

Uso de etanol como cossubstrato para micodegradação de corante azo

Use of ethanol as cosubstrate for azo dye mycodegradation

- **Data de entrada:**
03/10/2014
- **Data de aprovação:**
15/01/2015

Bárbara Chaves Aguiar Barbosa | Manuela Franco De Miranda | Camila Sabóia Morais Gabriele
Kelly De Araújo Rodrigues Pessoa | Carlos Ronald Pessoa Wanderley | Glória Maria Marinho Silva

DOI: 10.4322/dae.2014.147

Resumo:

A indústria têxtil representa para o meio ambiente uma atividade potencialmente poluidora, visto que gera grandes volumes de efluentes. Os rejeitos dessa atividade sem o devido tratamento, ao atingir os mananciais, representam ameaça ecológica e podem causar, ainda, danos à saúde pública. Nesse intuito, o presente trabalho teve como objetivo a remoção do corante vermelho do Congo, de matéria orgânica carbonácea e de nutrientes de efluente sintético têxtil, utilizando biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 em reator em bateladas sequenciais. O etanol (0,5 g/L) foi adicionado ao meio como cossubstrato e o experimento foi realizado em escala laboratorial, tendo-se operado o reator durante 210 dias em 44 ciclos de 48 horas. Foram analisadas as variáveis: corante, Demanda Química de Oxigênio (DQO) bruta e filtrada, amônia, nitrato, nitrito, ortofosfato, fósforo e monitoramento do pH. A remoção média, considerando o final de cada ciclo, foi de 92% de corante, 80% de DQO bruta e 82% de DQO dissolvida. Com relação à remoção de nutrientes, o sistema apresentou-se instável, revelando oscilação entre remoção e liberação. Observou-se que os fungos foram dominantes no biofilme, uma vez que, em relação às bactérias, se obtiveram quatro vezes mais fungos. Destarte, o emprego do etanol como cossubstrato mostrou-se viável para remoção de corante.

Palavras-chave: *Aspergillus niger* AN 400. Etanol. Vermelho do Congo.

Abstract:

*The textile industry is the environment potentially polluting activity, since it generates large volumes of effluents. The waste of this activity without proper treatment, to reach the springs, represent ecological threat and can still cause harm to public health. To this end, the present work was aimed at removing the dye congo red, organic matter and carbonaceous synthetic textile effluent nutrients, using immobilized biomass of *Aspergillus niger* AN 400 in sequencing batch reactor. Ethanol (0.5 g / L) was added to the medium as cosubstrate and the experiment was conducted on a laboratory scale, and the reactor was operated for 210 days in 44 cycles of 48 hours. The following variables were analyzed: dye, chemical oxygen demand (COD) gross and filtered, ammonia, nitrate, nitrite, orthophosphate, phosphorus and monitoring the pH. The average removal, considering the end of each cycle was 92% dye, 80% gross COD and 82% dissolved COD. Regarding the removal of nutrients, the system had to be unstable, with oscillation between removal and release. It was found that the fungi were dominates the bio-film, as compared to bacteria was obtained fourfold more fungi. Thus, the use of ethanol as cosubstrate proved viable for dye removal.*

Keywords: *Aspergillus niger* AN 400. Ethanol. Congo red.

Bárbara Chaves Aguiar Barbosa

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) da Universidade Federal do Ceará – área de concentração: Saneamento Ambiental.

Manuela Franco de Miranda

Tecnóloga em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE).

Camila Sabóia Moraes Gabriele

Tecnóloga em Gestão Ambiental pelo IFCE.

Kelly De Araújo Rodrigues Pessoa

Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP). Professora efetiva do Departamento de Química e Meio Ambiente do IFCE.

Carlos Ronald Pessoa Wanderley

Engenheiro civil e mestre em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Professor efetivo do curso de Engenharia Ambiental do IFCE.

Glória Maria Marinho Silva

Doutora em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP. Professora efetiva do Departamento de Química e Meio Ambiente do IFCE.

Endereço para correspondência:

Universidade Federal do Ceará - Campus Pici
Avenida Mister Hull, s/n - Bloco 713 - CEP 60455-900
Tel.: (85) 3307-3750
E-mail: barbara.cefetce@gmail.com

INTRODUÇÃO

A indústria têxtil tem crescido consideravelmente nos últimos anos, o que acarretou o aumento da sua produção e, conseqüentemente, a maior geração de efluentes líquidos, que, além da cor acentuada, contêm alta carga orgânica e compostos químicos que são tóxicos ao homem e ao meio ambiente (CORRÊA et al., 2009).

Sua implantação impõe um elevado risco ambiental à sociedade, principalmente no Nordeste, em virtude da escassez de água – devido à elevada demanda de água das atividades têxteis – e da ausência de sistemas adequados de tratamento de efluentes. As atividades de fiação e tecelagem da indústria têxtil são definidas como de alto potencial poluidor degradador quando o processo inclui tingimento ou tinturaria (ABREU et al., 2008).

No beneficiamento têxtil, é gerado o maior volume de efluentes líquidos, compreendendo as operações de purga, mercerização, desengomagem, alvejamento e tingimento. A quantidade de carga contaminante desses efluentes vai depender do processo operacional, matéria-prima utilizada e produto final. Além de problemas ambientais de-

vido à disposição inadequada dos efluentes gerados pela indústria têxtil, o excesso de água utilizado em seu processo de produção é exorbitante (FREITAS, 2002).

Os corantes são identificados como o maior problema dos efluentes têxteis, pois, além de sua baixa degradabilidade, possuem solubilidade elevada em água, de modo que, ao ser lançados ao meio aquático em pequenas quantidades, podem causar mudanças na coloração dos mananciais (RADHA et al., 2005). Durante o processamento dos tecidos, até 15% dos corantes utilizados são liberados. Além disso, todos os corantes utilizados na indústria têxtil são fabricados para resistir ao desbotamento por exposição ao suor, luz, água e produtos químicos, incluindo agentes oxidantes e ataque microbiano (WESENBERG et al., 2003)

Segundo Kunz et al. (2002), os corantes do grupo azo possuem em sua composição grupos cromóforos de difícil degradação que se caracterizam por apresentar um ou mais grupamentos -N=N- ligados a sistemas aromáticos. Esses compostos são potencialmente tóxicos, altamente carcinogênicos e xenobióticos. O lançamento desses

efluentes têxteis sem o devido tratamento nos corpos d'água dificulta a penetração da luz, impossibilitando a fotossíntese e causando impacto negativo na demanda química de oxigênio, sendo tóxicos à biota (KHELIFI et al., 2009).

