

ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIN DE EFLUENTE SINTÉTICO DE INDÚSTRIA TÊXTIL EM REATOR DE BATELADAS SEQUENCIAIS COM *Aspergillus niger* AN 400

Aurenivia Maria Cavalcante Martins*, Alyce Helida Bastos de Souza, Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa, Carlos Ronald Pessoa Wanderley, Glória Maria Marinho Silva.

* Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará-Campus Maracanaú, aureniviamartins@gmail.com

RESUMO

A indústria ambiental vem contribuindo largamente para a contaminação ambiental, pois produz uma série de resíduos, dentre eles corantes que geralmente são mutagênicos ou carcinogênicos. Visto isso, os estudos com a utilização de fungo para a degradação do corante têm despontado como nova tecnologia, devido ao grande potencial destes micro-organismos de degradar diferentes compostos, particularmente, os recalcitrantes. O presente trabalho objetivou na aplicação do *Aspergillus niger*, em reator em bateladas sequenciais, visando à remoção do corante Índigo Carmin, na concentração de 100 mg/L, oriundo da etapa de lavagem da indústria têxtil, utilizando glicose como cossubstrato. Deste modo, fez-se necessário caracterizar o efluente têxtil oriundo da etapa de lavagem de tecidos “jeans” e verificar sua influência sobre a eficiência de remoção de corante, matéria orgânica carbonácea, medida em DQO, e nitrogenadas. O reator tinha volume reacional de 4 L e foi operado em 5 ciclos com tempo de retenção (TR) de 48 h. A média de remoção do corante Índigo carmin foi de 66,98%, sendo a máxima de 81,28%. As eficiências médias de remoção de DQO bruta e solúvel foram de 21,83% e 27,39%, respectivamente e para amônia, nitrato e nitrito 73,57%, 67,58% e 12,23%, respectivamente. Os valores de pH mínimo de 3,4 e máximo 4,5 estavam na faixa ideal para o crescimento de fungos do gênero *Aspergillus*. Os estudos devem ser continuados para se verificar a viabilidade deste tipo de tratamento biológicos de efluentes têxteis em escala real.

PALAVRAS-CHAVE: Indústria têxtil, corante, glicose, *Aspergillus niger*.

INTRODUÇÃO

Muitas substâncias químicas poluentes são lançadas de modo indiscriminado no meio ambiente. Entre elas, estão os agrotóxicos, surfactantes, hidrocarbonetos petroquímicos, drogas farmacêuticas e corantes, estes amplamente utilizados pelos setores de cosméticos, de papel, couro e derivados, alimentos e têxteis, sendo este o maior consumidor (URZEDO, 2008).

O controle dessas substâncias observadas na operação de reatores, como crescimento excessivo, limitação disfuncional de substrato e conseqüente perda de eficiência, exige o domínio da indução dos fungos, proporcionando condições para que os mesmos possam utilizar o poluente como substrato, resultando em uma tecnologia com nível elevado de eficiência e segurança, a fim de que os reatores com inóculo fúngico se firmem como sistemas confiáveis e economicamente viáveis (RODRIGUES & MARINHO, 2012).

Os corantes são constituintes de águas residuárias têxteis, sendo produzidos anualmente no mundo cerca de milhão de toneladas (Cao *et al.*, 1999). Em geral, estima-se que, aproximadamente, 20% da carga de corantes seja perdida nos resíduos, após o tingimento, o que representa um dos grandes problemas ambientais enfrentados pelo setor têxtil (GUARATINI *et al.*, 2000).

Os efluentes destas indústrias, se não tratados convenientemente antes de serem lançados em águas naturais, são capazes de contaminar mananciais e bacias de grande importância regional, o que leva as empresas se preocuparem em adequar seus sistemas de esgotamento à legislação vigente (IMMICH, 2006).

Os corantes sintéticos são mais baratos em relação aos naturais, pois oferecem uma ampla variedade de cores e possuem propriedades melhores para o tingimento. Hoje, existem milhares de corantes têxteis pertencentes a diferentes classes, muitos deles comercializados com diferentes nomes (MENEZES *et al.* 1985).

