I, de 1592,0 mg/L $\pm$ 670,7, inclusive pelo fato de que a concentração mínima detectada na última fase foi 66% maior que a mínima concentração detectada na Fase I (334,3 DQO_{dissolvida} em mg de O₂/L).

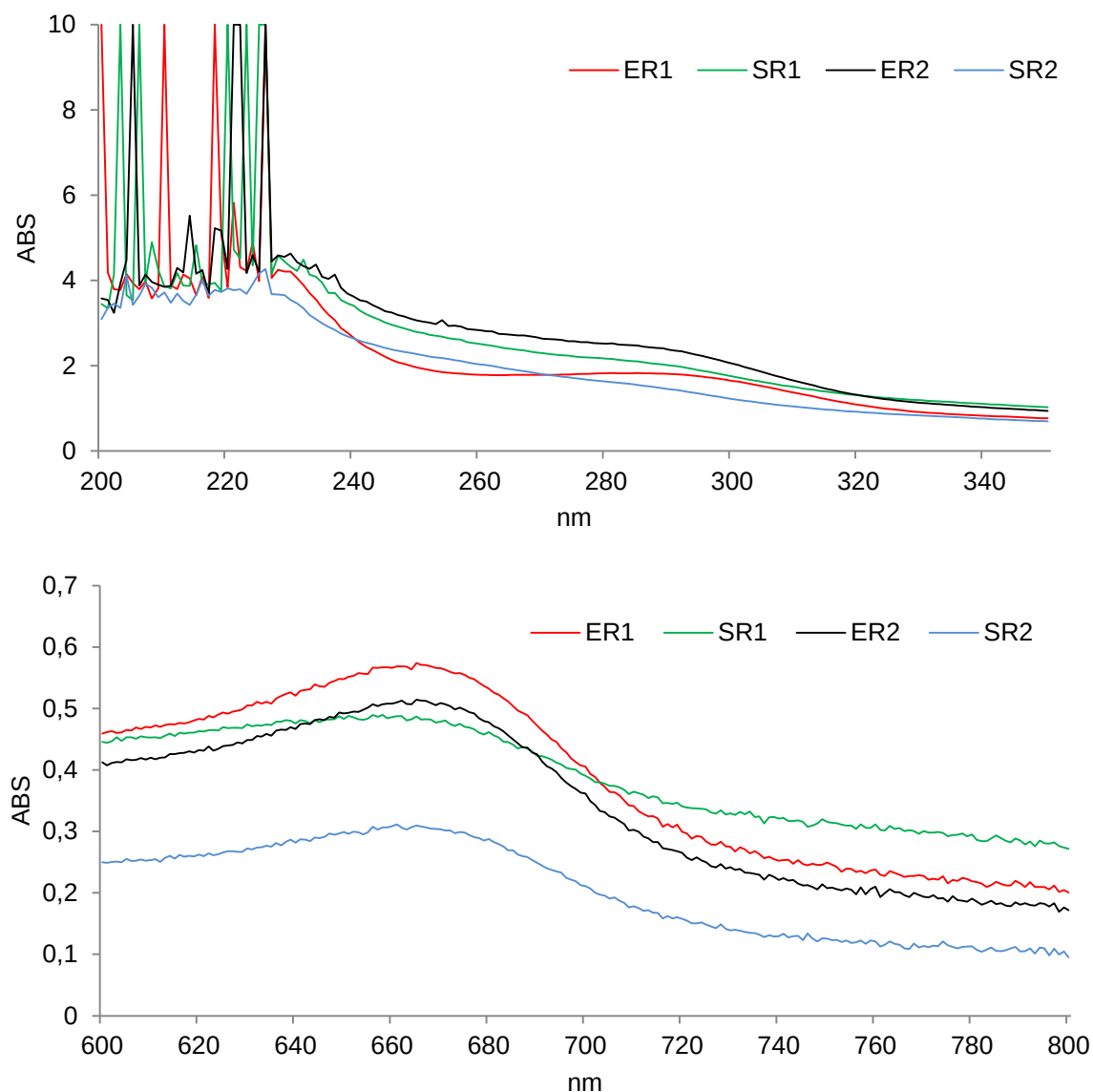
A eficiência baixa apresentada pelo primeiro reator resultou em uma maior disponibilidade de corante no afluente de R2, de modo que neste reator foi registrada eficiência mais constante e superior às alcançadas nas fases anteriores (40% $\pm$ 38 na Fase I e 31% $\pm$ 29 na Fase II), com remoção média de corante de 49,8% $\pm$ 25, representando concentração efluente de 4,9 mg/L $\pm$ 3. A máxima eficiência em R2 foi de 82,7%, quando o efluente final continha 1,2m g/L de corante, no ciclo sete.

Na Figura 11 são apresentadas as bandas apresentadas pelas varreduras das amostras, em dois ciclos, demonstrando os diferentes comportamentos apresentados pelo sistema de reatores na região dos compostos aromáticos (entre 200 e 350 nm) e na região do cromóforo (entre 600 e 800 nm).

Na Figura 11, é possível observar que nesta fase, o reator R1 apresentou comportamento semelhante ao reator R2 nas fases anteriores quanto à remoção de corante, quando, após a passagem por R1, praticamente não houve alteração na qualidade do efluente, enquanto após a passagem por R2, ocorreu uma remoção maior.

Contudo, o comportamento observado na Figura 11 ocorreu somente até o sexto ciclo, quando, a partir do ciclo sete os dois reatores mantiveram eficiência maior de remoção de corante, visto que a eficiência média em relação apenas aos quatro últimos ciclos (7, 8, 9 e 10), chegou a 75% $\pm$ 13 (R1) e a 67,4% $\pm$ 16 (R2). Logo, a remoção de corante média do sistema de reatores seria de 92,3% $\pm$ 3, para estes mesmos ciclos, ocorrendo então, remoção mais elevada em R2, se comparado às fases anteriores. Inclusive, há diminuição acentuada das bandas referentes aos compostos aromáticos, após a passagem por R2, como é possível observar na Figura 12.

Figura 11. Varredura das amostras dos reatores no 4º ciclo da terceira fase.

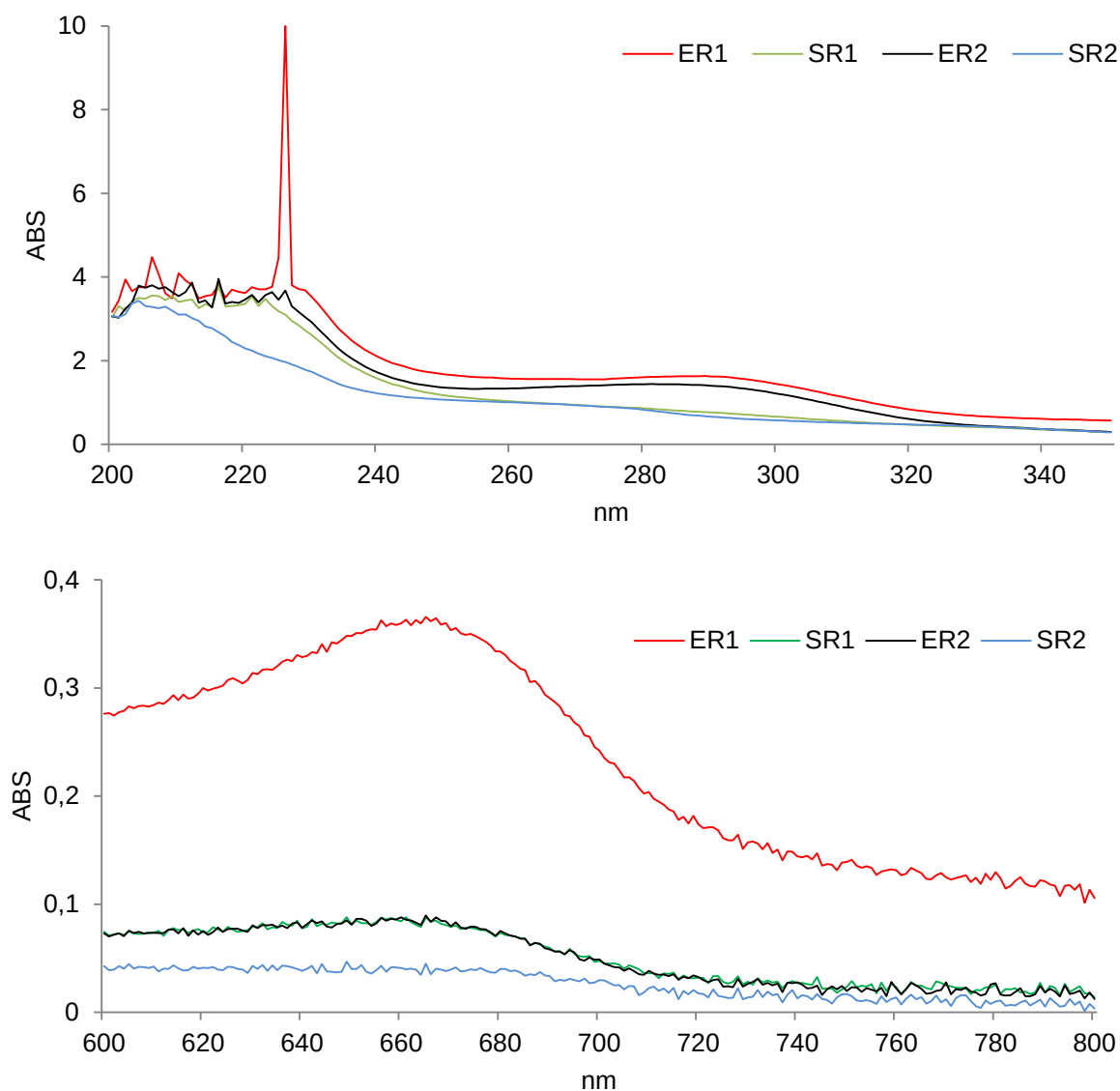


Fonte: Autor (2017).

Diante dos resultados apresentados, os percentuais de remoção de corante do sistema R1 - R2 foram comparados estatisticamente com o auxílio da análise ANOVA. Os resultados da ANOVA indicaram que apenas ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as Fases I e III ($p = 0,0062$). Entretanto, se confrontadas as Fases I e III avaliando os reatores separadamente, é possível observar que na Fase I o segundo reator recebeu uma água residuária com menor teor de subprodutos, bem como uma menor concentração de corante, pelo fato de que o primeiro reator realizou um tratamento mais eficiente, o que pode ser o motivo dos baixos valores de remoção desse reator nessa fase. Desse modo, deve ser considerado o fato de que na Fase III, com um maior aporte

de corante, o segundo reator tinha maior disponibilidade de substrato e consequentemente maior capacidade de remoção em relação as fases anteriores.

Figura 12. Varredura das amostras dos reatores no 9º ciclo da Fase III.

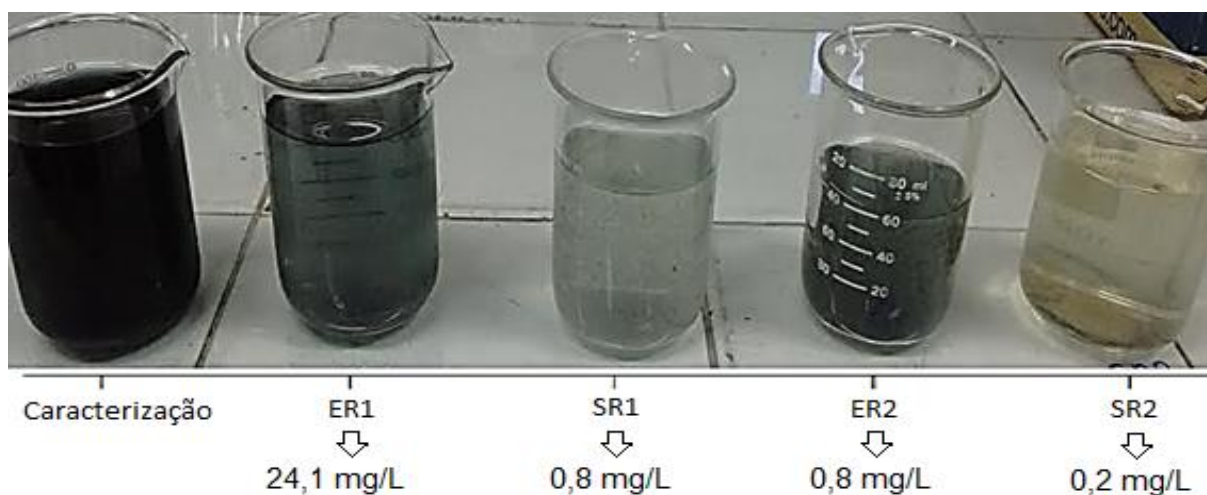


Fonte: Autor (2017).

Avaliando a remoção global de corante na Fase I de $92,5\% \pm 5$ e de $71,1\% \pm 20$ seria razoável afirmar que a primeira fase apresentou as melhores condições o tratamento do efluente têxtil em questão. Contudo, ao considerar que a composição da água residuária têxtil pode ter influenciado a eficiência do primeiro reator na Fase III, e pelo fato de que no segundo não havia fonte de carbono adicional e ainda sim ocorreu remoção de corante do meio, a configuração dessa fase não deve ser desconsiderada. Para tanto, as demais variáveis serão analisadas ao correr do texto.

De acordo com a legislação nacional (BRASIL, 2005), que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, nas águas doces, salinas e salobras, os corantes provenientes de fontes antrópicas devem estar virtualmente ausentes. Apesar da seção que trata sobre o lançamento de efluentes não compartilhar da mesma obrigatoriedade, é importante ressaltar que o efluente final do tratamento proposto neste trabalho encontrou-se virtualmente ausente de cor, como pode ser visto na Figura 13, que apresenta o aspecto visual das amostras nos demais ciclos nas três fases, dentre os quais apresentaram eficiência de remoção de corante após o tratamento em R1 bem como após o tratamento em R2.

Figura 13. Amostras do oitavo ciclo de operação dos reatores em bateladas sequenciais (RBS) em série, na Fase II, e suas respectivas concentrações de corante Índigo.



Fonte: Autor (2017).

Na Tabela 10 são apresentadas as massas relativas ao corante índigo adsorvidas ao suporte e no biofilme após a operação dos reatores, bem como a massa de índigo necessária para saturação da esponja suporte.

Os ensaios de saturação no material suporte indicaram a massa de corante necessária para preencher os vazios do material, representado pelo valor de 4,3 mg por grama de espuma. Considerando as 15 gramas de material suporte utilizados em cada reator, o mesmo teria a capacidade de remover por adsorção 64,6 mg de corante. Assim, após a passagem por R1, 64,6 mg de corante ficaram retidos na esponja e, após a passagem por R2, mais 64,6 mg, resultando em um total de 129,4 mg teoricamente removidos pela adsorção no material suporte.

Tabela 10. Balanço de massa de corante índigo no sistema de reatores R1 e R2.

	Massa de corante aplicada ao longo dos ciclos	Massa de corante removida	Massa de corante adsorvida na esponja	Massa de corante adsorvida na biomassa	Massa de corante removida biologicamente
Fase I	826,2 mg (100%)	769,9 mg (93,2%)	129,4 mg (15,6%)	13,9 mg (1,7%)	626,7 mg (75,8%)
Fase II	503,5 mg (100%)	479,4 mg (95,2%)	129,4 mg (25,7%)	2,7 mg (0,5%)	347,3 mg (68,9%)
Fase III	720,8 mg (100%)	664,4 mg (92,2%)	129,4 mg (17,9%)	8,6 mg (1,2%)	526,4 mg (73,0%)

Fonte: Autor (2017).

Procedendo-se ao balanço de massa de corante índigo no sistema, observou-se que na Fase I, ao decorrer dos dez ciclos operacionais, a massa de corante afluyente a R1 foi de 826,25 mg, sendo a massa de corante remanescente ao fim dos dez ciclos de 56,35 mg, ou seja, o equivalente à uma remoção de 769,9 mg de índigo (93,2% da massa de índigo aplicada no sistema).

Na Fase II, a massa de corante no afluyente dos reatores foi de 503,5 mg ao total dos dez ciclos com uma massa efluyente de 24 mg, diferença correspondente à remoção de 479,44 mg (95,2%).

Na última fase, a massa de corante afluyente foi de 720,8 mg nos dez ciclos operacionais e a remanescente foi de 56,3 mg, o equivalente à uma remoção de corante de 664,4 mg (92,2%).