De acordo com Vasques et al. (2011), usualmente, o tipo de tratamento empregado para remoção do corante envolve processos físicos ou químicos, incluindo coagulação, floculação, oxidação avançada H_2O_2/UV , ozonização, troca iônica, irradiação e adsorção. Algumas dessas técnicas de tratamento têm se mostrado eficientes, embora possuam limitações por questões econômicas e/ou práticas.

Devido ao custo relativamente mais alto dos tratamentos físico-químicos (HAILEI et al., 2009), pois geralmente têm eficiência reduzida em 20% pela presença dos aditivos químicos contidos no efluentes têxteis, torna-se necessário viabilizar outras tecnologias para a remoção desses compostos, como os sistemas biológicos, visto que podem ser processos eficientes e com boa viabilidade para remoção de corantes têxteis, devido, possivelmente, à completa mineralização do composto por microrganismos (YANG et al., 2009).

A solução para descoloração de efluentes têxteis forneceria uma vantagem competitiva para o setor industrial (MACHADO et al., 2006); diante disso, várias tecnologias para o tratamento dos efluentes têxteis são encontradas, incluindo o uso de bactérias, fungos ou os dois simultaneamente (CHANDER; ARORA, 2007). A remoção de cor por biomassa fúngica (viva ou morta) vem sendo tema de muitas pesquisas, de modo que essa tecnologia tem sido amplamente investigada (FU, 2002).

A utilização de reatores com fungos tem proporcionado resultados promissores na remoção de corantes, principalmente com a adição de cosubstrato, o qual promove melhores eficiências no tratamento (KHELIFI et al., 2009). De acordo com Chander e Arora (2007), os fungos produzem enzimas extracelulares capazes de romper grande

variedade de ligações moleculares heterogêneas, porém requerem fontes de carbono mais facilmente assimiláveis para, em seguida, iniciar a produção de enzimas extracelulares para a biodegradação de corantes (KHELIFI et al. 2009). Devido a essa habilidade de produzir enzimas extracelulares, os fungos exibem grandes vantagens sobre as bactérias na degradação e mineralização do corante (YANG et al., 2009).

Segundo Khelifi et al. (2009), a glicose parece ser a fonte de carbono mais adequada para a descoloração do corante vermelho do Congo, porém outros açúcares e substâncias orgânicas podem ser utilizados como fontes de carbono e energia. Por exemplo, Grady et al. (1999) sugerem que o etanol poderia ser utilizado para obtenção de energia, produção e manutenção celular, comportando-se como fonte doadora de elétrons para o metabolismo microbiano, uma vez que a biodegradação do etanol é uma reação de oxidação-redução realizada durante o processo respiratório microbiano, na qual os micróbios são oxidados, ou seja, doam elétrons a um receptor.

No entanto, o etanol é um solvente orgânico capaz de dissolver a camada lipídica da membrana celular e comprometer a estabilidade enzimática de alguns microrganismos (MALLER, 2008). Por esse motivo, pode ser tóxico para o metabolismo microbiano, o que irá depender da concentração, tempo de exposição e microrganismo envolvido. Estudos defendem que a espécie fúngica *Aspergillus niger* possui tolerância a 3% a 4% de etanol no meio (DEMIREL, 2005; DANTIGNY, 2005), o que representaria uma vantagem competitiva em relação a outras espécies presentes no mesmo reator.

Diante dessa problemática, o presente trabalho objetiva verificar o potencial de remoção do corante vermelho do Congo, matéria orgânica carbonácea e nutrientes em reator em bateladas sequenciais na presença de etanol como cossubs-

trato, utilizando como inóculo a espécie *Aspergillus niger* AN 400.

MATERIAL E MÉTODO

Imobilização

Para a imobilização do *Aspergillus niger* AN 400, foram utilizados cubos de espuma de poliuretano, com densidade de 26 kg.m³ e 1 cm de aresta, segundo procedimentos descritos em Vassilev (1997). Os cubos, perfazendo massa total de 5 g, foram acomodados no interior de frascos erlenmeyers contendo 150 mL do meio basal, conforme apresentado a seguir (g.L⁻¹): NH₄SO₄ (2,0); NaNO₃ (1,0); K₂HPO₄ (0,2); MgSO₄ (0,25); CaCl₂ (0,01); Fe₂(SO₃)₄ (0,05); CuSO₄ (0,08); H₂MoO₄ (0,05); ZnSO₄ (0,04) e inóculo do fungo, na concentração de 2x10⁶ esporos.mL⁻¹. Os frascos permaneceram durante sete dias sob agitação de 150 rpm para crescimento da biomassa nos cubos de suporte. Após esse procedimento, os cubos de espuma de poliuretano contendo a biomassa fúngica foram agrupados em redes de polietileno, que foram posteriormente transferidas para o reator.

Montagem e operação do reator

O reator empregado era cilíndrico, com volume útil de 4 L (Figura 1), confeccionado em vidro, com tampa rosqueável. A aeração do meio foi fornecida por minicompressores de ar, difundidos por duas pedras porosas. O reator foi coberto com saco preto de polietileno, a fim de prevenir a perda do corante por fotodegradação, e operado em 44 ciclos de 48 horas de duração cada, perfazendo um total de sete meses. Foram coletadas amostras do afluente e efluente e realizados procedimentos para determinação das variáveis: Demanda Química de Oxigênio (DQO) dissolvida e bruta, corante, amônia, nitrito, nitrato, pH, fósforo total e ortofosfato. As análises foram executadas de acordo com a American Public Health Association (APHA, 2005), exceto corante, o qual foi realizado segundo metodologia descrita em Rodrigues et al. (2010), e nitrato, descrito em Rodier (1975).