Tendo em vista a diversidade de natureza e características dos corantes, a poluição de corpos d'água com estes compostos provocam, além da poluição visual, alterações em ciclos biológicos afetando principalmente os processos

fotossintéticos dos microrganismos aquáticos. Essa diversidade e complexidade destes efluentes, aliados a imposições das legislações ambientais no controle de liberação de corantes em ambientes aquáticos, existe certa predileção pela utilização de processos que realmente possam degradar as espécies de interesse, em função dos inconvenientes citados.

O uso de reatores com fungos para o tratamento de despejos industriais pode vir a ser uma tecnologia econômica e eficiente. Entretanto, um dos maiores problemas para a sua viabilidade é a falta de consenso sobre as condições operacionais ótimas, em busca da completa mineralização do poluente, o que pode variar em função do substrato e da espécie utilizada (SPIER, 2005).

A grande motivação dos pesquisadores envolvidos em estudos de biodegradação pode ser expressa pela busca contínua de micro-organismos capazes de degradar de maneira eficiente grande número de poluentes a um baixo custo operacional. Em função da diversidade, concentração e composição de espécies químicas presentes em cada efluente (KUNZ, *et al.* 2002).

Para que haja um funcionamento pleno do metabolismo fúngico, faz-se necessário preparar um meio basal composto por micronutrientes, macronutrientes, fonte de carbono e vitaminas. As fontes de carbonos são de extrema importância para a eficiência do tratamento, já que interferem e influenciam diretamente o metabolismo dos fungos (RODRIGUES e SAMPAIO, 2012).

A relevância deste trabalho se dá pela necessidade de avaliar a viabilidade da aplicação do fungo *Aspergillus niger* AN400 na degradação do corante Índigo Carmim em efluente têxtil sintético em um reator de bateladas sequenciais.

METODOLOGIA

CULTIVO, PRODUÇÃO E CONTAGEM DE ESPOROS DE *Aspergillus niger* AN 400

Utilizou-se a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400, a qual foi inoculada, na forma de suspensão de esporos disponível e preservada a temperatura de -10 °C, de acordo com procedimentos descritos em Sampaio (2005). Os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 foram produzidos em placas de Petri estéreis contendo 15 mL de meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, meio específico para o crescimento dos fungos – mistura de peptonas, agar-ágar, 2% de Dextrose e glicose, acrescido de 1mL/L de meio de cultura da solução de Vishiniac: EDTA (10,0), ZnSO₄ . 7H₂O (4,4), MnCl₂ . 4H₂O (1,0), CoCl₂ . 6H₂O (0,32), (NH₄)₆Mo₇O₂₄ . 4H₂O (0,22), CaCl₂ . 2H₂O (1,47), FeSO₄ . 7H₂O (1,0), como fonte de micronutrientes para os fungos, além de clorafenicol (0,05 g/L) a fim de minimizar o crescimento bacteriano. Antes de ser adicionado nas placas, o meio foi esterilizado a 121° C, durante 15 minutos.

Após a solidificação do meio de cultura, os esporos foram inoculados nas placas e estas foram mantidas sob temperatura de 28° C, durante cinco dias, para o crescimento dos esporos por toda sua superfície, período após o qual os mesmos foram removidos para tubos de ensaio para posterior contagem. A remoção dos esporos das placas de Petri foi realizada com uso de alça de Drigalsky e solução de Tween 80.

Para a contagem dos esporos foi preparada uma solução de esporos utilizando 50 µL de suspensão, previamente agitada em agitador tipo Vórtex, acrescido de 950 µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida, 20 µL da solução preparada foram transferidos para câmara de Neubauer, onde foi efetuada a contagem em microscópio óptico Bioval com aumento de 400 vezes.

IMOBILIZAÇÃO DO FUNGO NO MATERIAL SUPORTE

A espécie de *Aspergillus niger* AN 400 foi imobilizada em espuma de poliuretano cortada em cubo de 2 cm de aresta, fazendo uso de seis frascos (erlenmyer) de 250 mL, contendo 1g.L-1 de glicose e meio sintético: (NH₄)₂SO₄ 0,5 g/L, NaNO₃ 0,25 g/L, KH₂PO₄ 0,20 g/L, MgSO₄ 0,25 g/L, CaCl₂ . 2H₂O 0,01 g/L, CuSO₄ . 7 H₂O 0,08 g/L, H₂MoO₄ 0,05 g/L, MnSO₄ . 5H₂O 0,05 g/L, Fe₂(SO₄)₃ 0,05 g/L, ZnSO₄ 0,04 g/L), para promover o crescimento no material suporte antes de sua introdução no reator e 0,5g.L-1 de cloranfenicol.