Deste balanço de massa (Tabela 10), verificou-se que na Fase I, 16,8% da parcela de corante removido ocorreu pela adsorção no material suporte, na Fase II, essa percentagem subiu para 27% e na Fase III essa percentagem foi de 19,5% da remoção total de corante.

Em relação à adsorção de corante na superfície celular, na primeira fase, esta foi de 13,9 mg, ou 1,8% do total removido. Este valor contabiliza a quantidade detectada na biomassa do R1 adicionada à quantidade detectada na biomassa do R2. Na segunda

fase, esse valor foi de 2,7 mg, ou 0,6% do total e na terceira fase a biomassa adsorveu 8,6 mg o que corresponde à 1,3% do total de corante removido.

Portanto, com base nos dados mencionados, pode-se atribuir à maior parcela de remoção do corante à atividade biológica na fase com sacarose de 626,7 mg (81,4%) e na fase com glicose de 347,3, ou 72,4%, bem como na última fase de 526,4 mg (79,2%).

De acordo com Shinde e Thorat (2013), fungos ascomicetos, como é o caso do *Aspergillus*, demonstram capacidade maior de descoloração de corantes em uma faixa de pH com valores mais baixos, meio mais ácido, pois nesta condição, há maior absorção do corante devido à atração eletroestática entre os ânions do corante, de carga negativa, e a superfície celular positivamente carregada. Isso se dá devido ao fato de que, conforme ocorre o aumento do pH, o número de sítios carregados negativamente aumenta, diminuindo os espaços carregados positivamente e, consequentemente, reduzindo a adsorção do corante devido à repulsão eletroestática (DEBRASSI, LARGURA e RODRIGUES, 2011).

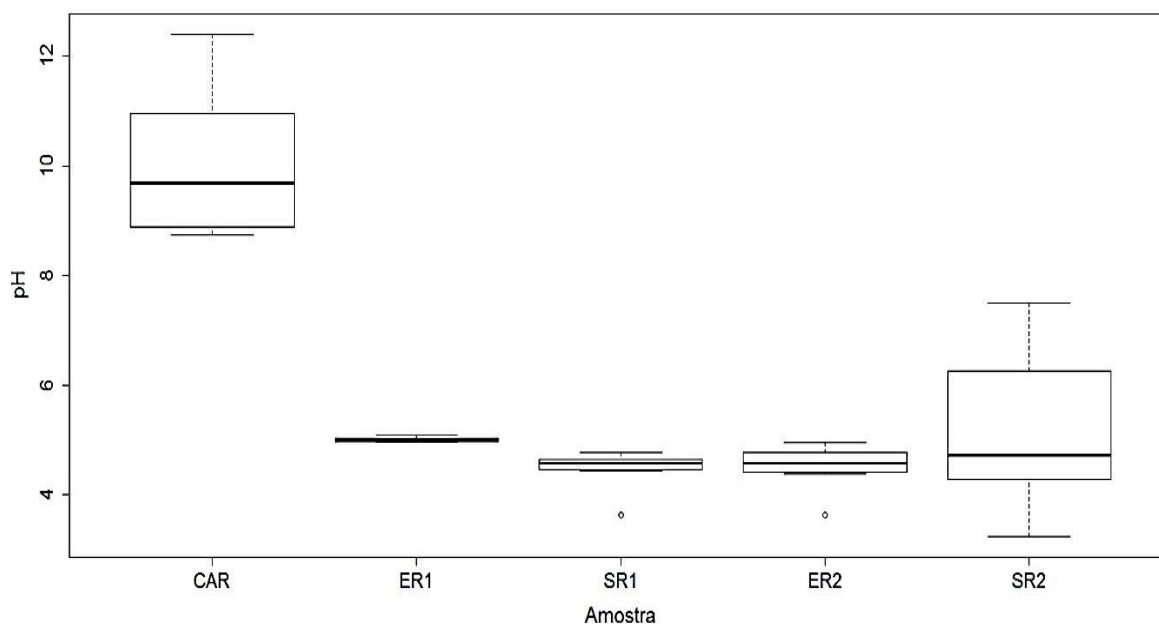
Portanto, é possível inferir que o pH mais elevado nos efluentes dos reatores na Fase II ($6,6 \pm 1,3$) em comparação à Fase I ($5,2 \pm 1,4$), também influenciou negativamente a descolorização da água residuária na segunda fase. Na Fase III, o pH efluente médio foi de $6,3 \pm 1,1$, com um percentual de remoção de corante entre os registrados nas duas primeiras fases. Os valores de pH estão representados nas Figuras 14, 15 e 16.

Em cinco dos dez ciclos realizados na Fase I, o pH final do sistema se apresentou dentro do padrão de lançamento de efluentes estabelecido pela legislação federal, entre 5 e 9 (BRASIL, 2011), foram estes os ciclos 3, 4, 5, 6 e 7.

Entretanto, a média global do sistema foi de $5,2 \pm 1,4$, ou seja, nos demais ciclos, os valores de pH ficaram próximos do mínimo, estabelecido na Resolução 430/2011, sendo que mesmo assim, seria necessário ajuste pequeno do pH para lançamento do mesmo, tanto na rede coletora do sistema de tratamento de efluentes quanto diretamente no corpo hídrico receptor.

Na Figura 14 são demonstrados os valores de pH obtidos nas análises das amostras do sistema de reatores na primeira fase.

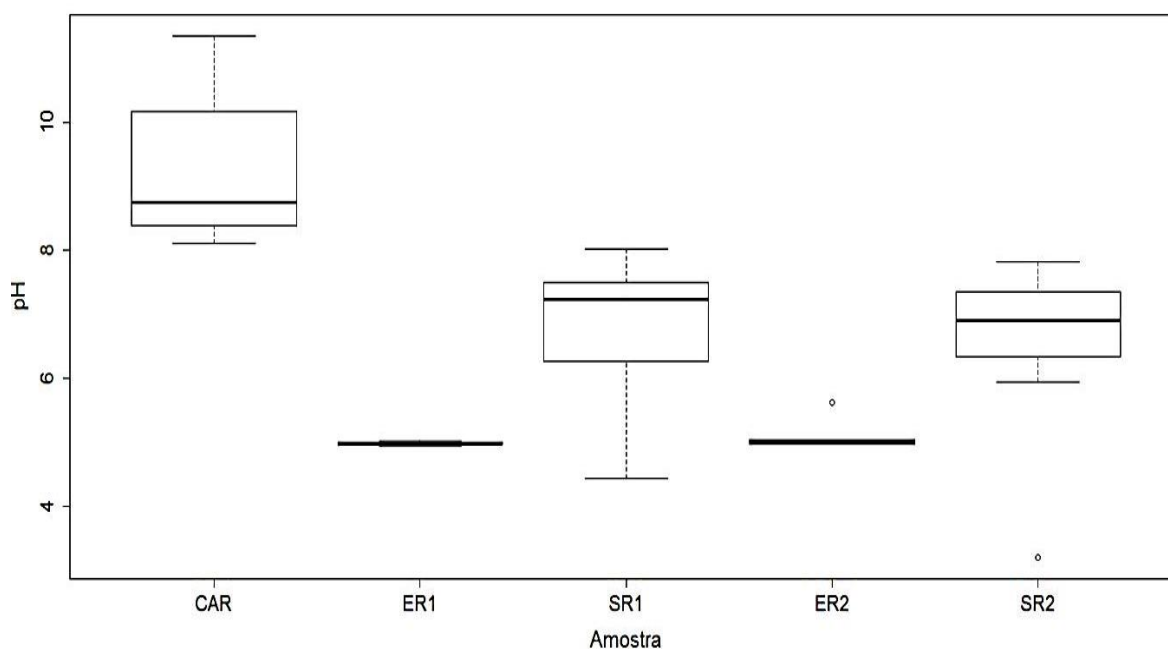
Figura 14. Valores de pH detectados nos reatores em série operados na Fase I.



Fonte: Autor (2017).

Quanto à Fase II, os valores de pH estão discriminados na Figura 15.

Figura 15. Valores de pH detectados na Fase II



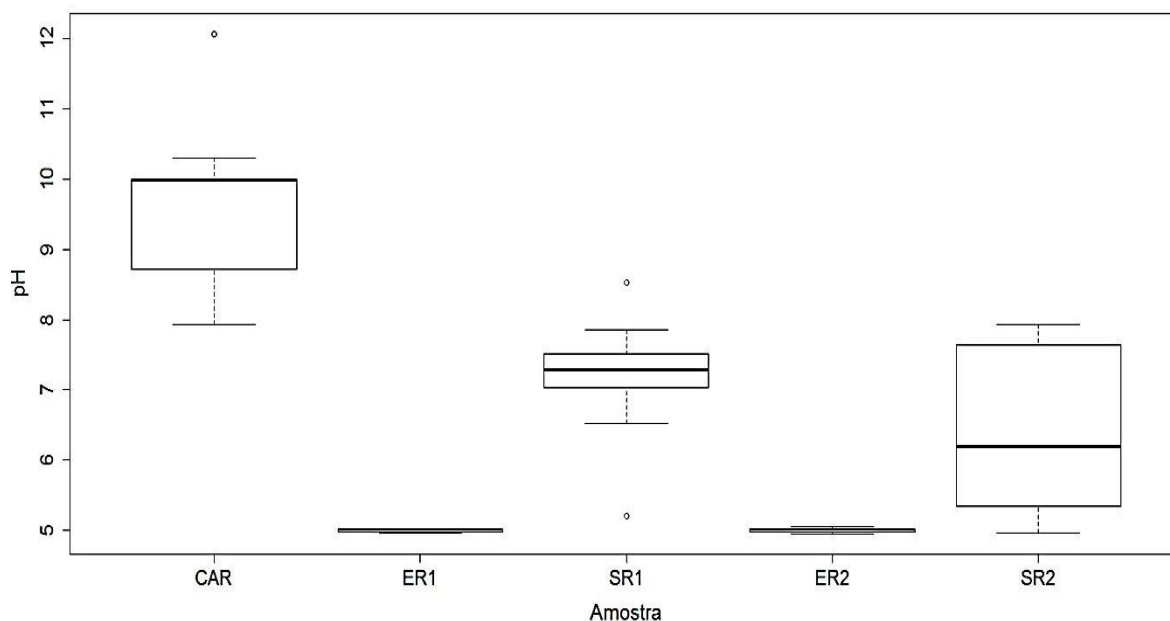
Fonte: Autor (2017).

Diferente da Fase I, nesta fase operacional todos os ciclos, exceto o primeiro (pH 4,43 em R1 e 3,2 em R2), apresentaram valores atendendo o padrão de lançamento, tanto após a passagem em R1 quanto em R2, com valor médio final de $6,6 \pm 1,3$.

Na Fase III, no R1 foram detectados valores de pH dentro dos padrões de lançamento em todos os ciclos operacionais com uma média de $7,2 \pm 1$. Após a passagem pelo segundo reator essa média foi de $6,3 \pm 1$, sendo que apenas no sétimo ciclo o pH ficou abaixo do padrão, entretanto com um valor bem próximo do mesmo, de 4,9. Sendo importante ressaltar que o sétimo ciclo foi o mesmo em que ocorreu a mudança no comportamento dos reatores nesta fase, com um acréscimo na eficiência de remoção do corante, sendo que nesses quatro últimos ciclos a média do pH efluente dos reatores que era de $6,7 \pm 1$ nos seis primeiros ciclos passou a ser de $5,7 \pm 0,6$ nos quatro últimos ciclos, reforçando a influência do pH na capacidade dos reatores biológicos de remoção de corante.

Os valores de pH das amostras da Fase III estão discriminados na Figura 16.

Figura 16. Valores de pH detectados na terceira Fase operacional.

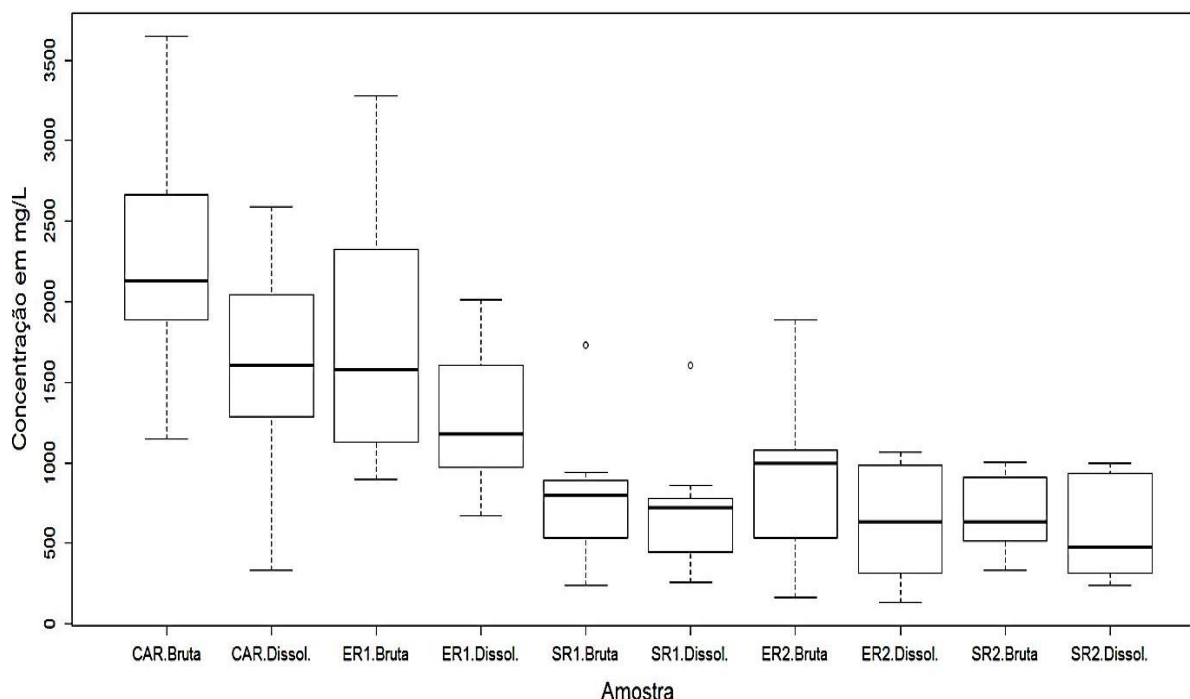


Fonte: Autor (2017).

As determinações de DQO, realizadas no afluente e efluente dos reatores R1 e R2, durante a operação dos reatores na primeira fase, são mostradas na Figura 17.

Nesta fase, o R1 alcançou remoção média de $58\% \pm 23$ da fração total de matéria orgânica, medida em DQO ($\text{mg O}_2/\text{L}$), e $50\% \pm 30$ da parcela solúvel. A mínima eficiência obtida neste reator foi de 14%, no ciclo nove, para a DQO total e nenhuma remoção de DQO dissolvida. A máxima remoção total foi de 92% no oitavo ciclo e para solúvel foi de 91%.

Figura 17. Concentração de DQO ($\text{mg O}_2/\text{L}$) nas amostras dos reatores na Fase I.



Fonte: Autor (2017).

O segundo reator teve desempenho inferior, chegando a não se registrar remoção de DQO em cinco dos dez ciclos realizados (1º, 2º, 3º, 8º e 10º). A eficiência média foi de $26\% \pm 27$ e de $27\% \pm 32$, para DQO total e dissolvida, respectivamente, resultando em uma concentração final média de DQO de $656,2 \text{ mg O}_2/\text{L} \pm 242$ e de $551,6 \text{ mg O}_2/\text{L} \pm 293$, na mesma ordem. Nesse reator, a máxima remoção ocorreu no quarto ciclo (64% ou $350,9 \text{ mg O}_2/\text{L}$ efluente) quanto à parcela total e de 71% (ou $241,5 \text{ mg O}_2/\text{L}$ efluente) quanto à parcela dissolvida, no quinto ciclo.

De acordo com a legislação que estabelece os padrões de despejo de efluentes líquidos em corpos hídricos, após tratamento, deve-se atender ao teor máximo de DQO total de $200 \text{ mg O}_2/\text{L}$ (CEARÁ, 2002). Desse modo, em nenhuma das fases, em nenhum dos ciclos foram obtidos teores dentro da recomendação legal.

Uma justificativa para o fato dos reatores, em alguns ciclos de ambas as fases, terem atingido eficiência de remoção de DQO inferior à remoção do corante pode ser a presença de subprodutos oriundos da biodegradação do corante índigo, como o isatin (indole-2,3-dione), o qual subsequentemente se decompõe em ácido antranílico (2-ácido aminobenzóico), mediante a processo enzimático baseado na oxidação de substratos (como a sacarose e a glicose) envolvendo a redução do oxigênio molecular (MONTAZER e MARYAN, 2010; CAMPOS, *et al.*, 2001), de modo que estes

subprodutos são contabilizados nas análises de determinação de DQO. Além disso, a presença dos mesmos pode ter inibido a capacidade de remoção de corante e DQO da água residuária pelos micro-organismos no segundo reator.