Figura 1 - Reator aerado, em batelada, com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 para remoção de vermelho do Congo.

ESTIMATIVA DA MASSA DE CORANTE ADSORVIDO NO MATERIAL DE SUPORTE

Uma amostra da espuma de poliuretano, que estava aderida à superfície do biofilme fúngico, foi retirada do reator e transferida para erlenmeyer, contendo 50 mL de água destilada e pérolas de vidro, procedendo-se à agitação manual vigorosa até seu desprendimento. Em seguida, a biomassa foi separada do conteúdo líquido por centrifugação, durante 20 minutos, em uma rotação de 3.500 rpm, sendo então transferida para erlenmeyer, ao qual se adicionaram 15 mL de metanol (99,8% da Sigma Aldrich®). A biomassa foi macerada durante 5 minutos e posteriormente centrifugada, nas mesmas condições anteriormente descritas, para separação das fases, medindo-se a concentração de corante no conteúdo líquido. Paralelamente, a espuma, isenta de biomassa, foi adicionada em erlenmeyer, com 15 mL de metanol (99,8% da Sigma Aldrich®), visando à remoção do corante adsorvido na esponja. Os resultados foram lidos em espectrofotômetro (Biospectro®, modelo SP-220, luz UV e visíveis na faixa de 200 a 1.000 nm), no comprimento de onda de 500 nm.

ESTIMATIVA DA BIOMASSA PRESENTE NO REATOR

Ao final da operação do reator, foi retirado um cubo de espuma – com biomassa aderida –, pos-

teriormente colocado em um erlenmeyer com pérolas de vidro; depois, adicionaram-se 100 mL de água destilada e procedeu-se à agitação manual até o desprendimento total da biomassa. O conteúdo do erlenmeyer foi filtrado a vácuo, com uso de membrana de fibra de vidro com porosidade 0,47 μm , a qual foi previamente pesada. A membrana contendo a biomassa retida foi levada para mufla a 550 °C e, em seguida, para estufa para estabilização da temperatura em 100 °C. Depois, foi para dessecador, no qual permaneceu até obtenção do peso constante, obtendo-se a concentração de biomassa em termos de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV).

O cubo de espuma – isento da biomassa aderida – também foi submetido à secagem em estufa a 100 °C e conduzido para o dessecador até obtenção do peso constante, calculando-se a quantidade em gramas de biomassa por grama de espuma.

Contagem de microrganismo (fungos e bactérias)

O procedimento de contagem dos microrganismos foi realizado por meio de diluição em série, utilizando meio específico, para contagem de bactérias, e meio Martin, para contagem de fungos. Esses meios possuíam a seguinte composição:

- meio nutriente-ágar da Dinâmica®: 15 g de bactoágar, 3 g de extrato de carne, 5 g de peptona, 8 g de NaCl, 1.000 mL de água destilada;
- meio Martin: 1 g de KH_2PO_4 da Dinâmica®, 5 g de peptona da Acumedia®, 0,5 g de K_2HPO_4 da Dinâmica®, 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ da Dinâmica®, 10 g de dextrose da Merck®, 0,5 g de extrato de levedura da Acumedia®, 0,033 g de rosa bengala da Inlab®, 18 g de ágar da Acumedia®, 1.000 mL de água destilada.

Para a contagem das colônias, utilizou-se a técnica *spread-plate* para bactérias e fungos. Inicialmente, retirou-se um cubo de esponja do reator e

acrescentaram-se 60 mL de solução salina (0,9% de NaCl) e pérolas de vidro em um erlenmeyer, o qual foi submetido à agitação em vórtex para completo desprendimento da biomassa. Alíquotas de 1 mL foram retiradas e transferidas para tubos de 9 mL de solução salina. Posteriormente, retiraram-se alíquotas, que foram transferidas para outro tubo com solução salina e assim sucessivamente até a obtenção das concentrações de 10^{-4} até 10^{-7} , tanto para fungos quanto para bactérias. Em seguida, 0,1 mL das amostras obtidas com as diluições foi adicionado aos meios de cultura já solidificados. As placas inoculadas permaneceram em incubadora microbiológica à temperatura de cerca de ± 28 °C e as contagens foram realizadas após três dias para bactérias e cinco dias para fungos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH do afluente variou entre 4,5 e 5,0. De acordo com Griffin (1994), essa faixa de pH oferece ótimas condições de desenvolvimento fúngico. No efluente, o pH manteve-se entre 3,0 e 4,0, observando-se a diminuição do seu valor afluente em todos os ciclos, o que foi atribuído à provável produção de ácidos orgânicos, formados tanto pelo uso do etanol como cossustrato no meio quanto pelo consumo do corante pelos fungos (YAYKASLI, et al., 2005; WANDERLEY, 2007).

A remoção média de corante foi de 92%, registrada no final dos ciclos operacionais, sendo o percentual máximo de remoção de 99% (44º ciclo). No entanto, no 30º ciclo, ocorreu diminuição da eficiência de remoção do corante, provavelmente devido ao processo de adsorção e dessorção de parcela do poluente que teria sido adsorvida no micélio dos fungos (RODRIGUES, 2006; KHELIFI et al., 2008).