As espumas foram previamente esterilizadas e possuíam peso de 2,5g, logo depois do preparo do meio foi transferido para os frascos e inoculou-se a solução de esporos na concentração 2x10⁶ esporos/mL.

Os *erlenmyer* foram mantidos sobre uma mesa agitadora horizontal, sob agitação de 150 rpm durante 72 h, após esse período, o meio foi substituído por um novo. Ao todo, a imobilização durou 7 dias. Após a etapa de mobilização, as espumas foram transferidas para o reator em batelada para a partida do mesmo.

MONTAGEM E OPERAÇÃO DO REATOR EM BATELADA SEQUENCIAL COM BIOMASSA IMOBILIZADA

O reator utilizado era um baleiro de vidro e possuía volume total de 5 L e volume útil de 4 L, vedado com tampa plástica específica. Ele foi envolto por um saco preto de polietileno, para evitar uma possível fotodegradação. A aeração foi mantida com uso de mini-compressor de ar com vazão de 250 L/h e a alimentação foi a partir da água residuária sintética preparada.

A biomassa do reator ficou quatro meses adaptada ao efluente sintético, sendo a coleta de dados efetuada posteriormente a esse período.

O reator foi operado por 5 ciclos, com TR (tempo de retenção) de 48hs em cada ciclo. No início de cada ciclo, a água residuária sintética era renovada.

O volume amostral retirado em cada ciclo para a realização das análises foi apenas 10% do volume útil do reator por ciclo estudado. Foi realizado o monitoramento do pH, matéria orgânica, nitrogênio e descoloração do corante. As análises foram realizadas utilizando os métodos descritos por APHA (2005), exceto cor.

As eficiências de descoloração foram a partir das análises espectrofotométricas das alíquotas, utilizando-se as absorvâncias a 610 nm (cor real) medidas em espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu 1601 PC. O comprimento de onda de 610 nm foi adotado a partir dos espectros moleculares dos corantes sintéticos que apresentam uma maior absorvância neste valor.

ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA

A água residuária sintética que alimentou o reator, foi preparada com água de torneira acrescida de glicose com concentração de 1 g.L⁻¹, vishiniac com concentração de 1mL.L⁻¹, antibiótico com concentração de 0,5g.L⁻¹, a fim de evitar a proliferação de bactérias, hidrossulfito na concentração de 0,002 g.L⁻¹ e a concentração do corante sintético Índigo Carmin de 100 mg/L, pois é semelhante a concentração do corante no último tanque do processo de lavagem.

RESULTADOS OBTIDOS

A água residuária sintética que alimentou o reator aeróbio tinha as características apresentadas na Tabela

Tabela 1: Características da água residuária sintética que foi utilizada na alimentação do reator.

Variável	Concentração média (mg/L) / Desvio médio
Corante	103,94 ± 2,22

DQO total (mg/L)	942,4 ± 325,84
DQO solúvel (mg/L)	911,64 ± 317,36
pH	5,5 ± 0,18
Nitrato	6,36 ± 3,41
Nitrito	3,95 ± 0,71
Amônia	40,34 ± 20,78

A eficiência do tratamento com reator biológico com fungo está representada pelos os valores de remoção de corante e matéria orgânica, em termos de Demanda Química de Oxigênio (DQO) bruta e solúvel, e remoção de compostos nitrogenados como nitrato, nitrito e amônia, na Tabela 2.