Assim, ainda na Fase I, o reator R1 apresentou máxima concentração efluente de 1727,8 mg O₂/L (DQO_{Total}) e de 1604,4 mg O₂/L de DQO dissolvida no ciclo três. Já a concentração mínima foi registrada no primeiro ciclo, de 239,8 e 257,4 mg O₂/L, para DQO total e DQO dissolvida, respectivamente. De modo que, a concentração média efluente deste reator foi de 785,2 mg O₂/L $\pm$ 399 para DQO total e 709,5 mg O₂/L $\pm$ 368 para a dissolvida. Em R2, a média efluente foi de 653,4 mg O₂/L $\pm$ 239 para a DQO total e de 554,5 mg O₂/L $\pm$ 297,8, com máxima de 1003,6 mg O₂/L e 1000,1 mg O₂/L, no ciclo dez e mínima total de 334,7 mg O₂/L no primeiro ciclo e dissolvida de 241,6 mgO₂/L no quinto ciclo operacional.

Na Fase II, a eficiência média de remoção de DQO do sistema de reatores foi 36% $\pm$ 18 quanto à fração total de DQO e 43% $\pm$ 20 quanto à fração dissolvida no efluente.

No Reator 1 (referente à Fase II), essa média de 61% $\pm$ 25 (fração total) e de 70% $\pm$ 22 (fração dissolvida). Este reator apresentou eficiência máxima no ciclo 10 – 94% e 97%, total e dissolvida, respectivamente –, quando o efluente do mesmo apresentou 96,45 mg O₂/L de DQO total e 43,74 mg O₂/L de DQO dissolvida. Já no segundo ciclo operacional houve a menor porcentagem de remoção em R1, de 9% e 25%, quando o efluente ao primeiro reator apresentou 1159,2 mg O₂/L e 1018,62 mg O₂/L para as frações total e solúvel, respectivamente.

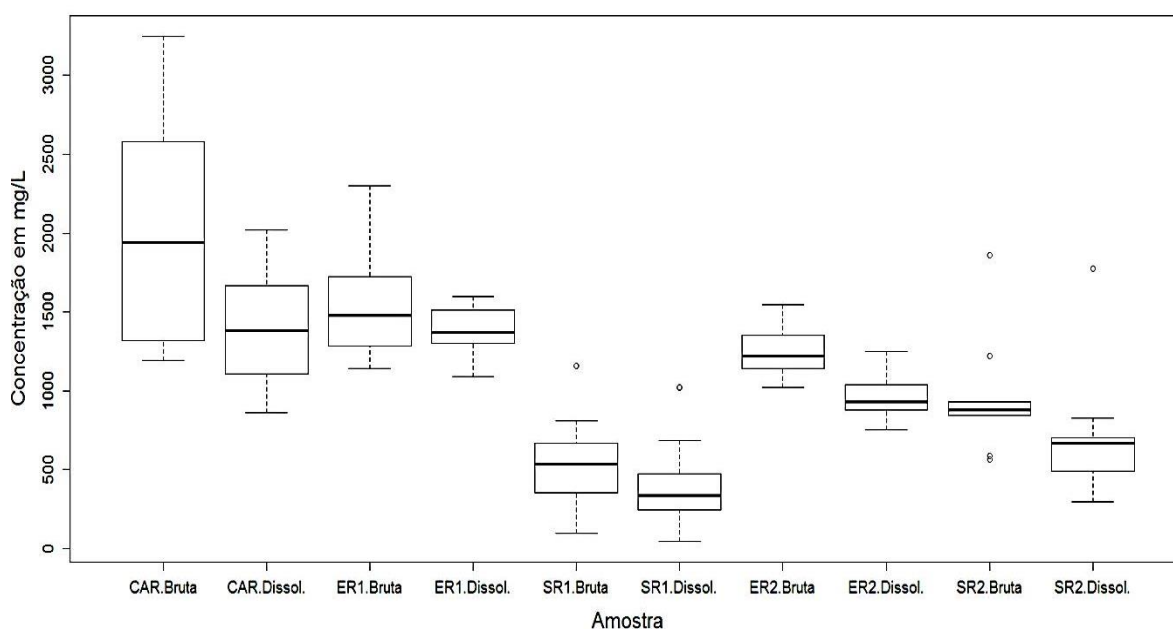
Pode-se observar, na Figura 18, que o reator R2 apresentou capacidade de remoção de DQO inferior ao primeiro reator, até mesmo nos ciclos em que nenhuma eficiência foi alcançada, assim como ocorreu na primeira fase do estudo em questão. Desta forma, R2 atingiu média de remoção de 28% $\pm$ 15, quando a análise foi realizada com a amostra bruta, e de 34% $\pm$ 22 para a amostra filtrada.

Em um estudo realizado, em 2010, por Sastoque e Chisino, foi avaliada a descoloração do corante índigo em água residuária sintética, na concentração de 160 mg/L, mediante uso do fungo da podridão branca *Pleurotus ostreatus*, com adição de glicose como cossubstrato e foram obtidas varreduras semelhantes às apresentadas na Fase II, após a passagem por R2.

Ao realizar a varredura das amostras para a confirmação da degradação do corante, aqueles autores observaram que, ao longo das 24 h de retenção, a banda de

absorção característica do índigo, localizada entre 600 e 700 nm, foi reduzida simultaneamente, ao passo que apareceram diversas bandas na faixa ultravioleta. Sastoque e Chisino (2010) reportaram que houve a transformação do corante em novos produtos, dentre os quais o isatin, que possui sua banda no comprimento de onda em 235 nm, bem como o ácido antranílico, cuja absorção ocorre no comprimento de onda próximo à 240 nm, também próximo ao ácido pícrico. Além disso, compostos mais simples podem ainda ser produzidos seguindo a rota de degradação do índigo, como o ácido pírco e a anilina (CAMPOS *et al.*, 2001).

Figura 18. Concentração de DQO ($\text{mg O}_2/\text{L}$) no afluente e efluente dos reatores na Fase II.



Fonte: Autor (2017).

Conforme a Figura 19, a concentração máxima efluente ao sistema foi no primeiro ciclo, de 3576,9 $\text{mg O}_2/\text{L}$ em relação à DQO total e de 1519,3 $\text{mg O}_2/\text{L}$ para a DQO dissolvida, e esses teores diminuíram ao correr dos ciclos operacionais, de modo que as médias dos ciclos foram 936,8 $\text{mg O}_2/\text{L}$ em relação à DQO total ± 939 e 656,5 $\text{mg O}_2/\text{L}$ para a DQO dissolvida ± 331 , representando eficiência de 62,2% ± 22 e 66,6% ± 18 para as amostras brutas e filtradas, respectivamente. Desse modo, na Fase III, o sistema de reatores R1 – R2 também não atingiu a eficiência de remoção de DQO exigida pela legislação estadual.

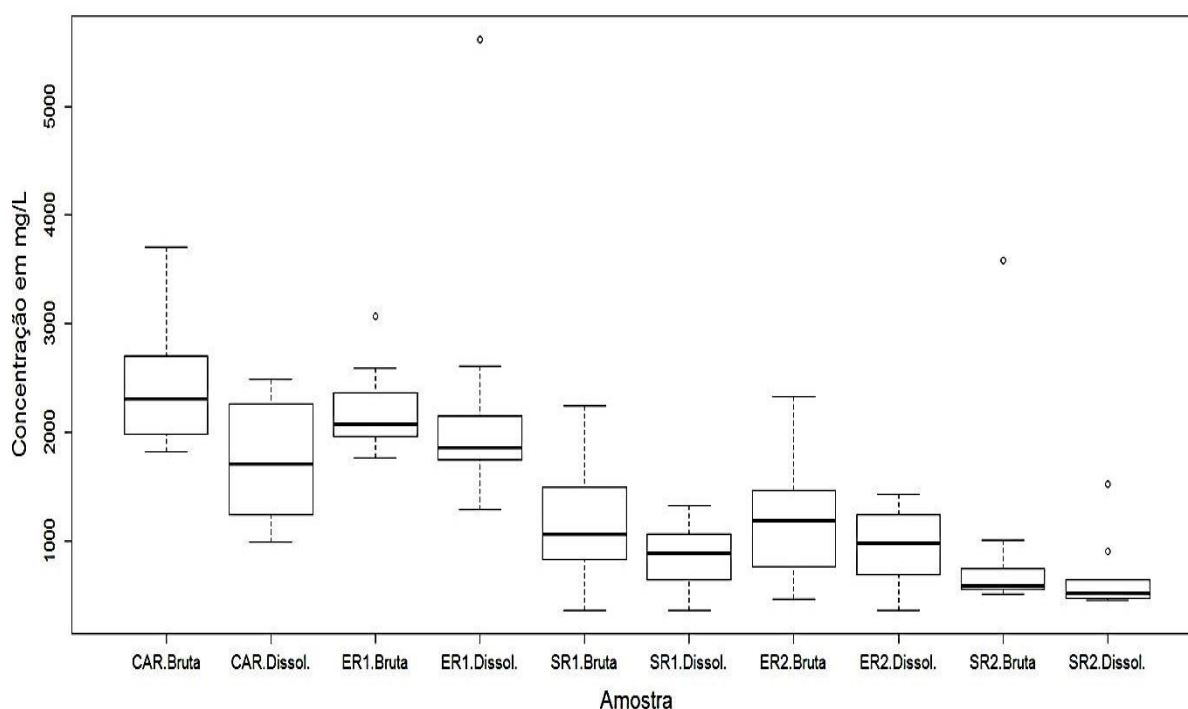
Porém, é importante uma avaliação mais isolada de cada reator. Observou-se que R1 apresentou média de remoção de 46,5% ± 25 de DQO total e de 56% ± 26 de DQO

dissolvida, o equivalente à uma concentração efluente média de $1172,7 \text{ mg O}_2/\text{L} \pm 548$ e de $826,8 \text{ mg O}_2/\text{L} \pm 324$, na mesma ordenação. Essas eficiências médias de remoção aumentaram para $55,8\% \pm 23$ ($\text{DQO}_{\text{total}}$) e $59,3\% \pm 25$ ($\text{DQO}_{\text{dissolvida}}$), se consideramos apenas os quatro últimos ciclos, quando esse reator passou a apresentar uma melhor remoção de corante, como supracitado e representados nas Figura 11 e Figura 12.

No segundo reator essa diferença praticamente não existiu, de modo que o mesmo apresentou uma média de $39,3\% \pm 24$ e de $34,5\% \pm 24$ para DQO total e dissolvida, com oscilações de eficiência. Porém, quando forem reportadas as eficiências médias após a passagem pelos dois reatores, verificou-se que essa diferença foi maior, pois as mesmas passaram a ser de $73,4\% \pm 3$ ($\text{DQO}_{\text{total}}$) e $74\% \pm 3$ ($\text{DQO}_{\text{dissolvida}}$), nos quatro últimos ciclos.

Apesar das eficiências médias do sistema de reatores nesta fase serem superiores às obtidas nas demais fases, a concentração média afluenta aos reatores nesta fase foi superior ao afluenta nas demais fases, de modo que, a concentração mínima efluente foi de $449,4 \text{ mg O}_2/\text{L}$ de DQO dissolvida no ciclo nove, ciclo este que pode ser observado na varredura das amostras, na Figura 12.

Figura 19. Concentração de DQO ($\text{mg O}_2/\text{L}$) no afluenta e efluente dos reatores em bateladas sequenciais R1 e R2, com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger*, na Fase III.



Fonte: Autor (2017).

Os resultados do teste ANOVA confirmaram que a remoção de DQO dissolvida, onde se inclui corante e seus subprodutos, entre outros, que a adição de glicose (Fase II) se diferiu estatisticamente das Fases I ($p= 0,0055$) e III ($p= 0,0049$), quando o cossustrato foi a sacarose. De modo que, quando confrontas as fases I e III não houve diferença significativa nas eficiências de remoção entre as duas fases ($p= 0,4476$).

A partir da análise dos dados de nitrato, forma mais oxidada do nitrogênio no meio, nas condições de operação da fase inicial, verificou-se que média de remoção do sistema nos dez ciclos foi de $61\% \pm 42$, dos quais em dois não ocorreu remoção deste ânion (1º e 4º ciclo).

Tratando-se dos reatores separadamente, ambos obtiveram eficiência inferior à alcançada pelo sistema como todo ($61\% \pm 42$), ou seja, pela ação em série de R1 e R2, sendo as mesmas de $58\% \pm 33$ e $34\% \pm 39$, respectivamente.

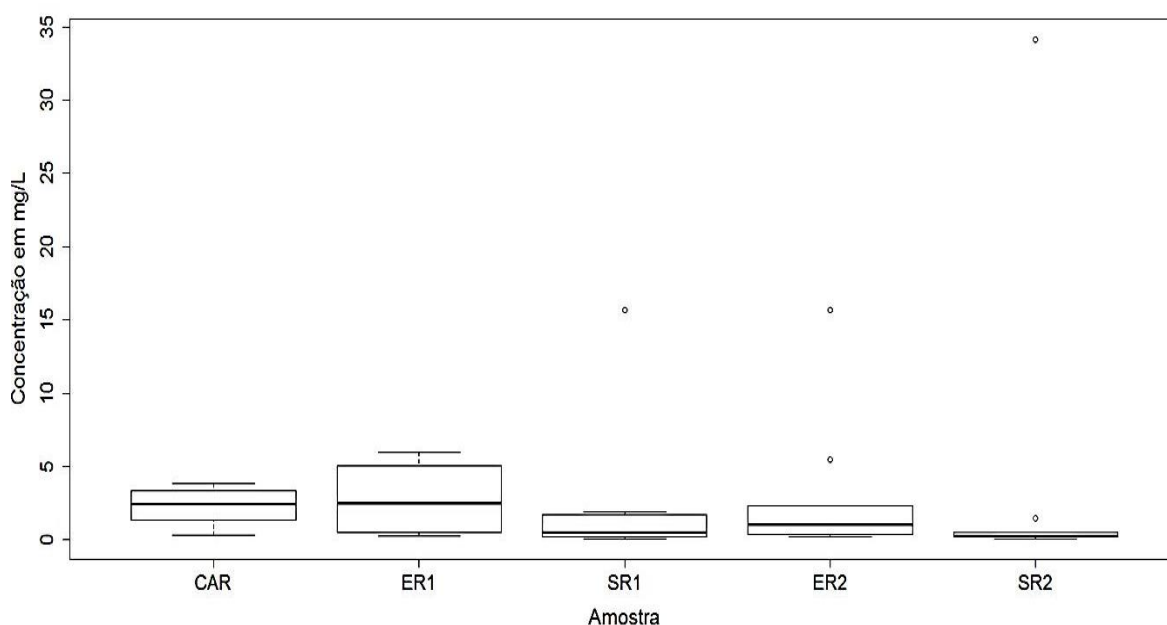
As concentrações de nitrato no afluente e efluente do reator na Fase I estão apresentadas na Figura 20. Na verdade, observou-se que no 1º e 4º ciclos houve produção de nitrato no meio, tanto após a passagem pelo primeiro reator, quanto a passagem pelo segundo, chegando às concentrações de 34,1 mg/L e 1,4 mg/L no efluente final, respectivamente, para o 1º e 4º ciclo. Essa produção de nitrato poderia ser resultado do processo de nitrificação, no qual o nitrogênio amoniacal é oxidado à nitrito, e subsequentemente à nitrato, uma vez que comunidade bacteriana estava presente no reator (JOHN, NTINO e ESSIEN, 2016), sendo oriunda da própria água residuária *in natura*.

Contudo, esse comportamento foi pontual nos ciclos um e quatro, tendo nos demais ciclos, ocorrido remoção do nitrato do meio. Além disso, é inerente ao próprio metabolismo fúngico períodos de acumulação de nitrato e de nitrogênio amoniacal, como reflexo da necessidade de assimilação de amônio, a qual é regulada por fatores como homeostase celular e a velocidade das reações catabólicas e de síntese (GRIFFIN, 1994; TAKASAKI, *et al.*, 2004).