Segundo Yang et al. (2009), os fungos não são capazes de assimilar corantes como única fonte de carbono e energia para seu crescimento e produção de enzimas extracelulares, havendo, assim, a necessidade da utilização de cossustrato. Assim,

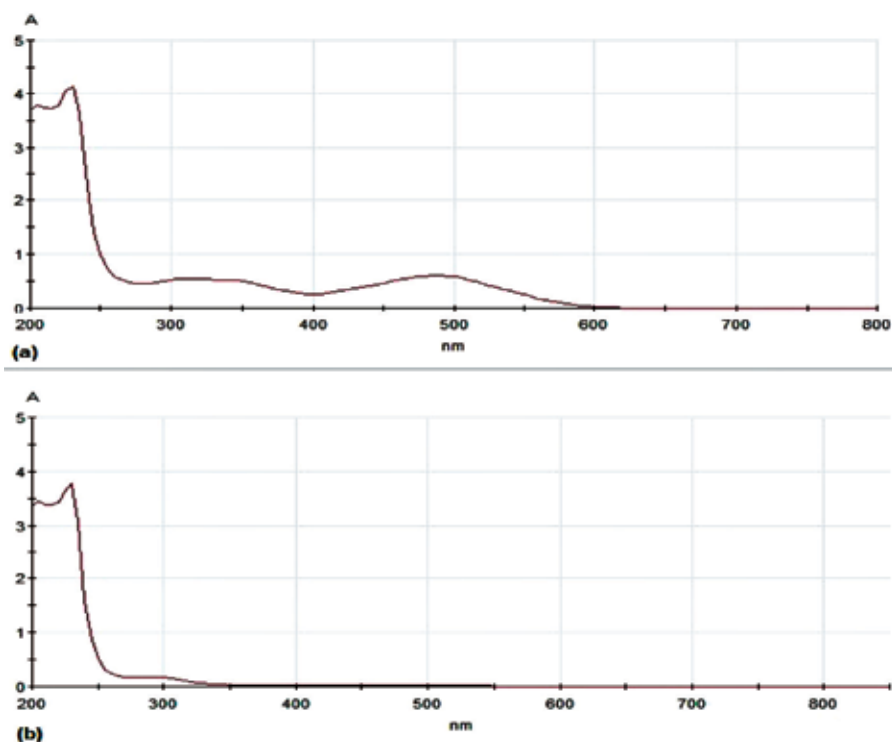


Figura 2 - Varredura do afluente (a) e efluente (b) do reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger*.

a adição de cossustratos torna-se essencial para a remoção da cor em meios contendo corantes azoicos (SANTOS, 2005; SUMATHI; MANJU, 2000; SILVA, 2009). Como o etanol é um solvente orgânico capaz de dissolver a camada lipídica da membrana celular (MALLER, 2008), essa característica poderia facilitar a entrada do corante para o interior da célula por meio da membrana celular.

A remoção biológica do corante foi endossada pela estimativa de corante adsorvido no material de suporte e no micélio fúngico, tendo-se constatado, a partir dos ensaios de adsorção, que havia 0,0001 g de corante por grama de biomassa e 0,01 g de corante por grama de material de suporte. Com base nesses dados, verificou-se que ao longo do tempo de operação do reator utilizando etanol foi removida massa total de 1,01 g de corante, o que resultou em massa de 0,0924 g de corante para a massa total de espuma, valor cerca

de dez vezes superior ao encontrado adsorvido no suporte e 100 vezes superior ao estimado em relação ao corante adsorvido no micélio. Além disso, foi encontrado 0,03 g de corante adsorvido no micélio, o qual foi estimado em SSV, obtendo-se 36 g de biomassa por grama de espuma, quando do final da operação do reator.

Foi realizada varredura no afluente e efluente, variando comprimento de onda de 200 a 800 nm. Como mostrado na Figura 2, pode-se observar que houve a ruptura dos grupos cromóforos da ligação azo (λ : 500 nm) e do naftaleno (λ : 310 nm), sendo observada neste diminuição de 93% em relação ao afluente no ciclo em questão. Contudo, o anel benzênico não foi efetivamente removido do meio (λ : 233 nm), uma vez que sua molécula é altamente resistente à quebra, o que é explicado pela estabilização das ligações car-

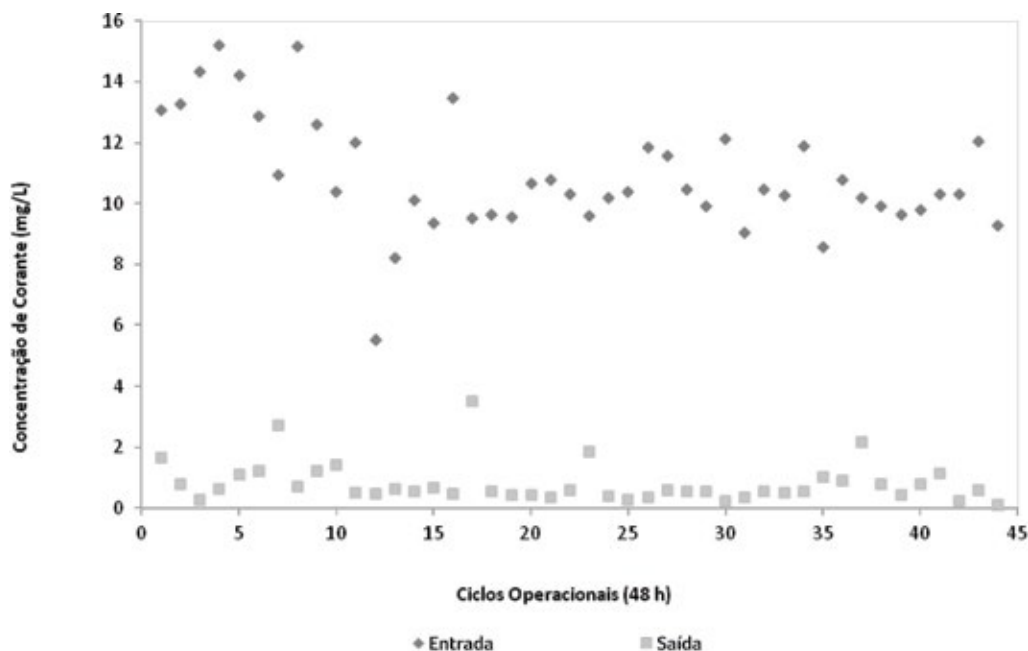


Figura 3 - Variação da concentração de corante no meio ao longo dos ciclos operacionais do reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger*.

bono-carbono e pela estrutura simétrica do anel (TRIGUEIROS, 2008).