Tabela 2: Eficiência de remoção das variáveis acompanhadas durante o experimento

CICLOS	EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO (%)					
	CORANTE	DQO BRUTA	DQO SOLÚVEL	AMÔNIA	NITRITO	NITRATO
1	44,89	21,83	27,39	13,69	4,03	65,57
2	56,89	97,08	40,06	79,7	51,35	11,67
3	66,98	30,63	30,63	96,7	67,58	88,87
4	75,28	8,73	8,73	73,57	68,19	12,23
5	81,28	0,42	0,42	58,57	95,53	5,52

Observou-se que a eficiência na degradação de matéria orgânica foi em média de 21,83% e 20,09%, respectivamente, em termos de DQO total e DQO solúvel. Sendo a maior eficiência observada no ciclo 2, em torno de 97% a bruta e 40% a solúvel. Segundo IKEDA *et al.*, (2006) e ZNAD *et al.* (2004) a fonte de carbono (glicose) e corante ao ser utilizada pelo *Aspergillus niger* na síntese de biomassa, produz metabólitos, que podem ser acumulados no interior das células ou excretados. Assim, a pequena remoção de matéria orgânica (DQO), com a elevada remoção de corante, como observado no ciclo 5 onde a DQO bruta e solúvel tiveram a remoção de apenas 0,42% e o corante de 81,28%, estaria possivelmente relacionada à formação de subprodutos que não foram assimilados pelos fungos ao degradarem o grupo cromóforo do corante (CASAS *et al.*, 2009).

Como mostrado nas Figuras 1 e 2 observou-se que a eficiência do tratamento na remoção de DQO bruta e solúvel se manteve constante durante todos os ciclos estudados com média de 21,83% e 27,39% respectivamente.

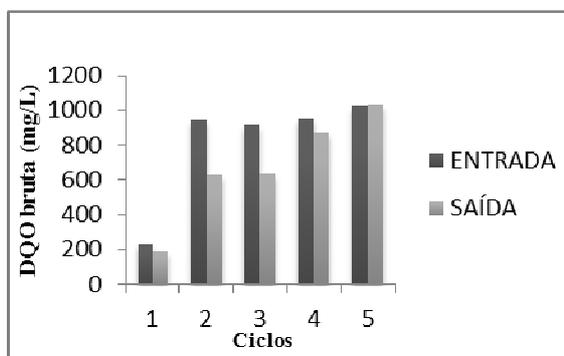


Figura 1: variação da remoção de DQO bruta

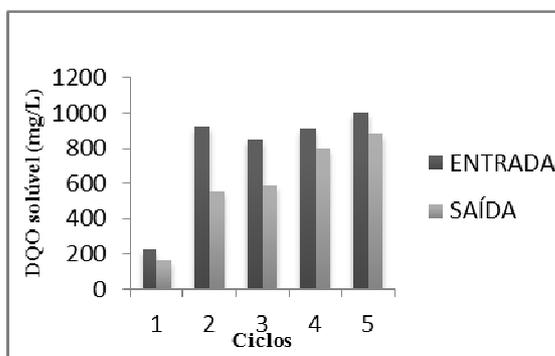


Figura 2: variação da remoção de DQO solúvel

A média de remoção de corante foi de 66,98%, tendo a maior eficiência observada no ciclo 5, em torno de 80% e a menor de 45%, no ciclo 1, como pode ser observado na Figura 3. Isso deve ter ocorrido por conta da mudança do tempo

reacional no qual o reator operava antes deste experimento, em um tempo de retenção de 7 dias, visto que ao final dos ciclos de 48 h estudados a atividade microbiana foi restaurada chegando a atingir uma eficiência 81,28% no último ciclo, como podemos observar na Tabela 2.

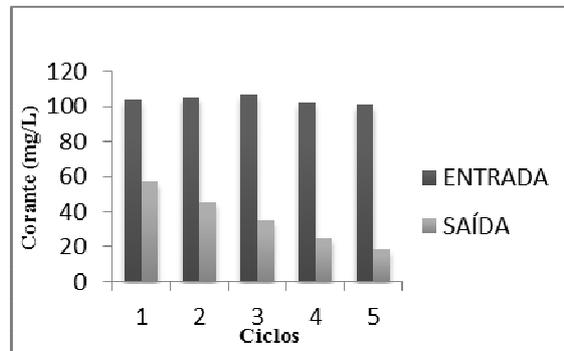


Figura 3: variação da remoção do corante

O pH é um parâmetro que desempenha uma importante influência na indução de mudanças morfológicas no organismo e também para a secreção enzimática (SPIER, 2005).