O metabolismo fúngico em relação ao nitrogênio é regulado por um complexo de enzimas e tem como ponto de partida o amônio que é a fonte preferencial juntamente com a glutamina. Caso estes não estejam disponíveis, essas enzimas agirão sobre compostos secundários como o nitrato inorgânico, cujo transporte para o interior das células se dá pela permease do nitrato, ocorrendo, em seguida, sua conversão à nitrito pela enzima *nitrato redutase*, e posteriormente, a ação de outra enzima, a *nitrito redutase*, que transforma nitrito em amônio (PEREIRA, *et al.*, 2003; HAQ, *et al.*, 2005).

Os filamentosos como o *Aspergillus niger*, são capazes utilizar uma série de compostos nitrogenados, de modo que podem ocorrer simultaneamente a permease do nitrato, mesmo na presença de amônio no meio (TAKASAKI *et al.*, 2004). Neste trabalho, o mecanismo de permease do nitrato provavelmente foi o responsável pela remoção deste íon no meio, com os reatores alcançando maior eficiência de remoção do íon nitrato em ambas as fases operacionais, em comparação com a assimilação de nitrogênio amoniacal presente no meio (Figuras 26, 27 e 28)

Figura 20. Concentração de nitrato na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase I.



Fonte: Autor (2017).

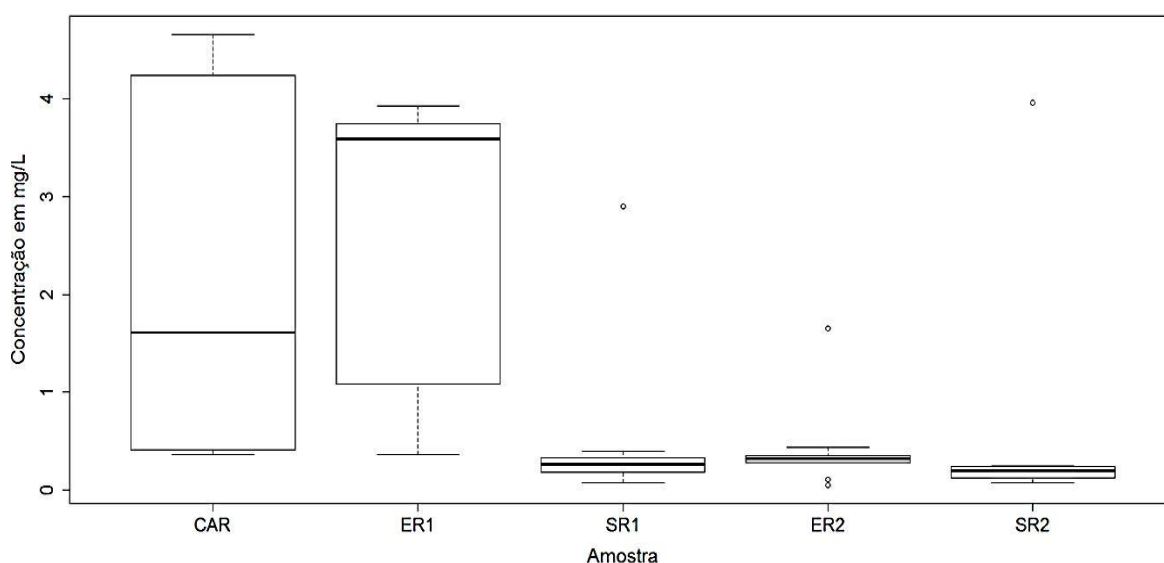
Embora tenha sido observada instabilidade do sistema na Fase I quanto à remoção de nitrato, este apresentou concentração final média de 3,7 mg/L, sendo sua concentração máxima detectada no quarto ciclo, a segunda maior do sistema, ou seja, bem distante da maior concentração (34,1 mg/L), que assim como discutido em outros tópicos deste estudo, por ter ocorrido no primeiro ciclo, pode ter se dado pela adaptação dos reatores à água residuária empregada.

Com respeito à Fase II, houve maior estabilidade se comparada à Fase I no tocante à remoção do nitrato. O sistema atingiu remoção máxima deste íon no último ciclo reacional, de 96%, quando R1 removeu 95% do nitrato afluente e o reator R2 removeu 56% do nitrato remanescente do reator antecedente, sendo estes percentuais os

picos de eficiência registrados nesta fase de operação, resultando em uma concentração final de 0,12 mg/L.

Apesar de o último ciclo ter sido o responsável pela maior porcentagem de remoção de nitrato, este não foi o menor teor de nitrato detectado nesta fase, o que ocorreu no terceiro ciclo, cuja concentração de nitrato remanescente foi de 0,079 mg/L (Figura 21).

Figura 21. Concentração de nitrato na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase II.



Fonte: Autor (2017).

A eficiência média do sistema de reatores foi de $83\% \pm 29$, representando concentração média de nitrato de $0,55 \text{ mg/L} \pm 1,3$ no efluente final, após R2, valor bem inferior ao registrado na fase precedente, de 3,7 mg/L.

Analisando-se separadamente cada reator, foram obtidas as médias de remoção de $81\% \pm 28$ e $30\% \pm 19$, para R1 e R2, respectivamente. Apenas no 1º ciclo do primeiro reator houve produção de nitrato, o que também foi observado no 1º e 3º ciclo do segundo reator, fato que corroborou para sua menor estabilidade.

Quanto à Fase III, com uma concentração afluente média de nitrato de $2,38 \text{ mg/L} \pm 0,9$, um valor com bastante proximidade aos detectados nas demais fases, a eficiência total de remoção nos dez ciclos foi de $87\% \pm 31$, representando uma concentração efluente média de $2,4 \text{ mg/L} \pm 7,3$. Esse elevado desvio padrão se deve ao primeiro ciclo, representado pelos *outliers* da Figura 22, comportamento dos reatores similar ao ocorrido nas Fases I e II. De modo que, se o mesmo foi desprezado, a

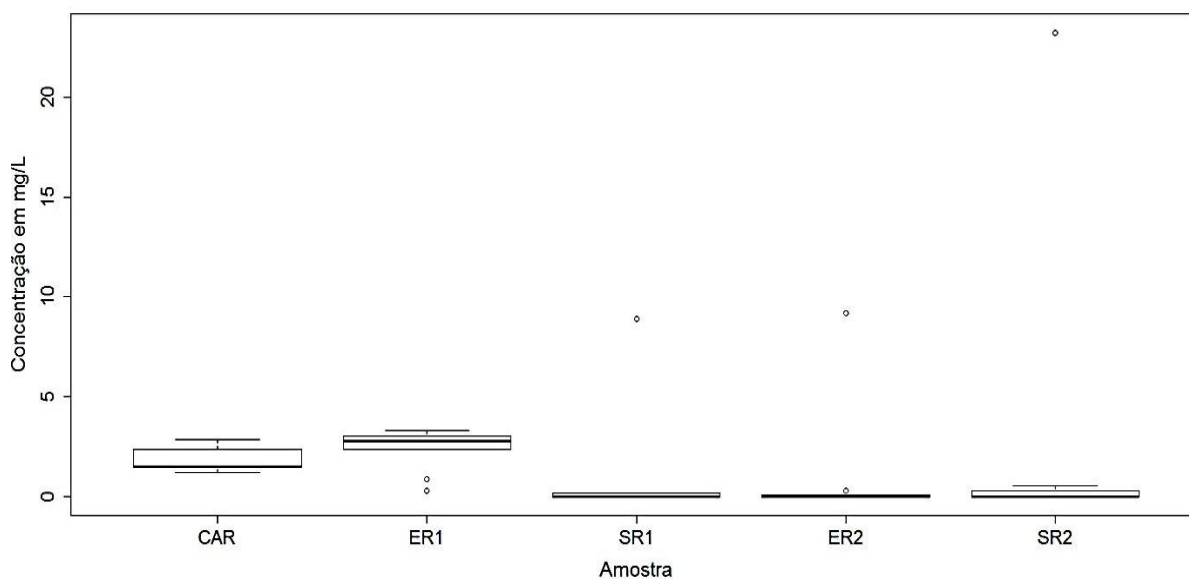
eficiência média dos nove demais ciclos passa a ser $96,7 \pm 6,6$ ou concentração média efluente de $0,09 \text{ mg/L} \pm 0,2$.

Nesta Fase, o reator R1, apresentou uma maior estabilidade em relação à R2, com eficiência de remoção em todos os ciclos, excetuando-se o primeiro, enquanto em R2 a eficiência de remoção foi de $40\% \pm 51$.

Assim, conquanto a Fase III tenha apresentado maior estabilidade e capacidade de remoção de nitrato em relação à Fase I, a Fase dois ainda se destacou quanto à assimilação da forma mais oxidada de nitrogênio no meio.

Para a fração oxidada na forma de NO_2^- , quando o sistema de reatores utilizou sacarose como fonte de carbono de fácil assimilação (Fase I), a remoção média foi de $88\% \pm 11$, com mínima remoção no 5º ciclo, de 62%, resultando em uma concentração final de $0,17 \text{ mg/L}$. Já a máxima remoção se deu no 7º ciclo, quando houve a total assimilação desta fração do nitrogênio no meio.

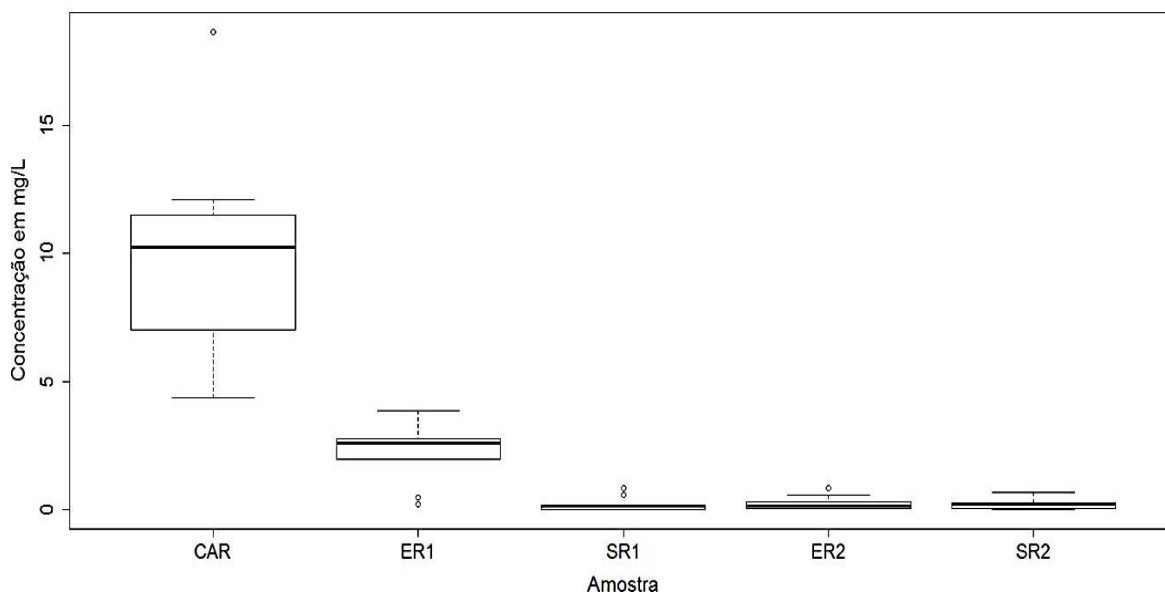
Figura 22. Teores de nitrato detectados nas amostras dos reatores em série na terceira fase de operação.



Fonte: Autor (2017).

Como é possível observar na Figura 23, o reator R1 atingiu eficiência média de remoção do íon nitrito de $82\% \pm 32$, removendo totalmente o íon em questão nos ciclos quatro e cinco. No 1º ciclo não foi observada remoção de nitrito.

Figura 23. Concentração do íon nitrito na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2, ao longo da operação na Fase I.



Fonte: Autor (2017).

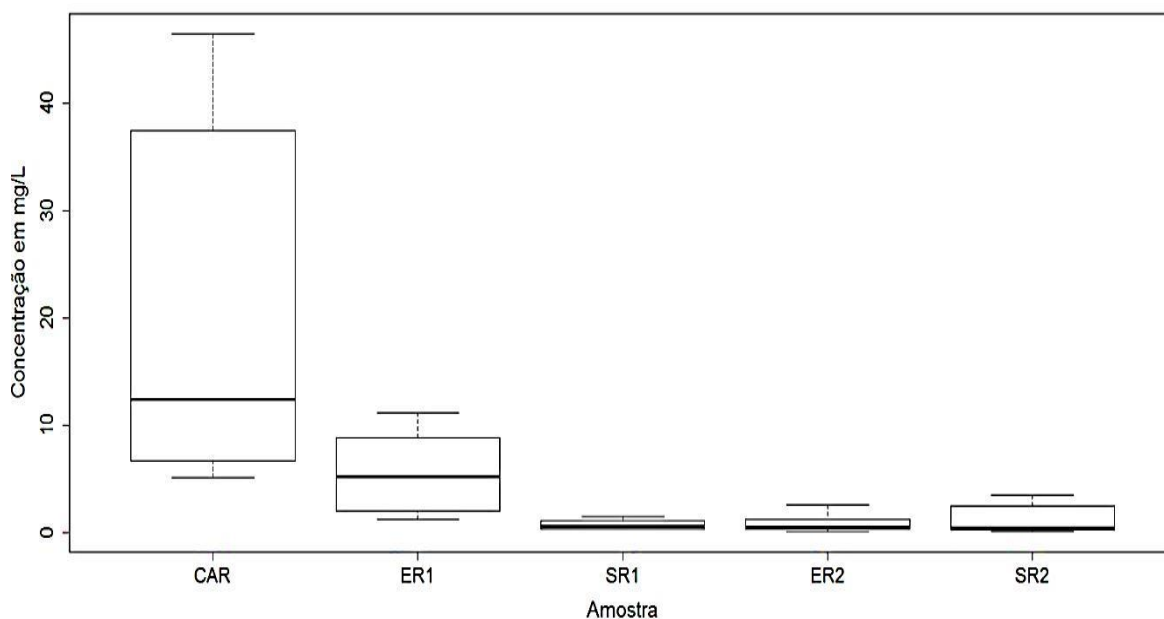
Ainda na Figura 23 estão discriminadas as concentrações de nitrito nas amostras do segundo reator, onde se verificou que, com uma entrada com concentrações bem inferiores ao primeiro reator, a capacidade de remoção do mesmo foi também inferior. O reator apresentou então média de $28\% \pm 39$, sendo que em quatro (1º, 2º, 5º e 8º) dos dez ciclos não houve remoção do composto avaliado neste tópico, chegando à 100% de remoção no sétimo ciclo, quando o sistema apresentou comportamento similar.

Na Figura 24 são mostradas as concentrações de nitrito detectadas nas amostras dos dez ciclos acionados na segunda fase. O sistema não foi capaz de remover este composto em três ciclos, sendo estes os ciclos um, dois e cinco, apresentando assim uma média de $61\% \pm 44$, chegando à 98,7% no 8º ciclo, o qual resultou em uma concentração final de 0,11 mg/L, a menor obtida pelo sistema. A máxima concentração resultante do tratamento foi de 3,5 mg/L, no 4º ciclo.

A média de remoção de $65\% \pm 25$ foi obtida pelo primeiro reator nesta fase, com máxima no ciclo oito de 95% e no primeiro ciclo, mínima de 26%. O R2 obteve eficiência apenas em quatro dos dez ciclos operacionais, resultando em uma média de $15\% \pm 22$ e eficiência máxima de 66%, assim como o primeiro reator, no ciclo oito. Diante disso, na Fase II, a remoção de nitrito pelo sistema foi inferior e mais instável se comparada à fase anterior.

Essa instabilidade pode ser justificada pelo fato do nitrito ser uma forma intermediária no mecanismo de conversão de nitrato a amônio, que é a forma diretamente utilizada nas reações de síntese juntamente com glutamato e glutamina (PAPAGIANNI, WAYMAN e MATTEY, 2005). Na permease do nitrato, o nitrito, produzido pela ação da enzima *nitrato redutase*, é rapidamente convertido a amônio pela enzima *nitrito redutase*, sendo que esta reação ocorre de forma constante no meio (PÁDUA e FERREIRA, 2006). Na ausência de tais compostos e/ou por necessidade ou habilidade da espécie, outras fontes de nitrogênio são utilizadas, como nitrato, aminas e purinas, ação que dependerá de fatores com espécie, concentração e disponibilidade de amônio, dentre outros (MARZLUF, *et al.*, 1997).

Figura 24. Concentração do íon nitrito na água residuária e na entrada e saída dos reatores RBS em série, R1 e R2, ao longo da Fase II.



Fonte: Autor (2017).