Rodrigues et al. (2011) relataram que, ao utilizar 1 g/L de glicose como cossustrato em reator em batelada sequencial para remoção de corante vermelho do Congo (10 mg/L), aplicando o *Aspergillus niger*, com tempo reacional de sete dias, alcançaram resultados semelhantes aos da presente pesquisa. Segundo Juhasz e Naidu (2000), embora alguns fungos sejam capazes de transformar compostos como benzeno, apenas alguns gêneros de bactérias possuem capacidade de utilizar esse composto como única fonte de carbono e energia, principalmente os de elevado peso molecular. Ainda segundo os autores, bactérias aeróbias, especialmente pseudomonas, são capazes de usar vários compostos como fonte de carbono e energia, cujas estruturas químicas contêm um ou mais anéis de benzeno.

O emprego do etanol na presente pesquisa proporcionou aos microrganismos boa eficiência de

remoção de corante no comprimento de onda relativo ao cromóforo (λ : 500 nm), como pode ser observado. Na Figura 3, são apresentados os valores de concentração de corante vermelho do Congo ao longo dos ciclos operacionais.

Em termos de matéria orgânica, a eficiência média da DQO bruta foi de 80% e a de DQO dissolvida foi de 82%. Do 1° ao 24° ciclo, a remoção de matéria orgânica não acompanhou o decaimento da remoção de corante. Houve suave oscilação na eficiência de remoção de matéria orgânica no sistema (Figura 4).

A maior concentração de matéria orgânica carbônica em relação à de corante presente do 1° ao 24° ciclo poderia estar relacionada à produção de maior quantidade de compostos excretados pelos fungos devido à utilização do corante e do etanol como substrato, de forma que o efeito do etanol teria resultado no aumento da permeabilidade da membrana celular e, possivelmente, metabólitos poderiam ser excretados mais facilmente pela cé-

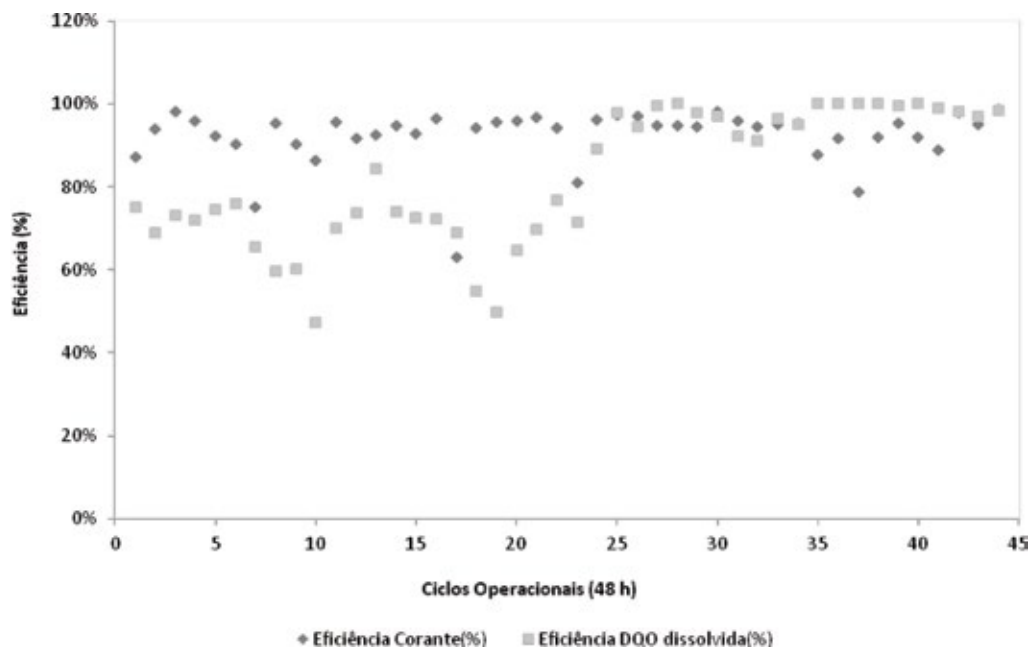


Figura 4 – Comparativo entre eficiência de remoção de corante e matéria orgânica dissolvida ao longo dos ciclos operacionais do reator em bateladas sequenciais.

lula (YAYKASLI et al., 2005). Segundo Ikeda et al. (2006), quando a espécie *Aspergillus niger* utiliza fonte de carbono na síntese de biomassa, produz metabólitos, que podem sofrer acumulação intracelular ou ser excretados.

No 10º ciclo, houve uma das menores remoções de matéria orgânica observada, em termos de DQO dissolvida (47%), enquanto a remoção de corante foi de 86%, podendo indicar que, possivelmente, tenha ocorrido formação de subprodutos decorrentes da quebra das ligações químicas do corante pelos fungos, os quais não foram identificados.

A partir do 25º ciclo, a remoção de matéria orgânica acompanhou a remoção do corante, chegando a quase 100% de remoção de DQO dissolvida nos ciclos 28, 35, 36, 37, 38, 39 e 40, provavelmente promovida pela adaptação do fungo às condições do meio.

Ao longo dos ciclos operacionais, não houve consideráveis diferenças entre os valores de DQO bruta e DQO dissolvida (Figura 5), fato que pode

estar associado ao pouco desprendimento de biomassa do material de suporte.

Em relação à remoção de nitrogênio amoniacal, houve consumo em quase todos os ciclos, obtendo-se eficiência máxima de 31%, correspondente ao 15º, 17º e 43º ciclos. Entretanto, na maioria dos ciclos, sua remoção foi baixa. Provavelmente, as concentrações de amônia no meio estavam em quantidades superiores à capacidade de assimilação dos microrganismos, sendo a concentração média de amônia no afluente de 2.260 mg/L.