Estudos apontam que a maioria das espécies de fungos possui o pH ótimo em torno de 5 a 6, porém os fungos filamentosos, como o *Aspergillus niger*, toleram variações em faixa mais ampla de pH de 2 a 9 (TRABULIS e ALTERTHUM, 2004). Segundo Griffin (1994), nos meios fracamente tamponados e que contêm sais de amônio esses meios tendem a se tornar ácidos, no qual está caracterizado o efluente que foi utilizado, onde o pH foi ajustado para 5 e ao final do processo sua saída era em média de 3,5, como pode ser observado na Figura 4. Isto pode ser devido ao metabolismo do fungo e a sua fonte de carbono.

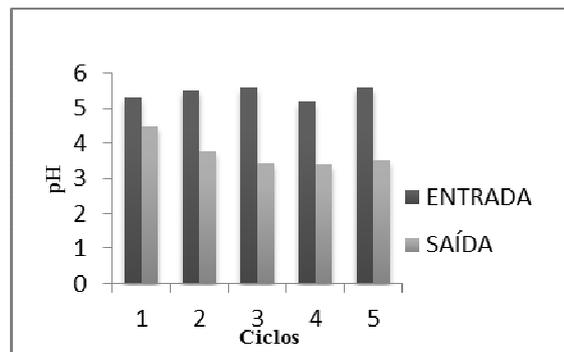


Figura 4: variação do pH em função do tempo

As eficiências de remoção das formas nitrogenadas oscilaram ao longo dos ciclos, o que pode ser observado na Tabela 2. Todavia, em todo o período experimental os valores de nitrato, nitrito e amônia na saída do reator foram sempre inferiores aos valores da entrada, como apresentados nas Figuras 5, 6 e 7. Griffin (1994) afirmou que para algumas espécies fúngicas o nitrito pode ser tóxico, entretanto pode ser utilizado por fungos que têm habilidade para consumo de nitrato, como o *Aspergillus niger*, o qual é capaz de degradar resíduos nitrogenados, retirando amônia e nitrito do meio.

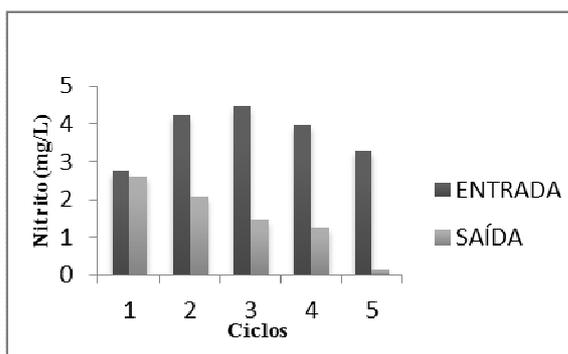


Figura 5: vaiação da remoção de nitrito

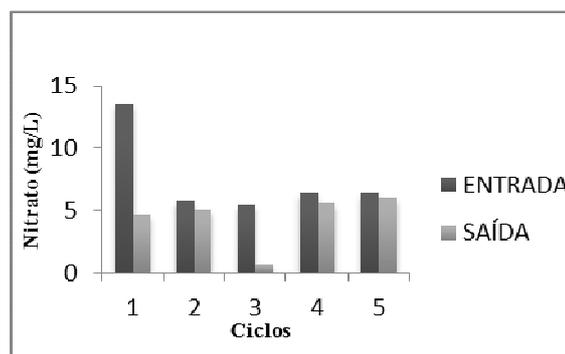


Figura 6: vaiação da remoção de nitrato

A amônia é o regulador principal da assimilação de nitrogênio pelos fungos e, na sua presença, o consumo de outras fontes de nitrogênio, como nitrato, aminoácidos e proteínas, são reprimidos, mas a remoção conjunta de amônia e nitrato pode ser observada na Tabela 2, tendo sido de 96,7% e 88,87% de amônia e nitrato, no ciclo 3, respectivamente. O íon amônio permite o crescimento do fungo em meio ligeiramente básico até ácido, onde na sua utilização pelo fungo o meio tende a acumular H⁺, podendo chegar a níveis que impeçam a passagem do íon pela membrana devido à necessidade de manter o equilíbrio celular. Porém sua retirada do meio pode ser mantida com a adição de sais que tamponem o meio (GRIFFIN, 1994).