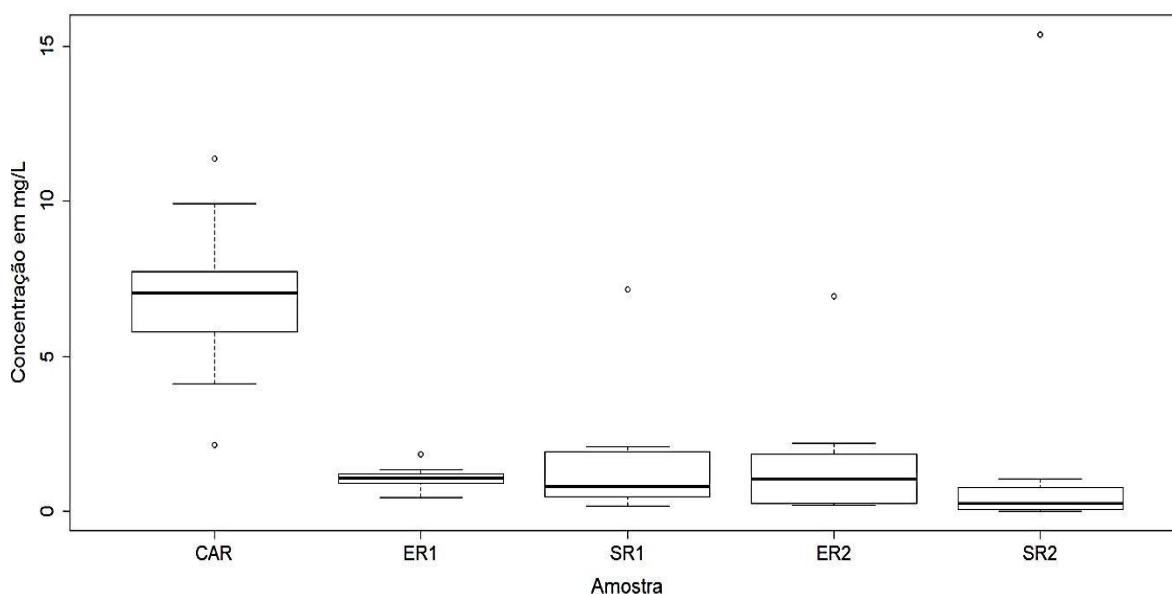
Nessas condições, a Fase III apresentou resultados de remoção de nitrito similares à fase anterior, de modo que, com uma média afluente de $6,9 \text{ mg/L} \pm 3$, a eficiência de remoção dos reatores foi de $62,4\% \pm 29$, atingindo remoção total de nitrito nos ciclos oito e dez e nenhuma remoção no ciclo primeiro, representando uma média efluente de $1,8 \text{ mg/L} \pm 5,2$. O reator R2 somente conseguiu remover o nitrito do meio nos ciclos 1, 3 e 7. Com uma média de $6\% \pm 15$ consistindo na menor capacidade de remoção de nitrito dentre todas as fases. Já em R1, a eficiência média de remoção desta variável avaliada foi de $31\% \pm 30$, com nenhuma remoção detectada nos ciclos 1, 3 e 4.

Assim, diante dos resultados obtidos nas fases operacionais executadas, a Fase I apresentou a menor concentração média efluente, de $0,21\text{mg/L} \pm 0,2$, além de uma maior estabilidade e eficiência de remoção de nitrogênio na forma de nitrito.

Os resultados da análise ANOVA asseguram não existir diferenças significativas entre as três fases no que concerne à remoção de nitrato e nitrito.

O sistema de reatores obteve eficiência de remoção inconstante para amônia no meio, sendo detectada eficiência de remoção na Fase I em apenas em dois dos dez ciclos – 6º ciclo, com 83% e 10º ciclo, com 8% –, alcançando média global de $9,1 \pm 26,1$. No 6º ciclo foi obtida a menor concentração de amônia dentre as amostras analisadas na saída do sistema, de $2,7\text{ mg /L}$.

Figura 25. Concentração de nitrito nas amostras dos reatores na Fase III.



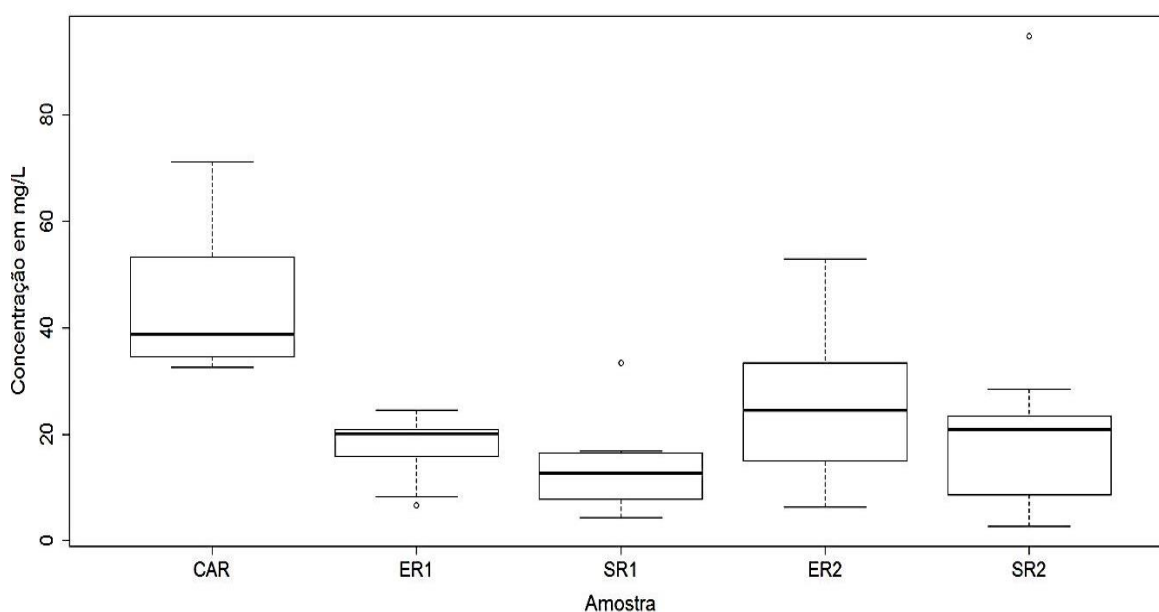
Fonte: Autor (2017).

Embora o nitrito tenha sido convertido rapidamente em amônio (PÁDUA e FERREIRA, 2006), o que se observou foi o acúmulo de amônio no meio, como provável resultado de que o *A. niger* não necessitava do mesmo para suas reações de síntese na concentração disponibilizada, de modo que na maior parte dos ciclos não houve eficiência de remoção. A maior concentração de amônia detectada ao longo da operação dos reatores na Fase I foi de $94,8\text{ mg/L}$, no primeiro ciclo operacional, valor bem distante da segunda maior concentração de nitrogênio amoniacoal, de $28,4\text{ mg/L}$, registrada no 9º ciclo operacional, indicando que o primeiro ciclo pode ter apresentado concentração no efluente final fora da curva devido à uma adaptação do sistema.

Na Figura 26 estão reportadas as concentrações de amônia detectados nas amostras dos reatores na primeira fase, na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2.

Individualmente, o R1, apesar de baixa eficiência na remoção de amônia, esta ocorreu de forma mais estável, com média de $31\% \pm 16$. Apenas no primeiro ciclo deste reator não houve eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal. Já em R2, essa média foi de $28\% \pm 32$, com quatro ciclos em que nenhuma eficiência foi registrada (1º, 2º, 4º e 5º ciclos).

Figura 26. Concentração de amônia na Fase I na água residuária e na entrada e saída dos reatores R1 e R2.



Fonte: Autor (2017).

Os fungos podem liberar nitrogênio amoniacal no meio através de estruturas denominadas vacúolos (WOOD, *et al.*, 2006; RODRIGUES, 2006). De acordo com Madshus (1988) quando há a entrada de NH_4^+ para as células o pH intracelular diminui lentamente e, desse modo, quando a amônia deixa as células em direção ao meio externo, há liberação de H^+ para o meio, fazendo com que o pH intracelular seja elevado. Os fungos executam este mecanismo na tentativa de regular o pH intracelular, de modo que um pH do meio com valores mais próximo da acidez, como é o caso principalmente da primeira fase deste trabalho, indica a não assimilação do nitrogênio amoniacal pela célula fúngica.

Esse fato pode justificar a baixa remoção de amônia nos reatores em bateladas em todas as fases. Entretanto, a existência desse mecanismo estaria relacionado ao acúmulo ou não remoção de nitrato e nitrito em alguns ciclos, embora, não necessariamente, a assimilação de nitrogênio pelo fungo ocorra pela via supracitada, existindo então a permease do nitrato, mesmo na presença de amônio (ZHOU, *et al.*, 2002).

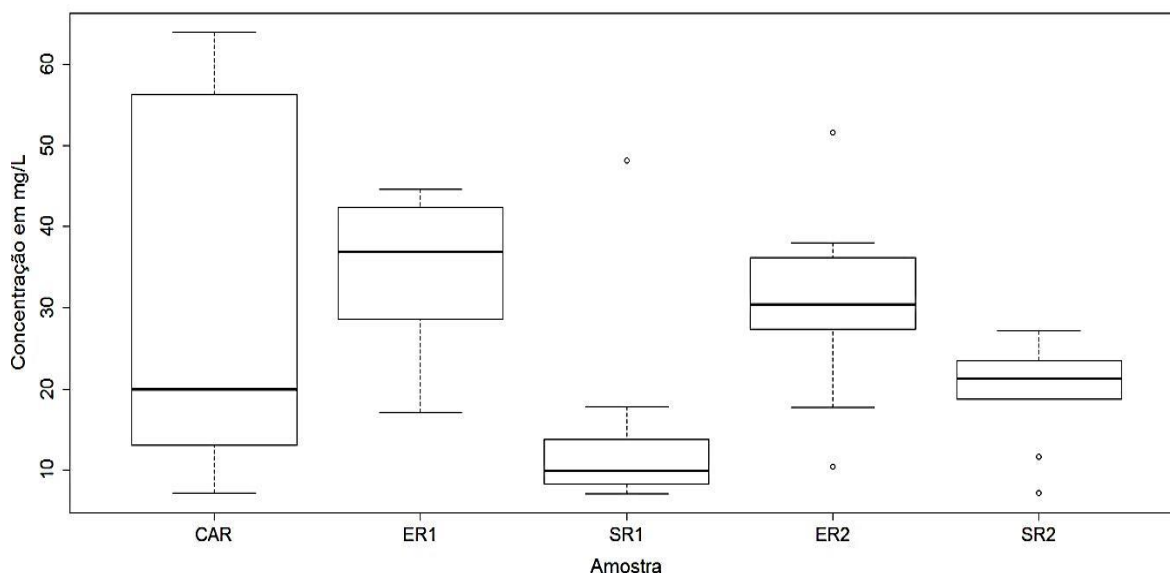
Na operação do sistema na segunda fase a eficiência máxima na remoção da amônia foi obtida no 8º ciclo (54%), com concentração final de 18,7 mg/L, tendo esta fase apenas um ciclo onde não houve remoção desta variável, sendo este o terceiro ciclo operacional. A eficiência média foi de $31\% \pm 18$.

Apenas no segundo ciclo o reator R1 não alcançou eficiência de remoção, enquanto no sétimo ciclo ocorreu a eficiência máxima de 83%. A remoção média nesse reator foi de $53\% \pm 29$.

Para o segundo reator foi observado remoção média de nitrogênio amoniacal de $28\% \pm 18$, com máxima de 59%, no 2º ciclo, e nenhuma remoção no 3º ciclo.

Nas Figuras 26, 27 e 28, a concentração de amônia no efluente de R2, em ambas as etapas, foi superior ao efluente do primeiro reator.

Figura 27. Concentração de Amônia (Fase II).



Fonte: Autor (2017).

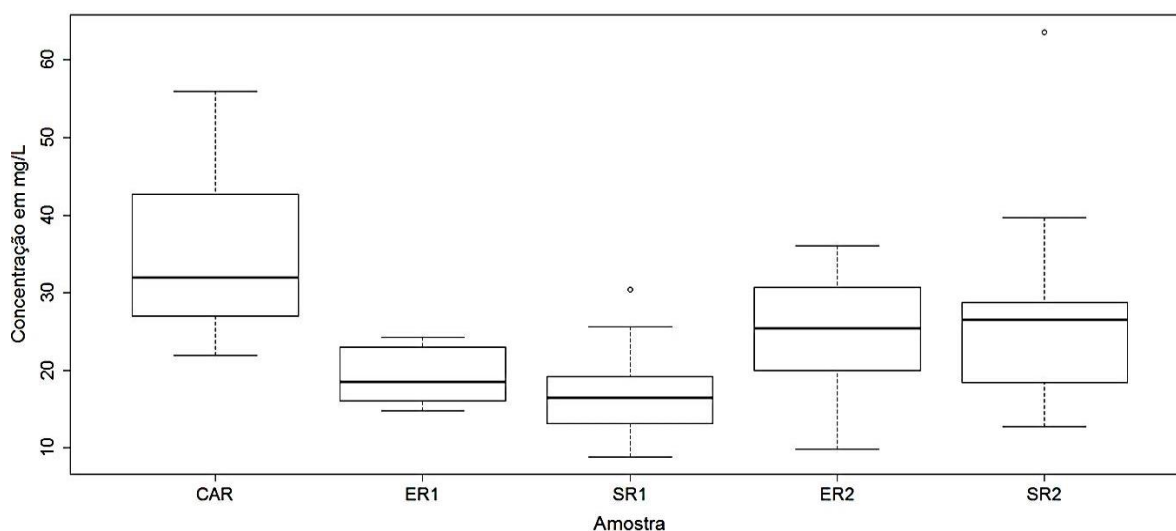
A Fase III foi a de maior instabilidade de remoção de NH_3^- . Com uma remoção total de $8\% \pm 13$, de modo que somente houve diminuição da concentração em relação

ao afluente do sistema nos ciclos 5, 6 e 8, representando uma concentração média nos dez ciclos operacionais de $28,1 \text{ mg/L} \pm 14$.

A partir dos resultados obtidos, observou-se que, na segunda fase, a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal, apesar de baixa, devido ao metabolismo de regulação do pH intracelular, foi superior ao alcançado pelo sistema de reatores nas Fase I e III. Este fato pode ser justificado pelo descrito no trabalho de Papagianni, Wayman e Matthey (2005), onde os autores relataram que, para o *Aspergillus niger*, estando a glicose presente no meio, há uma reação intracelular com o NH_4^+ , a qual tem como produto a glutamina, via preferencial de assimilação do nitrogênio quando o meio tem concentrações limitantes deste macronutriente, como é o caso deste trabalho, pois não houve adição de nitrogênio no meio.

Desta forma, a glicose é a fonte de energia mais aconselhada, quando se objetiva remover nitrogênio amoniacal (BARBOSA, *et al.*, 2015). Portanto, os maiores valores de pH, obtidos nas amostras efluentes da Fase II, são resultado da maior assimilação de amônio do meio, propiciado pela presença da glicose, se confrontados com os dados das Fases I e II.

Figura 28. Concentração de amônia nas amostras dos 10 ciclos operacionais da Fase III.



Fonte: Autor (2017).

Na Fase I, nos ciclos 3, 4, 5, 6 e 10, ou seja, a metade dos ciclos analisados, o efluente final do sistema apresentou teores de nitrogênio amoniacal dentro dos padrões de lançamento de efluentes estabelecido pela legislação federal, de 20 mgN/L (BRASIL, 2011), de modo que nos demais ciclos, devido à concentração de $94,7 \text{ mg/L}$

no primeiro ciclo que deslocou a média para mais distante do valor recomendado, em média, o teor de nitrogênio detectado foi 92% maior que o exigido.

Na Fase II, embora com uma maior eficiência de remoção de amônia do meio, apenas os ciclos 8, 9 e 10 apresentaram concentrações inferiores ao padrão de lançamento, sendo que os outros sete ciclos apresentaram, em média, um valor superior em 15% ao preconizado. Na Fase III, após a passagem por R1, apenas os ciclos 5 e 6 apresentaram concentrações dentro do padrão de lançamento, situação inversa à ocorrida após a passagem por R2, onde somente os ciclos 5, 6 e 8 se mantiveram com uma concentração inferior à 20mg/L, de modo que a média efluente final desta fase ficou acima desse valor, com 28,1 mg/L $\pm$ 14.