Alguns ciclos foram caracterizados pela liberação de amônia no meio, o que pode ser explicado pela necessidade do fungo de manter o pH interno da célula em equilíbrio, de modo que há grande liberação de H⁺ para o meio externo, cessando a entrada do íon amônio para o meio intracelular (BEVENSEE; BORON, 2008; WOOD et al., 2006). De acordo com Rodrigues (2006), os fungos possuem capacidade de armazenar e liberar amônia por estruturas denominadas vacúolos.

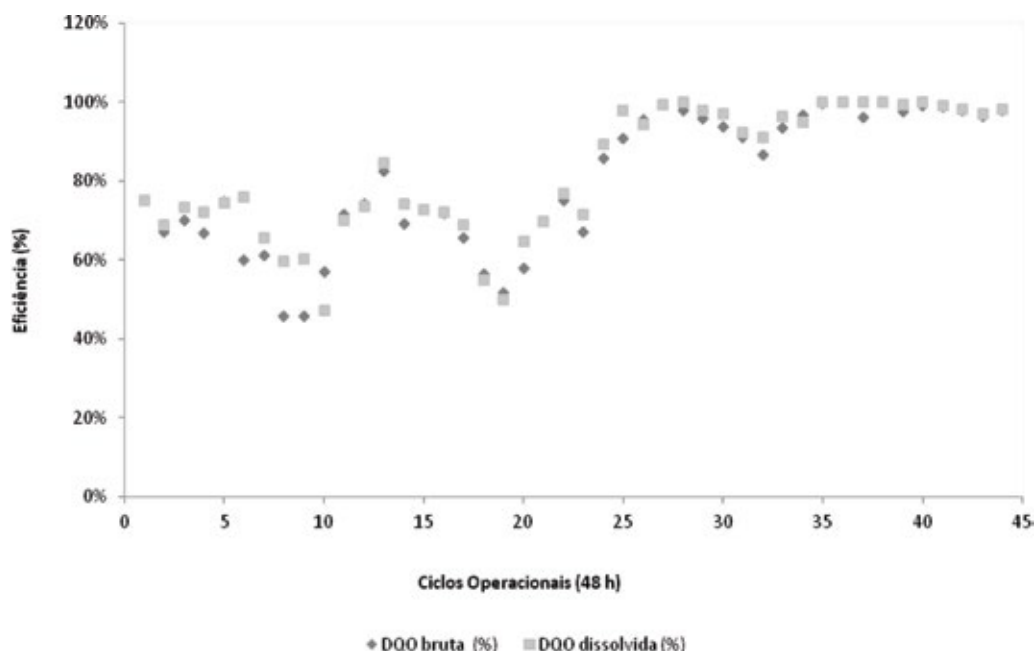


Figura 5 - Comparativo entre eficiência de remoção de matéria orgânica bruta e dissolvida ao longo dos ciclos operacionais do reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger*.

Os fungos assimilam o nitrogênio prontamente em forma de amônia (GRIFFIN, 1994). Desse modo, o *Aspergillus niger* prefere consumir amônia a nitrato em suas atividades metabólicas (WANDERLEY, 2007). No entanto, quando a amônia está presente em concentrações elevadas, não há indução do nitrato, pois suas necessidades nutricionais com relação a nitrogênio são supridas (GRIFFIN, 1994).

Apesar da concentração elevada de amônia, a remoção máxima de nitrato superou à de nitrogênio amoniacal, tendo ela sido alcançada no 22º ciclo (77%). Contudo, ocorreu mais liberação do que consumo de nitrato, indicando a repressão do sistema enzimático atuante na sua desassimilação.

Os corantes do grupo azo possuem em sua composição um ou mais grupamentos -N=N- (KUNZ et al., 2002). Ao realizar a quebra da molécula do corante, o meio pode ter ficado com maior concentração de compostos nitrogenados, contribuindo

para o aumento das concentrações de amônia e nitrato no ambiente. Essa associação pode ser acompanhada no 44º ciclo, em que houve maior consumo de corante (99%) e aumento das concentrações de amônia (817 mg/L) e nitrato (3,17 mg/L) no efluente, caracterizando um aumento de 3% e 88% das respectivas concentrações. A concentração de nitrato afluente desse ciclo foi de 1,69 mg/L. Os valores de nitrito são muito baixos no efluente, comprovando que este está presente em etapa de transição de nitrato a amônia, apresentando remoção média de 86%.

Segundo Papagianni et al. (2005), para uma eficiente remoção de nitrogênio, a glicose é mais indicada como substrato primário, pois há uma reação com os íons amônio no interior da célula fúngica, formando a glucosamina, favorecendo a obtenção de maiores percentuais de remoção do poluente-alvo.

No tocante ao fósforo, observou-se que os ciclos apresentaram oscilações entre remoção e liberação, a qual se mostrou bem acentuada nos ciclos 23 e 44. No ciclo 23, foi observada a máxima eficiência de remoção equivalente a 32%, apresentando concentração de 33 mg/L no afluente e 23 mg/L no efluente. Já o ciclo 44 foi caracterizado pela liberação do nutriente fósforo total, que possuía concentração inicial de 22 mg/L e final de 32 mg/L. Isso pode ser explicado pelo fato de que, em determinados momentos, o fungo absorve o nutriente para utilizar em seu metabolismo, armazenando-o em vacúolos, podendo liberá-lo ocasionalmente para o meio para manutenção do equilíbrio celular ou como resposta ao seu metabolismo (LI; KANE, 2009). Estudos sugerem que a remoção do fósforo é mais eficiente quando há uma alternância entre as condições de aerobiose e anaerobiose (OSADA et al, 1991; VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

De acordo com Marchetto (2003), quando os compostos orgânicos sofrem decomposição biológica, dão origem a ortofosfatos. Em relação a estes, também foi observada pouca diminuição da concentração do nutriente no meio, sendo verificada pouca melhora na sua remoção durante o experimento. O ciclo 13 teve a maior quantidade de ortofosfato liberado no meio, apresentando grande diferença entre o afluente de concentração 7,5 mg/L e o efluente de concentração 16 mg/L.