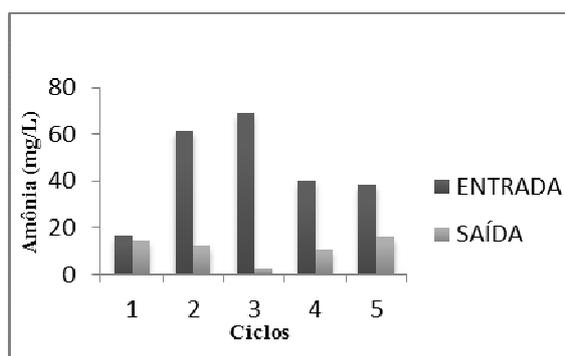


Figura 6: vaiação da remoção de amônia

Provavelmente, a concentração de nitrogênio amoniaco disponível no meio ($40,34 \pm 20,78$) teria influenciado na grande oscilação da eficiência de remoção de nitrato, a qual estaria presente em concentração suficiente para suprir suas necessidades metabólicas, resultando nos menores percentuais de remoção de nitrato observados nos ciclos 2 e 5.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no tratamento da água residuária sintética têxtil, permitiram concluir que o *Aspergillus niger* AN 400 removeu significativamente o corante Índigo Carmim com eficiência média superior a 66,98%.

Os valores de pH estavam na faixa de tolerância dos fungos.

A remoção de matéria orgânica teve a média de 20%, mostrando assim que a necessidade de continuação desse estudo é importante para a identificação de possíveis subprodutos. As eficiências médias de remoção de nitrato, nitrito e amônia foram 12,23%, 67,58% e 73,57%, respectivamente.

Visto os bons resultados alcançados neste trabalho, verifica-se que ainda haja a necessidade de mais estudos com tempos de retenção menores e o tratamento biológico com fungos *Aspergillus niger* pode ser viável em reatores visando o tratamento de efluentes têxteis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. Standard Methods for examination of Water and Wastewater American Water Works Association, Water Environment Federation, 20^o edição, 2005.
2. CASAS, N.; PARELLA, T.; VICENT, T.; CAMINAL, G.;SARRA, M. Metabolites from the biodegradation of triphenylmethane dyes by *Trametes versicolor* or laccase. *Chemosphere*, v. 75, n. 10, p. 1344-1349, 2009.
3. GRIFFIN, D. *Fungal Physiology*. New York: Wiley Liss, 1994.
4. GUARATINI, C. C. I; ZANONI, M. V. B.; *Quim. Nova*, v.23, p. 71-75, 2000
5. IKEDA, Y.; PARK, E.Y.; OKUDA, N. Bioconversion of waste office paper to gluconic acid in a turbine blade reactor by the filamentous fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, Japão, v. 97, n. 8, p. 1030-1035, 2006.
6. IMMICH, A. P. S. Remoção de Corantes de Efluentes Têxteis Utilizando Folhas de *Azadirachta indica* como Adsorvente. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 119 p., 2006.
7. KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; DURÁN, S. G. M. N. Novas Tendências no Tratamento de Efluentes Têxteis. *Química Nova*, v. 25, n.1, p. 78-82, 2002.
8. MENEZES, B. F.; ALTERMATT, C.; PECEGUEIRO, M.; BORDALO, O.; FOUSSEREAU, J. Contact . Dermatitis to Disperse Blue 106. *Contact Dermatitis*,v. 13, p.80-84, 1985
9. RODRIGUES, K.A. Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética. 130f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
10. RODRIGUES e SAMPAIO, 2012- RODRIGUES, K.; MARINHO, G. Fungos e Águas Residuárias Industriais: uma nova tecnologia. Fortaleza, Editora Imprima, 414p, 2012.
11. SAMPAIO, G. M. M. S. Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos, 2005. 115f. Tese (Doutorado em Saneamento) – – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
12. SPIER, M. R. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2005.
13. TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 4 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004
14. URZEDO, A. P. F.M. Degradação de Substâncias de Relevância Ambiental por Processos Oxidativos e Redutivos com Monitoramento por Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray. Tese (Doutorado em Ciências-Química). Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Exatas, Belo Horizonte, 179 p.,2008.
15. ZNAD,H., MARKOS, J., BALES, V. Production of gluconic acid from glucose by *Aspergillusniger*: growth and non-growth conditions. *Process Biochemistry*, RepúblicaEslovaca, v.39, n. 11, p. 1341-1345, 2004.