Semelhante à avaliação da remoção de DQO, os resultados de remoção de amônia sujeitos à análise ANOVA demonstraram que entre as Fases I e III, não houve diferenças significativas ($p=0,4511$). Sendo a Fase II diferente tanto da Fase I ($p=0,0055$) quanto da Fase III ($p=0,0011$).

Quanto à avaliação da inibição do crescimento das raízes de cebola, na Fase I, após a água residuária ser submetida ao tratamento, foi obtido efluente com menor toxicidade que o afluente ao sistema.

Tabela 11. Inibição do crescimento das raízes no teste de Toxicidade realizado na Fase I (dados do 6º ciclo).

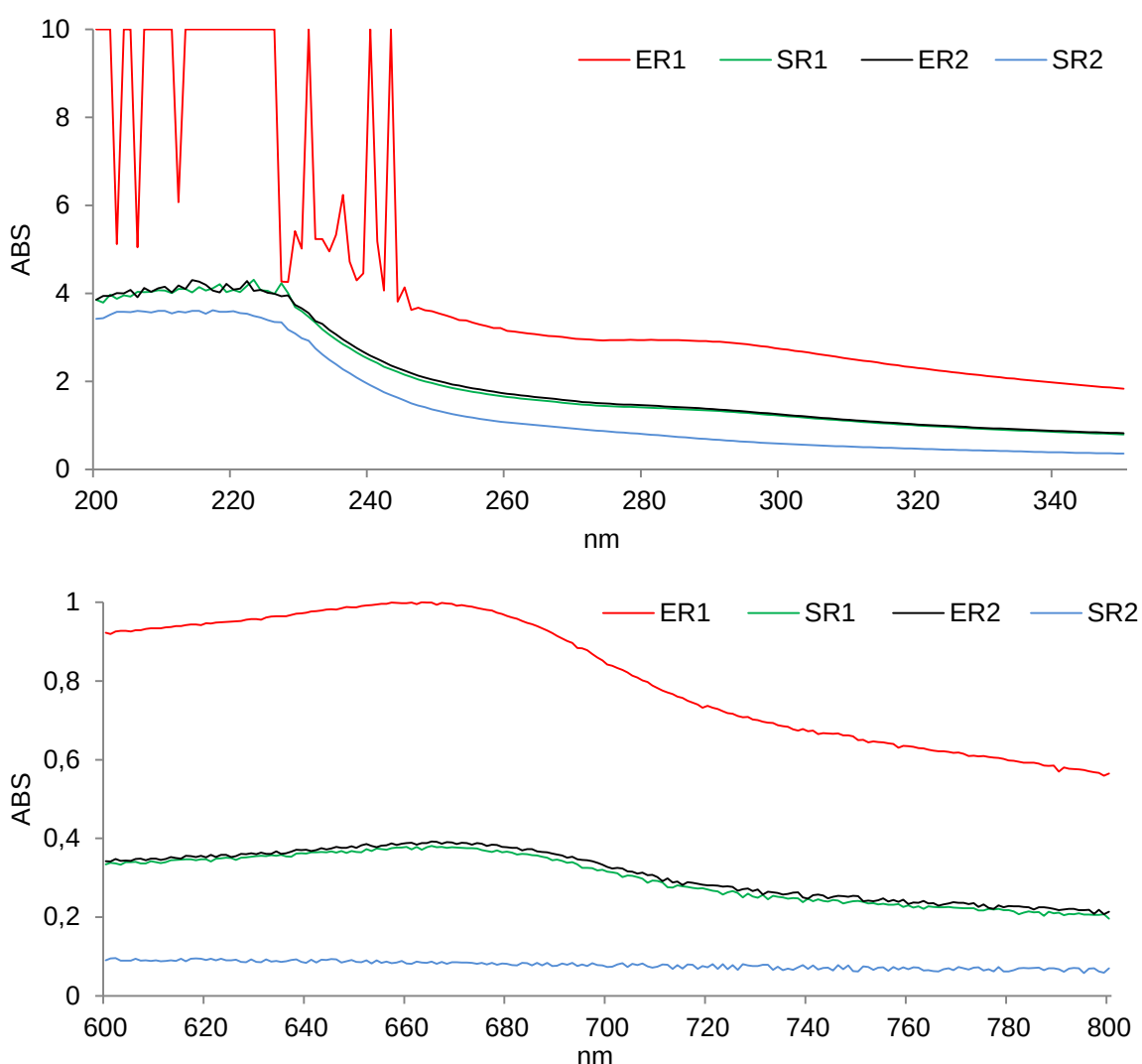
Amostra	Crescimento médio (cm)	DP	Inibição de crescimento (%)
Controle negativo	4,9	1,7	0,0
Caracterização	0,0	0,0	100,0
ER1	0,53	0,7	89,2
SR1	0,76	0,7	84,5
ER2	0,33	0,3	93,2
SR2	1,03	0,6	79,1

Fonte: Autor (2017).

Na Figura 29 são apresentadas as varreduras das amostras de um dos ciclos da Fase I e o mesmo representa o comportamento do sistema na remoção dos compostos nos demais ciclos.

É possível observar que na faixa espectral (UV-Vis) houve redução das absorvâncias relativas às bandas de absorção em 300nm e 675nm, após a passagem pelo primeiro reator (R1) e ainda mais, após a passagem pelo segundo (R2). Assim, os dados da varredura apresentada (Figura 29) corroboram com os dados de toxicidade (Tabela 11), exatamente pelo fato de que houve redução na inibição do crescimento das raízes após a passagem por R1, bem como após a passagem pelo R2, em comparação ao afluente aos mesmos.

Figura 29. Varredura das amostras do 6º ciclo do afluente e efluente dos reatores R1 e R2 da Fase I.



Fonte: Autor (2017).

Observando os resultados obtidos neste estudo, verificou-se que a disposição dos reatores fúngicos em série para o tratamento da água residuária possui potencial para a biorremediação de efluentes têxteis, se comparado, por exemplo, com o trabalho de

Bergsten-Torralba, *et al.* (2009). Esses autores utilizaram a espécie fúngica *Penicillium Simplicissimum* na descoloração dos corantes *Reactive Red* 198, *Reactive Blue* 214 e *Reactive Blue* 21 e avaliaram diminuição da toxicidade dos mesmos após o tratamento através do micro crustáceo *Daphnia pulex*. Após o tratamento, a toxicidade da solução contendo o corante *Reactive Red* 198 foi acrescida, fato que os autores atribuíram à formação de metabólitos pelo fungo utilizado.

Conforme Montazer e Maryan (2010), a biodegradabilidade do corante índigo contido em efluentes têxteis industriais tem sido estudada e as conclusões que os testes apresentam são que o mesmo pode ser degradado por fungos, tendo sua toxicidade reduzida.

Na Tabela 12 são apresentados os resultados do ensaio de toxicidade realizado no afluente e efluente dos reatores R1 e R2, na Fase II.

Tabela 12. Inibição do crescimento das raízes no teste de Toxicidade realizado na Fase II (dados do 8º ciclo).

Amostra	Crescimento médio (cm)	DP	Inibição do crescimento (%)
Controle negativo	3,7	1,0	0,0
Caracterização	0,1	0,2	97,3
ER1	0,9	0,0	76,2
SR1	1,9	0,5	48,4
ER2	1,5	0,4	59,6
SR2	1,8	1,0	51,6

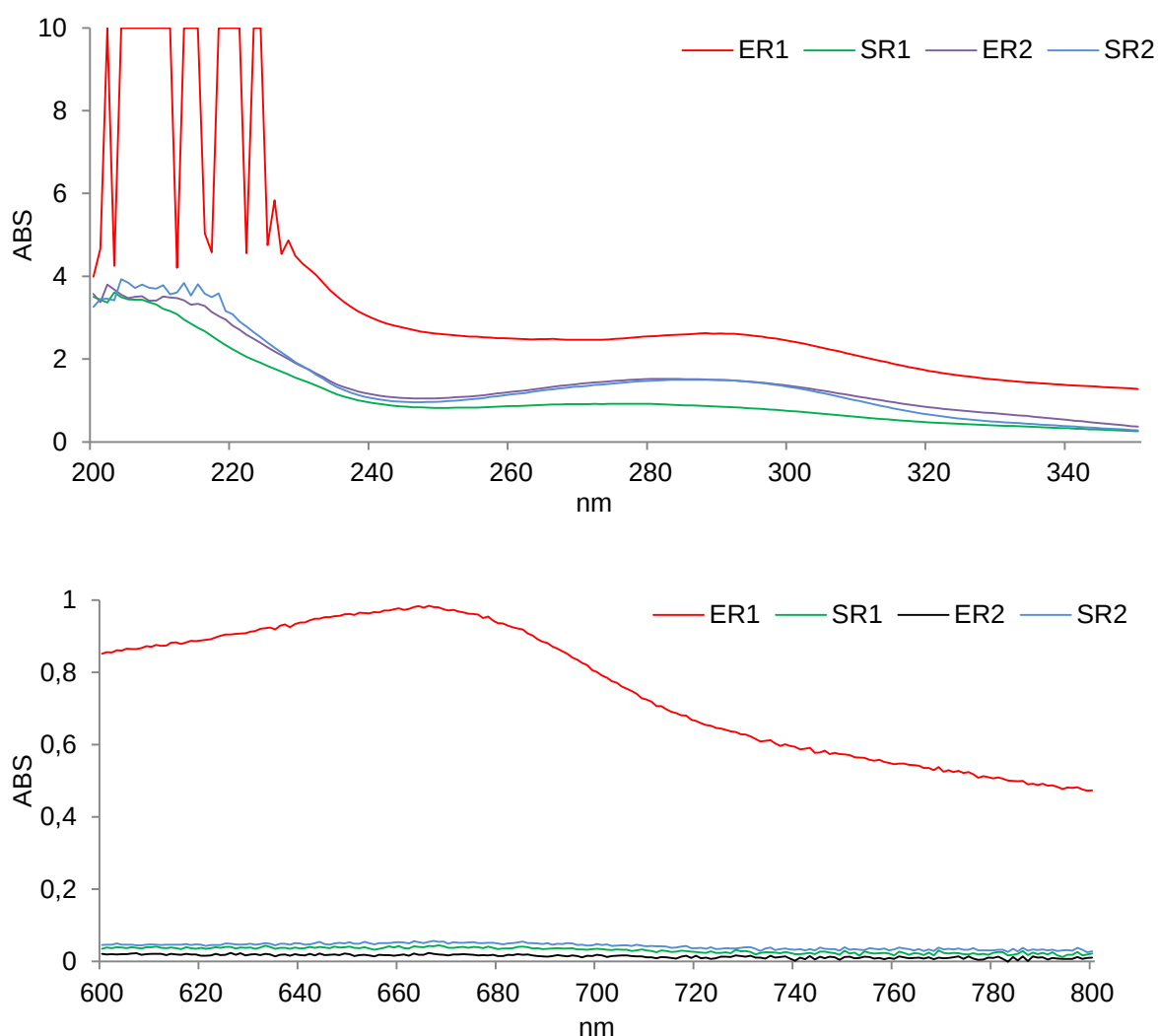
Fonte: Autor (2017).

Ainda em relação ao ensaio de toxicidade, considerando que o reator R2 foi alimentado com o efluente do reator R1, inesperadamente houve aumento do percentual de inibição do crescimento das raízes na amostra de ER2 em relação à de SR1. Contudo, ao se proceder ao ensaio de toxicidade utilizando apenas água de torneira, contendo antibiótico, micronutrientes e cossustrato, verificou-se que ocorreu inibição do crescimento das raízes em 51% e 50%, respectivamente, quando o cossustrato foi a sacarose e a glicose, indicando que a presença de antibiótico – adicionado juntamente com o cossustrato e nutrientes no afluente de R2 – contribui para a inibição do crescimento das raízes e, conseqüentemente, da toxicidade, motivo pelo qual foram

obtidos valores diferentes do percentual de inibição de crescimento para SR1 e ER2, com aumento do mesmo em ER2.

Na Figura 30 é apresentada varredura realizada em amostras do afluente e efluente dos reatores R1 e R2 no 8º ciclo da Fase II. Os resultados da varredura corroboram com os dados mostrados na Tabela 13, tendo-se observado que em R1 o efluente causou menor inibição no crescimento das raízes em relação ao seu afluente. Entretanto, após a passagem pelo reator R2, essa inibição foi um pouco superior que a causada pelo efluente ao primeiro reator, ainda assim, menor que a inibição causada pelo seu afluente.

Figura 30. Varredura das amostras do oitavo ciclo operacional da Fase II.



Fonte: Autor (2017).

Na Figura 30, verificou-se que ocorreu aumento nas concentrações dos compostos nos comprimentos de onda entre 200 e 300 nm, após a água residuária ser

submetida ao pós-tratamento no segundo reator, fato que também pode ser atribuído à produção de metabólitos decorrentes da degradação do corante.

A Fase III foi marcada por comportamentos distintos no sistema de reatores, que se diferenciaram em antes e depois do ciclo sete. O teste de toxicidade das amostras dos reatores nesta fase foi realizado no último ciclo e seus resultados podem ser visualizados na Tabela 13.

Diferente da fase anterior e similarmente à Fase I, é possível observar que a toxicidade da água residuária diminuiu após a passagem pelo primeiro reator e ainda mais após a passagem pelo segundo. Além disso, a diferença entre o afluente e o efluente do primeiro reator é bem pequena em relação às demais fases. Enquanto para o segundo reator, a porcentagem de inibição ilustra bem o melhor desempenho o R2 nesta fase em relação às anteriores, por exemplo, quanto à eficiência de remoção de DQO, que apesar de ainda baixa, bem mais estável em R2 na Fase III do que o mesmo reator nas outras fases.

Tabela 13. Inibição do crescimento das raízes no teste de Toxicidade realizado na Fase III (dados do 10º ciclo).

Amostra	Crescimento médio (cm)	DP	Inibição do crescimento (%)
Controle negativo	2,5	0,3	0,0
Caracterização	0,0	0,0	100,0
ER1	0,6	0,3	74,3
SR1	0,7	0,2	72,3
ER2	0,9	0,7	61,5
SR2	1,6	0,1	35,1

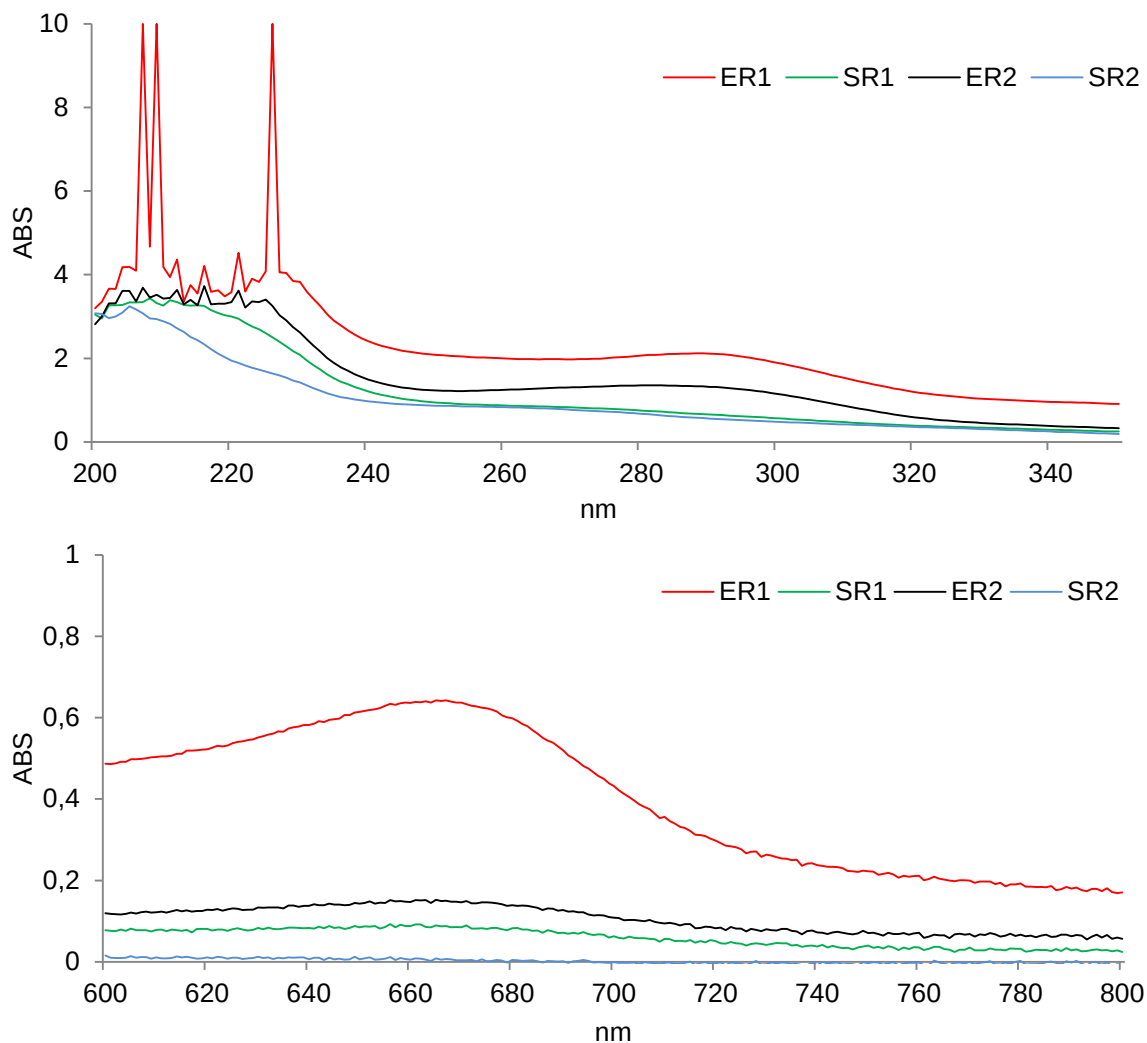
Fonte: Autor (2017).