De acordo com Yang et al. (2009), a presença de bactérias no meio pode inibir a produção de enzimas fúngicas, tornando o sistema instável. Embora a contaminação bacteriana tenha sido inevitável, haja vista não se objetivar trabalhar em condições assépticas, após a realização da contagem do número de colônias, observou-se que os fungos foram os microrganismos dominantes no biofilme, uma vez que em relação às bactérias foi obtida proporção de 4:1 (fungos:bactérias), sendo o número de unidades formadoras de colô-

nias (UFC) de 12.107 UFC/mL para os fungos e de 3.107 UFC/mL para as bactérias.

O maior controle da população bacteriana no interior do reator poderia ser atribuído ao efeito tóxico do etanol. Dependendo da concentração, tempo de exposição e microrganismo, o etanol pode ser tóxico, causando desorganização da permeabilidade celular (POWERS et al., 2001). Nesta pesquisa, o etanol não se mostrou tóxico ao fungo, promovendo uma boa eficiência na remoção de corante e matéria orgânica.

Silva (2009), estudando a influência da presença e ausência de cossubstratos em reatores em batelada, utilizando a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 na degradação do corante vermelho do Congo, percebeu que, nos reatores de controle que recebiam apenas o corante e o etanol – na concentração de 0,5 g/L –, sem o microrganismo, houve pouca contaminação, com remoção média do corante de apenas 19%, corroborando os resultados obtidos na presente pesquisa no tocante à capacidade do etanol de controlar a população microbiana.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que o reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* alcançou bons percentuais de remoção de corante utilizando etanol como cossubstrato, atingindo eficiência média de remoção de corante de 92%, no comprimento de onda relativo ao cromóforo (: 500 nm), sendo a remoção no comprimento de onda referente ao naftaleno (: 310 nm) de 93%, ainda que o corante não tenha sido completamente mineralizado em face da dificuldade de remoção do benzeno. Foram registradas também remoções de 80% e 82%, respectivamente, para matéria orgânica bruta e dissolvida.

A remoção máxima de nitrogênio amoniacal e nitrato, quando houve, foi de 31% (15°, 17° e 43° ciclos) e 77% (22° ciclo), respectivamente, resultando em acúmulo de nitrogênio no meio de amô-

nia. A remoção de fósforo foi baixa, alcançando o máximo de 32% no 23º ciclo. Os percentuais de remoção registrados dão indícios da necessidade de continuação dos experimentos, visando a novas estratégias operacionais para a obtenção de maiores eficiências para nitrogênio e fósforo.

Embora não se tenham alcançado bons percentuais na remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo), apresentando-se instáveis, os resultados mostraram que o etanol pode ser viável como cosubstrato, visando à remoção do vermelho do Congo e de matéria orgânica carbonácea em reatores com fungos.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M.C.S.; SILVA FILHO, J.C.L.; OLIVEIRA, B.C.; HOLANDA, F.L.J. Perfis estratégicos de conduta social e ambiental: estudos na indústria têxtil nordestina. *Gest. Prod.*, São Carlos, v. 15, n. 1, abr. 2008
- APHA – AWWA – WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 ed. Washington. American Public Health Association. 1368 p, 2005.
- BEVENSEE, M. O., BORON, W. F. Control of intracellular pH: in *The kidney*. Seldin and Giebisch's. 4th edition, p. 1429 – 1480, 2008.
- CARRERA, J.; BAEZA, J.A.; VICENT, T.; LAFUENTE, J. Biological nitrogen removal of high-strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system. *Water Research* 37 (2003) 4211–4221
- CHANDER, M., ARORA, D. S. Evaluation of some white-rot fungi for their potential to decolourise industrial dyes. *Dyes and Pigments* 72 192–198, 2007.
- CORREA, C. A. R.; AQUINO, S. F.; CALDAS, P. C. P.; SILVA, S. Q. Uso de extrato de levedura como fonte de carbono e de mediadores redox, para a degradação anaeróbia de corante azo. *Eng. Sanit. Ambient.* [online]. vol.14, n.4, pp. 559–568. ISSN 1413–4152. doi: 10.1590/S1413-41522009000400016, 2009.
- DANTIGNY, P., GUILMART, A., RADOI, F., BENSOUSSAN, M., ZWIET-ERING, M. Modelling the effect of ethanol on growth rate of food spoilage moulds. *International Journal of Food Microbiology* 98 (2005) 261– 269.
- DEMIREL, G., YAYKASLI, K. O., YASAR, A. The production of citric acid by using immobilized *Aspergillus niger* A-9 and investigation of its various effects. *Food Chemistry* 89 (2005) 393–396.
- DOS SANTOS, A. B. Reductive Decolourization of Dyes by Thermophilic Anaerobic Granular Sludge. Ph.D Thesis, Wageningen University. Wageningen, The Netherlands, 2005.
- FREITAS, K.R. Caracterização e Reuso de Efluentes do Processo de Beneficiamento da indústria têxtil. Florianópolis, 2002. Dissertação submetida à Universidade Federal de Santa Catarina.
- GARCÍA-PEÑA, I.; ORTIZ, I.; HERNÁNDEZ, S.; REVAH, S. Biofiltration of BTEX by the fungus *Paecilomyces variotii*. *International Biodegradation & Biodegradation* 62 (2008) 442–447.
- GRADY, C. P. L.; DAIGGER, G. T.; LIM, H. C. *Biological Wastewater treatment*. 2. ed. New York. Marcel Dekker, 1999.
- GRIFFIN, D. H. *Fungal physiology*. 2 ed. New York. Wiley-Liss, 1994. 458p
- HAILEI.W., PING L., MIN P., ZHIJUN Z., GUANGLI Y., GUOSHENG L., JIANMING Y. Rapid decolourization of azo dyes by a new isolated higher manganese peroxidase producer: *Phanerochaete* sp. HSD. *Biochemical Engineering Journal* 46 327–333, 2009.
- HWANG, S. C., LIN, C. S., CHEN, I. M., WU, J. S. Removal of nitrogenous substances by *Aspergillus niger* in a continuous stirred tank reactor (CSTR) system. *Aquacultural Engineering* 36, 177–183. 2007.
- 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*, v. 97, n. 8, p. 1030–1035, 2006.
- JENNINGS, D. H. *The physiology of fungal nutrition*. Cambridge: University, 1995. 595p.
- JUHASZ, A.; NAIDU, R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation* 45 (2000) 57–88
- KHELIFI, E., AYED, L., BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., HAMDI, M. Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolourization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C. *Journal of Hazardous Materials* 163 1056–1062, 2009.
- KHELIFI, E., GANNOUN, H., TOUHAMI, Y., BOUALLAGUI, H., HAMDI, M. Aerobic decolourization of the indigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors. *Journal of Hazardous Materials* 152 (2008) 683–689. 2008.
- KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURAN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Quím. Nova* [online]. vol.25, n.1, pp. 78–82. ISSN 0100–4042. doi: 10.1590/S0100-40422002000100014, 2002.
- LEVIN, L.; MELIGNANI, E.; RAMOS, A. M. Effect of nitrogen sources and vitamins on ligninolytic enzyme production by some white-rot fungi. Dye Decolorization by selected culture filtrates. *Biore-source Technology* 101 (2010) 4554–4563.
- LI, S. C., KANE, P. M. The yeast lysosome-like vacuole: Endpoint and crossroads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, Volume 1793, Edição 4, Abril/2009, p. 650–663.