É crucial ressaltar que os resultados do teste de toxicidade realizado na terceira fase, concernem ao décimo ciclo, não representando a toxicidade das amostras dos reatores nos ciclos os quais a eficiência do reator R1 foi inferior. Esse episódio é decorrente do fato os testes de toxicidade não eram realizados em todos os ciclos operacionais e sim com amostras de m ciclo aleatório.

A inibição do crescimento das raízes de cebola no décimo ciclo também é confirmada pela varredura do espectro UV-Vis das amostras do mesmo ciclo, discriminada na Figura 31. Nesse ciclo, como podemos verificar na Figura 31, a

eficiência de remoção do corante índigo foi de 95% após a passagem pelos dois reatores, e a remoção de DQO foi de 72,2% para DQO total e de 71,2% para a DQO dissolvida (para $\lambda=675\text{nm}$).

Figura 31. Varredura das amostras obtidas no 10º ciclo da Fase III.



Fonte: Autor (2017).

Os resultados da aplicação da técnica de *spread-plate* estão discriminados na Tabela 14. É possível observar que, pelo fato dos reatores não serem operados em condições assépticas e por se tratar de água residuária proveniente do tanque de equalização de uma indústria têxtil, as bactérias participaram da composição da comunidade microbiana presente em ambos os reatores.

Quanto à Fase I, os fungos foram a população predominante, tanto no primeiro quanto no segundo reator.

Tabela 14. Contagem das Unidades Formadoras de Colônias por mL nas Fases realizadas.

UFCs/mL	Bactérias		Fungos	
	R1	R2	R1	R2
Fase I	4,15E+06	9,30E+06	4,70E+06	9,93E+06
Fase II	5,73E+07	1,04E+07	4,55E+06	7,93E+06
Fase III	3,20E+06	2,73E+06	3,53E+06	3,53E+06

Fonte: Autor (2017).

É importante ressaltar que a existência de biofilme misto não representou aspecto negativo para a eficiência do tratamento, uma vez que a remoção de corante do meio foi boa, em face dos resultados apresentados ($92\% \pm 5,1$, Fase I; $80\% \pm 22$, Fase II; $71,2\% \pm 20$ Fase III). A existência de comunidade mista tende a contribuir para maior polimento do meio, uma vez que poderá ocorrer simbiose, fator positivo para maior mineralização do efluente final (YANG, *et al.*, 2009).

Ao considerar um trabalho como o de Yang *et al.* (2009), por exemplo, é perceptível que conduzir um reator aeróbio em escala laboratorial com uma cultura fúngica pura, pode dificultar a reprodutibilidade do estudo como proposta para uma escala real, já que é quase inevitável a contaminação por bactérias. Portanto, realizar ensaios que se aproximem da realidade é algo crucial.

Além disso, se os reatores fossem operados em condições estéreis, haveria maior custo pessoal e financeiro para que o tratamento se mantivesse, algo que também não é interessante ao se pensar na instalação do sistema em uma Estação de Tratamento de Esgoto com proporções superiores ao estágio de operação dos reatores em bancada (LOPES, *et al.*, 2011).

De acordo com Espinosa-Ortiz *et al.* (2016), a dominância de espécies fúngica em relação às bactérias em reatores não estéreis pode ser atribuída às condições ácidas, uma vez que a reprodução e crescimento fúngico se dá preferencialmente em meio ácido, enquanto o contrário ocorre com as bactérias, que tem propensão a se desenvolver em um pH próximo ao neutro. Entretanto, segundo os pesquisadores a comunidade bacteriana pode se adaptar às condições do meio, motivo pelo qual a adição de antibiótico ou a adoção de outras condições de controle possa ser empregada, a fim

de que as a população bacteriana não cresça ao ponto de inibir a atividade enzimática dos fungos.

Esse pode ter sido um motivo pelo qual a comunidade fúngica se sobressaiu na primeira etapa, visto que o pH do sistema nessa fase se manteve abaixo de cinco após as 48 horas em R1 e com uma mediana próxima a esse valor após o mesmo período em R2, como visto na Figura 14.

Apesar do pH também ser ajustado para valor 5,0 na Fase II, após a passagem pelo primeiro reator, o pH do efluente ($6,8 \pm 1,1$) apresentou-se mais elevado que o afluente, bem como em R2, resultando em um pH médio final de $6,6 \pm 1,3$. Este pode ter sido um fator que teria contribuído para que as bactérias fossem predominantes na Fase II (Figura 15), quando os processos decorridos no meio resultaram em um pH mais próximo a neutralidade, favorecendo assim o crescimento bacteriano.

Em consonância, na Fase III os valores de pH são representados por uma média de $6,3 \pm 1$ (Figura 16). Assim, corroborando com a influência do pH na predominância microbiana, em comparação com as demais fases, os resultados obtidos na contagem de UFCs/mL na Fase III se aproximaram dos alcançados na primeira fase operacional, com uma contagem unidades formadoras de colônias fúngica com superior ao número bacteriano entretanto, com uma menor razão entre as mesmas em contraposição à Fase I (Tabela 14).

Para indicar outro motivo pelo qual a comunidade bacteriana foi superior à fúngica na Fase II, está o trabalho de Reischke, Rousk e Bååth (2014) foi determinada a resposta no crescimento bacteriano e fúngico, bem como a respiração, às adições de glicose (0,5 a 32 mg de glicose/g de solo) durante até 6 dias. A adição de glicose resultou em uma fase de latência inicial de respiração estável e crescimento bacteriano. O crescimento bacteriano foi semelhante ao controle não modificado, enquanto a respiração foi 8 vezes maior durante esse período. Após a fase exponencial, o crescimento bacteriano diminuiu exponencialmente. A respiração inicialmente diminuiu ainda mais rapidamente do que o crescimento bacteriano. Em concentrações superiores a 4 mg de glicose/g de solo, a estimulação relativa do crescimento fúngico ultrapassou a de bactérias. Concentrações inferiores a 4 mg de glicose/g de solo pareciam estimular o crescimento principalmente bacteriano.

6. CONCLUSÕES

- ✓ A sacarose demonstrou ser o melhor cossustrato a ser empregado em relação à glicose em virtude da Fase I ter sido a de maior eficiência global ($92\% \pm 5,1$) de remoção de corante e de DQO dissolvida ($61\% \pm 29$).
- ✓ Houve degradação parcial do corante índigo, com produção de subprodutos, mais fortemente na Fase II, onde foi observado aumento em algumas bandas tanto após a passagem por R1 quanto após a passagem por R2;
- ✓ Embora a Fase II ($80\% \pm 22$) tenha registrado maior eficiência global que a Fase III ($69\% \pm 23$) quanto a remoção de corante, a sacarose, ainda assim, demonstrou maior potencial de uso, uma vez que nesta condição foi encontrada melhor percentual de remoção de DQO dissolvida ($66,6\% \pm 19$) do que o obtido quando do uso de glicose ($41\% \pm 21$), indicando que na presença de glicose houve menor consumo de subprodutos gerados pela biodegradação do corante;
- ✓ Na presença de maior quantidade de subprodutos e de corante afluyente, o reator de polimento (R2) alcançou melhor resultado sem adicionar cossustrato, registrando-se isoladamente no mesmo as maiores eficiências de remoção de corante ($51,5\% \pm 25$) e de DQO dissolvida ($66,6\% \pm 19$);
- ✓ A via de degradação biológica se sobressaiu à de remoção por adsorção do corante em todas as fases estudadas, sendo a parcela de corante adsorvida ao suporte e ao micélio inferior a 30%, com maior evidência na Fase II (27,6%), devido ao menor aporte de corante nessa fase, sendo que nas Fases I (18,6%) e III (20,8%), este percentual foi muito próximo;
- ✓ O sistema de reatores em bateladas sequenciais operados em série não atingiu a recomendação legal, devido ao fato de que pode ter havido acúmulo de subprodutos, o qual se refletiu na menor eficiência de remoção de DQO dissolvida em comparação com a de corante, nas três fases;
- ✓ Apesar de ser necessário o ajuste do pH para descarte dos efluentes gerados na Fase I, essa se apresentou a melhor condição para a remoção do corante, além disso os valores de pH ficaram bem próximos da faixa recomendada;
- ✓ Considerando a média registrada para a concentração de nitrogênio amoniacal no efluente final, em nenhuma das Fases foi alcançado o valor de referência (20 mg/L), sendo que a Fase II, que recebeu adição de glicose, foi a que apresentou

concentração mais próxima do limite de referência, com menor média ($22,6\% \pm 2,8$), como resultado do favorecimento deste açúcar na síntese de nitrogênio;

- ✓ O pH demonstrou ser variável de forte influência no controle da população bacteriana. A comunidade fúngica se sobressaiu à bacteriana nas Fases I e III, quando o pH apresentou valores inferiores (Fase I: $5,3 \pm 1,4$; Fase III: $6,3 \pm 1$), sendo que na Fase II, quando a glicose foi adicionada ao meio, a predominância foi da população de bactérias (pH: $6,6 \pm 1,3$);
- ✓ Mesmo com a participação de bactérias, no metabolismo do nitrogênio, a participação dos fungos foi ativa, uma vez que houve boa remoção de nitrato nas fases estudadas (Fase I: $52,75\% \pm 5$; Fase II: $87\% \pm 31$; Fase III: $80\% \pm 33$), em decorrência provavelmente da redução desassimilatória do nitrato, ainda que o aumento desta variável tenha ocorrido pontualmente como resultado de nitrificação bacteriana;
- ✓ Ainda em relação à remoção de nitrogênio, a adição de glicose favoreceu a assimilação de nitrogênio amoniacal pelos fungos em relação à sacarose. Na Fase II, quando foram registrados os maiores valores de pH, foram obtidos os maiores percentuais de remoção de nitrato ($80\% \pm 33$) e de nitrogênio amoniacal ($22,6\% \pm 2,8$), indicando a conversão da forma mais oxidada à amônio, forma diretamente assimilada pelos fungos;
- ✓ O tratamento do efluente têxtil nos reatores em série com fungos diminuiu a toxicidade do mesmo em ambas as fases, com destaque para as fases que utilizaram sacarose, pois a toxicidade diminuiu após a passagem por R1 e ainda mais após a passagem por R2;
- ✓ O emprego do sistema de reatores em bateladas sequenciais dispostos em série demonstrou ser eficiente, recomendando-se sua operação com adição de sacarose no primeiro reator como cossubstrato. No reator R2, de polimento, a adição de sacarose pode ser dispensada quando da presença de concentração residual mais elevada do corante ($9,8 \pm 5,5$ mg/L) e de subprodutos oriundos do reator secundário (R1). Além disso, a análise de variância demonstrou que não houve diferenças significativas entre as Fases I e III quanto a remoção de DQO e amônia do meio.

REFERÊNCIAS

- ABIT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL E DE CONFECÇÃO. Disponível em: <<http://www.abit.org.br/perfildosetor>>. Acesso em: 05 jul. 2016.
- ACS. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. Disponível em: <<https://www.acs.org/content/acs/en/careers/college-to-career/chemistry-careers/dyes-pigments-ink.html>>. Acesso em: 30 jun. 2016.
- ADESOLA, O. I., ADEWALE, O. A., PATRICIA, O. N. Microbial treatment of complex dyes used in local textile industries in Nigeria. **World Applied Sciences Journal** Vol. 31, p. 698-704. 2014.
- ANASTASI, A., SPINA, F., ROMAGNOLO, A., TIGINI, V., PRIGIONE, V. VARESE, G. V. Integrated fungal biomass and activated sludge treatment for textile wastewaters bioremediation. **Bioresource Technology** Vol. 123, p. 106-111. 2012.
- ANDRADE, M. V. F. Biodegradação de corante têxtil por uso de reator biológico em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Phanerochaete Chrysosporium*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental) – Instituto Federal do Ceará. Fortaleza, CE, 2012.
- ANJANEYULU, Y., CHARY, N. S., RAJ, D. S. S. Decolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology** Vol. 4, p. 245–273. 2005.
- APHA; **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 21 American Health Association: Washington D. C. 2005.
- ASHFAQ, A. AND KHATOON, A. Waste Management of Textiles: A Solution to The Environmental Pollution. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science** Vol. 3 n° 7, p. 780-787. 2014.
- BALAN, D. S. L., MONTEIRO, R. T. R. Decolorization of textile indigo dye by ligninolytic fungi. **Journal of Biotechnology** Vol. 89, p. 141–145. 2001.
- BARBOSA, B.C.A., MIRANDA, M.F. DE, GABRIELE, C.S.M., RODRIGUES, K.A.P., WANDERLEY, C.R.P., SILVA, MARINHO, G.M. Uso de etanol como cossubstrato para micodegradação de corante azo. **Revista DAE** Vol. 199, p. 71-82. 2015.

- BERGSTEN-TORRALBA, L. R., NISHIKAWA, M. M. BAPTISTA, D. F., MAGALHÃES, D. F., SILVA, M. Decolorization of different textile dyes by *Penicillium Simplicissimum* and toxicity evaluation after fungal treatment. **Brazilian Journal of Microbiology** Vol. 40, p. 808-817. 2009.
- BHATTACHARYA, S., MANGAI, A. D., VIGNESH, K., SANGEETHA, J. Mycoremediation of Congo red dye by Filamentous fungi. **Brazilian Journal of Microbiology** Vol. 42, p. 1526-1536. 2011.
- BIZANI, E., FYTIANOS, K., POULIOS, I., TSIRIDIS, V. Photocatalytic decolorization and degradation of dye solutions and wastewaters in the presence of titanium dioxide. **Journal of Hazardous Materials** Vol. 136, p. 85-94. 2006.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. 2005.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 430, de 13 de Maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. 2011.
- CAMPOS, A. R., CAVACO-PAULO, K. R., SCHNEIDER, M., GUBITZ, G. Indigo Degradation with Laccases from Polyporus sp. and Sclerotium rolfsii. **Textile Resources Journal** Vol. 71 nº 5, p. 420-424. 2001.
- CEARÁ, Secretaria do Meio Ambiente. Portaria nº 154, de 22 de Julho de 2002. Dispõe sobre padrões e condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras. Superintendência Estadual do Meio Ambiente – SEMACE. 2002.
- CHO, K. S., RYU, H. W. Biodecolorization and Biodegradation of dye by fungi: A Review. **Society for Biotechnology and Bioengineering Journal** Vol. 30 nº 5, p. 203-222. 2015.
- COUTO, S. R. Dye removal by immobilised fungi. **Biotechnology Advances** Vol. 27, p. 227–235. 2009.

- CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. **Bioresource Technology** Vol. 97, p. 1061-1085. 2006.
- DANESHVAR, N., OLADEGARAGOZE, A., DJAFARZADEH, N. Decolorization of basic dye solutions by electrocoagulation: An investigation of the effect of operational parameters. **Journal of Hazardous Materials** Vol. 129, p.116-122. 2006.
- DEBRASSI, A., LARGURA, C. T., RODRIGUES, C. A. Adsorção do corante Vermelho Congo por derivados da o-carboximetilquitosana hidrofóbicamente modificados. **Química Nova**, Vol. 34, nº 5, p. 764-770. 2011.
- EBENCY, C. I, RAJAN, S., MURUGESAN, A. G., RAJESH, R., ELAYARAJAH, B. Biodegradation of textile azo dyes and its bioremediation potential using seed germination efficiency. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** Vol. 2 nº 10, p. 496-505. 2013.
- ESPINOSA-ORTIZ, E. J., REN, E. R., PAKSHIRAJAN, K., HULLEBUSCH, E. D. V., LENS, P. N. L. Fungal pelleted reactors in wastewater treatment: Applications and perspectives. **Chemical Engineering Journal** Vol. 283, p. 553–571. 2016.
- FORGACS, E., CSERHÁTI, T., OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. **Environment International** Vol. 30, p. 953 – 971. 2004.
- FU, Y., VIRARAGHAVAN, T. Fungal decolourization of dye wastewaters: a review. **Bioresource Technology** Vol. 79, p. 251–62. 2001.
- GHALY, A. E., ANANTHASHANKAR, R., ALHATTAB, M., RAMAKRISHNAN, V. V. Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. **Journal of Chemical Engineering Process Technology** Vol. 5 nº 182. doi: 10.4172/2157-7048.1000182. 2014.
- GOOSEN, C., YUAN, X. L., MUNSTER, J. M., RAM, A. F. J., MAAREL, M. J. E. C., DIJKHUIZEN, L. Molecular and biochemical characterization of a novel intracellular invertase from *Aspergillus niger* with transfructosylating activity. **Eukaryotic Cell** Vol. 6 nº 4. American Society for Microbiology. doi:10.1128/EC.00361-06. 2007.
- GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. Vol. 2 New York: Wiley-Liss, p. 458. 1994.
- GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova** Vol. 23 nº1, p. 300. 2000.

- GULTEKIN, I., & INCE, N.H. Degradation of aryl-azo-naphthol dyes by ultrasound, ozone and their combination: Effect of α -substituents. **Ultrasononic Sonochemistry** Vol. 13 p. 208-214. 2006.
- GUPTA, V. K., KHAMPARIA, S., TYAGI, I., JASPAL, D., MALVIYA, A. Decolorization of mixture of dyes: A critical review. **Global Journal of Environmental Science Management** Vol. 1 n°1, p. 71-94. 2015.
- GÜRSES, A., AÇIKYILDIZ, M., GÜNEŞ, K., GÜRSES, M. S. **Dyes and Pigments, Springer Briefs in Green Chemistry Sustainability** ISSN 21915415. Springer International Publishing, AG Switzerland. 2016.
- HAMAD, H. O., ALMA, M. H. ISMAEL, GOCERI, A. The effect of some sugars on the growth of *Aspergillus niger*. **KSU Journal of Natural Science** Vol. 17 n°4. 2014.
- HAN, G., LIANG, C. Z., CHUNG T. S., WEBER, M., STAUDT, C., MALETZKO, C. Combination of forward osmosis (FO) process with coagulation/flocculation (CF) for potential treatment of textile wastewater. **Water Research** Vol. 91, p 361 – 370. 2016.
- HAQ, I. U., ALI, S., QADEER, M. A., IQBAL, J. Optimization of nitrogen for enhanced citric acid productivity by a 2-deoxy D-glucose resistant culture of *Aspergillus niger* NG^d-280. **Bioresource Technology** Vol. 96, p. 645–648. 2005.
- IMRAN, M., CROWLEY, D. E., KHALID, A., HUSSAIN, S., MUMTAZ, M. W., ARSHAD, M. Microbial biotechnology for decolorization of textile wastewaters. **Journal of Environmental Science Biotechnology** Vol. 14, p. 73-92. 2015.
- JADHAV, J. P., PHUGARE, S. S. Textile dyes: general information and Environmental aspects. In: NEMR, A. E. (ed) **Non-Conventional Textile Waste Water Treatment**. Nova Science Publishers, Inc, New York. 2012.
- JOHN, R. C., NTINO, E. S., ESSIEN, J. P. Ammonium Oxidizing Bacteria activity and Nitrification Rate in oil contaminated wetland soil under remediation with nutrient supplements leguminous plants. **Journal of Environmental Protection** Vol. 7, p. 545-553. 2016.
- JOO, D.J., SHIN, W.S., CHOI, J.H., CHOI, S.J., KIM, M.C., HAN, M.H., HA, T.W., KIM, Y.H. Decolorization of reactive dyes using inorganic coagulants and synthetic polymer. **Dyes and Pigments** Vol. 73 p. 59-64. 2007.

- KADAM, A. A., LADE, H. S., LEE, D. S., GOVINDWAR, S. P. Zinc chloride as a coagulant for textile dyes and treatment of generated dye sludge under the solid state fermentation: hybrid treatment strategy. **Bioresource technology** Vol. 176, p. 38-46. 2015.
- KALPANA, D., VELMURUGAN, N., SHIM, J. H., OH, B., SENTHIL, K., LEE, Y. S. Biodecolorization and biodegradation of reactive Levafix Blue E-RA granulate dye by the white-rot fungus *Irpexlacteus*. **Journal of Environmental Management** Vol. 111, p. 142-149. 2012.
- KALSHIK, P., MALIK, A. Effect of nutritional conditions on dye removal from textile effluent by *Aspergillus lentulus*. **World Journal Microbiology Biotechnology** Vol. 26, p. 1957-1964. 2010.
- KANT, R. Textile dyeing industry an environmental hazard. **Natural Science** Vol.4, n°1, p. 22-26. 2012.
- KHELIFI, E., AYED, L., BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., HAMDI, M. Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolorization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C. **Journal of Hazardous Materials** Vol. 163, p. 1056-1062. 2009.
- LOPES, M.S.S.; OLIVEIRA, P.C.C; ANDRADE, M.V.F.; ARAÚJO, R.S.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. Remoção de macronutrientes de efluente da indústria de castanha de caju por uso de reator aeróbio em batelada com inóculo fúngico. **Engenharia Sanitária e Ambiental** Vol. 16 n° 1, p.17-26. 2011.
- MADSHUS, I. H. Review Article: Regulation of intracellular pH in eukaryotic cells. **Biochemistry Journal** Vol. 250, p. 1-8. 1988.
- MANU, B., CHAUDHARI, S. Decolorization of indigo and azo dyes in semi continuous reactors with long hydraulic retention time. **Process Biochemistry** Vol. 38, p. 1213 - 1221. 2003.
- MARTINS NETO, H. Tratamento de efluentes nas indústrias têxteis. **Revista TAE** Ano 3 n° 18 p. 50. 2014. Disponível em:
<<http://www.revistatae.com.br/noticiaInt.asp?id=7460>>. Acesso em: 27 jul. 2016.
- MARZLUF, G. A. Genetic regulation of Nitrogen metabolism in the fungi. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** Vol. 61 n°. 1, p 17-32. 1997.

MATHUR, N., BHATNAGAR, P., BAKRE, P. Assessing mutagenicity of textile dyes from Pali (Rajasthan) using Ames bioassay. **Applied Ecological Environmental Resource** Vol. 4 n°1, p.111-118. 2003.

MÉXICO. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. Patricia Ramírez Romero y Ania Mendoza Cantú (Compiladoras). Delegación Tlalpan, México, D.F. 2008.

MOISÉS, T. P., PATRICIA, B. H., DÍAZ, C. E. B., GABRIELA, R. M., RANGEL, R. N. Treatment of industrial effluents by a continuous system: Electrocoagulation – Activated sludge. **Bioresource Technology** Vol. 101, p.7761–7766. 2010.

MONTAZER, M. & MARYAN, A. S. Influences of Different Enzymatic Treatment on Denim Garment. **Applied Biochemical Biotechnology** Vol. 160, p. 2114–2128. 2010.

NAMDHARI, B. S., ROHILLA, S. K., SALAR, R. K, GAHLAWAT, S. K., BANSAL, P., SARAN, A. K. Decolorization of Reactive Blue MR, using *Aspergillus* species Isolated from Textile Waste Water. **ISCA Journal of Biological Sciences** Vol. 1 n°1, p. 24-29. 2012.

OHIOMA, A. I., LUKE, N. O., AMRAIBURE, O. Studies on the pollution potecial of wastewater from textile processing factories in Kaduna, Nigeria. **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences** Vol. 1 n° 2, p. 34-37. 2009.

OTTONI, C. Descoloração de corantes têxteis por fungos lignolíticos em condições de pH e salinidade elevada. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Escola de Engenharia da Universidade do Minho, Minho. 2006.

PÁDUA, V. L., FERREIRA, A. C. D. S. Qualidade de água para consumo humano. In: HELLER L., PÁDUA, V. L. (Org.) **Abastecimento de água para consumo humano**. Belo Horizonte: Editora UFMG, Cap. 4, p. 153-221. 2006.

PAPAGIANNI, M., WAYMAN, F., MATTEY, M. Fate and role of ammonium ions during fermentation of citric acid by *Aspergillus niger*. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 7178-7186. 2005.

PARSHETTI, G., KALME, S., SARATALE, G. , GOVINDWAR, S. Biodegradation of Malachite Green by *Kocuria rósea* MTCC 1532. **Acta Chemistry Slov.** Vol. 53, p. 492-498. 2006.

- PEREIRA, J. F., LIMA, J. O., ROCHA, R. B., MEDINA, P. X. L., ARAÚJO, E. F., QUEIROZ, M. V. Nitrato Redutase em Fungos Filamentosos. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. nº 31. 2003.
- PEREIRA, L., ALVES, M. Dyes – Environmental impact and Remediation. In: MALIK, A., GROHMANN, E. (Eds.) **Environmental protection strategies for sustainable development, Strategies for Sustainability**. DOI 10. 1007/978-94-007-1591-2_ 4, Springer Science Business Media B.V. 2012.
- PODGORNIK, H., POLJANSĚK, I., PERDIH, A. Transformation of Indigo carmine by *Phanerochaete chrysosporium* ligninolytic enzymes. **Enzyme and Microbial Technology** Vol. 29, p. 166–172. 2012.
- PRABHAVATHI, P., RAJENDRAN, R., KARTHIKSSUNDARAM, S., PATTABI, S., KUMAR, S. D., SANTHANAM, P. Enhanced Bioremediation Efficiency of Denim Industrial Effluent Using Bacterial Biofilm Onto Polyurethane Matrix (Review). **Biochemistry and Microbiology** Vol. 50, nº 6, p. 554–562. 2014.
- QUINTERO, L., CARDONA, S. Tecnologías para la decoloración de tintes Índigo e Índigo carmim. **Dyna**, Año 77, nº. 162, p. 371-386. Medellín, ISSN 00127353. 2010.
- RANI, B., KUMAR, V., SINGH, J., BISHT, S., TEOTIA, P., SHARMA, S., KELA, R. Bioremediation of dyes by fungi isolated from contaminated dye effluente sites for bio-usability. **Brazilian Journal of Microbiology** Vol. 45 nº 3, p. 1055-1063. 2014.
- REISCHKE, S. ; ROUSK, J. AND BÅÅTH, E. The effects of glucose loading rates on bacterial and fungal growth in soil. **Soil Biology & Biochemistry** Vol. 70, p.88-95. 2014.
- RÍO, A. I., MOLINA, J., BONASTRE, J., CASES, F. Influence of electrochemical reduction and oxidation processes on the decolourisation and degradation of C.I. Reactive Orange 4 solutions. **Chemosphere** Vol. 75, p. 1329–1337. 2009.
- 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 Technologies** Vol. 77, p. 247–255. 2001.
- RODIER, J. **L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduales, eaux de mer**. Volume 1, 5ed. Dunod (Ed.) Paris. 1975.

RODRIGUES, K. A. Uso de reatores biológicos com fungos para a remoção de fenol de água residuária sintética. 145f. Tese (Doutorado em Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos. 2006.

RODRIGUES, K. A.; SILVA, K. M. L.; MARINHO, G. M.; LIMA, P. C.; PESSOA WANDERLEY, C. R.; SILVA, G. M. Remoção de corante por uso de *Aspergillus niger* AN400 em reator em bateladas sequenciais. **Química Nova** Vol. 34 nº 7 p. 50. 2011.

ROHILA, S. K., SALAR, R. K., KUMAR, J. Optimization of Physiochemical Parameters for Decolorization of Reactive Black HFGR Using Soil Fungus, *Aspergillus allhabadii* MTCC 9988. **Bioremediation & Biodegradation**. Vol. 3 nº 6 p. 37. 2012.

SANGHI, R., DIXIT, A., VERMA, P., PURI, S. Design of reaction conditions for the enhancement of microbial degradation of dyes in sequential cycles. **Journal of Environmental Sciences** Vol. 21, p. 1646-1651. 2009.

SASTOQUE, E. K. H., CHISINO, L. J. R. Evaluación in vitro de la decoloración de índigo, mediante el uso del hongo de podredumbre blanca, *Pleurotus ostreatus*. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Industrial) – Faculdade de Ciências da Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. 2010.

SHARARI, M., ROOHANI, M., LATIBARI, A. J., GUILLET, A., AUROUSSEAU, M., SHARARI, A. Treatment of bagasse preparation effluente by *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on polyurethane foam: Enzyme production versus pollution removal. **Industrial Crops and Products** Vol. 46, p. 226-233. 2013.

SHINDE, K. P., THORAT, P. R. Mycoremediation of Bismarck Brown Y by indigenous fungal isolate *Alternaria brassicae* tsf – 07 and optimization of cultural conditions to enhance its decolorization. **International Journal Pharm Biological Sciences** Vol. 4 nº 3 (B), p. 862 – 873. 2013.

SIKAILY, A. E., KHALED, A., NEMR, A. E. Textile Dyes Xenobiotic and Their Harmful Effect. In: NEMR, A. E. (ed) **Non-Conventional Textile Waste Water Treatment**. Nova Science Publishers, Inc, New York. 2012.

SINGH, A. P., SINGH, T. Biotechnological applications of wood-rotting fungi: A review. **Biomass and Bioenergy** Vol. 6 nº 2, p. 198-206. 2014.

SINGH, H. **Mycoremediation: Fungal Bioremediation**. ISBN 0470050586, 9780470050583. John Wiley & Sons, 608p. New Jersey, Canada. 2006.

SOLÍS, M., SOLÍS, A., PÉREZ, H. I., MANJARREZ, N., FLORES, M. Microbial decolorization of azo dyes: A review. **Process Biochemistry** Vol. 47, p. 1723-748. 2012.

TAKASAKI, K., SHOUN, H., YAMAGUCHI, M., TAKEO, K., NAKAMURA, A., HOSHINO, T., TAKAYA, N. Fungal ammonia fermentation, a novel metabolic mechanism that couples the dissimilatory and assimilatory pathways of both nitrate and ethanol. **Journal of Biological Chemistry** Vol. 279 n° 13, p. 12414-12420. 2004.

TIBERIUS, B. CĂTĂLIN, T. Optimization of nutritional conditions for the mycoremediation of the synthetic dyes. **Romanian Biotechnological Letters** Vol. 18 n° 6, p 8804-8811. 2013.

VAUTIER, M., GUILLARD C., HERRMANN, J. M. Photocatalytic Degradation of Dyes in Water: Case Study of Indigo and of Indigo Carmine. **Journal of Catalysis** Vol. 201, p. 46–59. 2001.

WANDERLEY, C.R.P., ARAÚJO, R.S.A., RODRIGUES, K., MARINHO, G., MOTA, S. Influência do tipo de inóculo (disperso e imobilizado) no tratamento de água residuária têxtil. In: RODRIGUES, K., MARINHO, G. (Org.). **Fungos e águas residuárias industriais: nova tecnologia**. Recife: Imprima, p. 112-127. 2012.

WOOD, C. C., PÓREE, F., DREYER, I., KOEHLER, G. j., UDVARDI, M. K. Mechanism of ammonium transport, accumulation and retention in oocytes and yeast cells expressing Arabidopsis AtAMT1;1. **FEBS Letters** Vol. 580, p. 3931 – 3936, 2006.

YANG, Q., LI, C., LI, H., LI, Y., YU, N. Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. **Biochemical Engineering Journal** Vol. 43, p. 225-230. 2009.

YUN, M.A., YEON, K.M., PARK, J.S., LEE, C.H., CHUN, J., LIM, D.J. Characterization of biofilm structure and its effect on membrane permeability in MBR for dye wastewater treatment. **Water Research**, Vol. 40, p. 45-52. 2006.

ZHOU, Z., TAKAYA, N., NAKAMURA, A., YAMAGUCHI, M., TAKEO, K., SHOUN, H. Ammonia Fermentation, a novel anoxic metabolism of nitrate by fungi. **Journal of Biological Chemistry** Vol. 277 n° 3, p. 1892-1896. 2002.