- MACHADO, Kátia M.G. et al. Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from brazilian ecosystems. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, v. 37, n. 4, dez. 2006.
- MALLER, A. Produção, purificação e caracterização do complexo pectinolítico do fungo *Aspergillus niveus*. Ribeirão Preto. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo, 2008.
- MARCHETTO, M.; CAMPOS, J.R.; REALI, M.A.P. Remoção de Fósforo de Efluente de Reator Anaeróbico em Reator com aeração Intermitente Seguido por Flotação por Ar Dissolvido. *Engenharia sanitária e ambiental*, Vol. 8 - Nº 1 - jan/mar 2003 e Nº 2 - abr/jun 2003, 77-83
- MARTINS, B. A. D. Avaliação da Cinética de Biodegradação do Etanol em Concentrações Mínimas Necessárias dos Nutrientes Nitrogênio e Fósforo. Florianópolis, 2004. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina. 2004.
- OSADA, T; HAGA, K. e HARADA, Y. Removal of Nitrogen and Phosphorus from Swine Wastewater by the Activated Sludge units with the Intermittent Aeration Process. *Water Research*, v. 25, p.1377-1388, 1991.
- PEREIRA, J. F. et al. Nitrate Redutase em Fungos Filamentosos. *Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* – Ed. nº 31, julho/dezembro 2003.
- POWERS, S.E.; HUNT, C.S.; HEERMANN, S.E.; CORSEUIL, H.X.; RICE, D.; ALVAREZ, J.J. The transport and fate of ethanol and BTEX in groundwater contaminated by gasoline. *CRC Environmental Science and Technology*, v. 31, n. 1, p. 79-123, 2001.
- RADHA K.V., REGUPATHI I., ARUNAGIRI A., MURUGESAN T. Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics. *Biochemical Engineering Journal* 46 327–333, 2009.
- REINEKE, W. Chemistry Biodegradation and Persistence. *The Handbook of Environmental*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Vol. 2 p. 17. 2001
- RODIER, J. L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Paris: Dunod, 1975. 629 p.
- RODRIGUES, K. DE A. Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética. São Carlos, 2006. Tese de doutorado-Escola de engenharia de São Carlos-Universidade de São Paulo, 2006.
- RODRIGUES, K. de A., VIDAL, C. B., BARBOSA, B. C. A., PESSOA-WANDERLEY, C. R., DUARTE, I. C. S., SAMPAIO, G. M. M. S. Viabilidade do tratamento de água residuária sintética têxtil em reator aeróbio de leito fixo. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v.15 n.1, (99-106). 2010.
- RODRIGUES, K.; SILVA, K. M. L.; MARINHO, G. M.; LIMA, P. C. C.; CARLOS RONALD PESSOA WANDERLEY, C. R. P.; MARINHO SILVA, G. Remoção de Corante por Uso de *Aspergillus niger* AN 400 em Reator em Bateladas Sequenciais. *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 7, 1119-1123, 2011.
- SILVA, K. M. L. Remoção de Corante Têxtil por Uso de Reatores em Batelada Inoculados com Fungos. (Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental). 85 páginas, 2009.
- SUMATHI, S., MANJU, B.S. Uptake of reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 27, p. 347–355, 2000.
- TRIGUEROS, D. E. G. Avaliação da Cinética de Biodegradação dos Compostos Tóxicos: Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xileno (BTEX) e Fenol. Paraná, 2008. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Desenvolvimento de Processos Químicos. Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
- Van HAANDEL & MARAIS. O Comportamento do Sistema de Lodo Ativado-Teoria e Aplicação para Projeto e Operação - (ed) ABES. Campina Grande-Universidade Federal da Paraíba, 1999, 448p
- VASQUES, Andressa Regina et al. Adsorção dos corantes RO16, RR2 e RR141 utilizando lodo residual da indústria têxtil. *Eng. Sanit. Ambient.*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 3, set. 2011.
- VASSILEV, N., FENICE, M., FEDERICI, F., AZCON, R. Olive mill waste water treatment by immobilized cell of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate. *Process Biochemistry*. V. 32, n 7, p. 617-620, 1997.
- WANDERLEY, C.R.P. *Aspergillus niger* AN 400 como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho congo em meio aquoso sintético. Fortaleza, 2007. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil- Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Ceará, 2007.
- WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; SPIROS N. AGATHOS. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnology Advances* 22 161–187, 2003.
- 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*, v. 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*, v. 43, p. 225–230, 2009.
- YAYKASLI, K. O.; DEMIREL, G.; YASAR, A. Influence of alcohols on citric acid production by *Aspergillus niger* A-9 entrapped in polyacrylamide gels. *Journal of Food Engineering*, v. 70, n. 4, p. 518-522, 2005.