



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS**

DAYSE PEREIRA DIAS SILVA

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO CORANTE VERMELHO CONGO NA
DEGRADAÇÃO/ADSORÇÃO PELO FUNGO *Lentinus crinitus* CCIBt 2611**

**SUMÉ- PB
2015**

DAYSE PEREIRA DIAS SILVA

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO CORANTE VERMELHO CONGO NA
DEGRADAÇÃO/ADSORÇÃO PELO FUNGO *Lentinus crinitus* CCIBt 2611**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientadora: Professora Dr^a. Glauciane Danusa Coelho

SUMÉ- PB

2015

S586e

Silva, Dayse Pereira Dias.

Efeito da concentração do corante vermelho congo na degradação/absorção pelo fungo *lentinus crinitus* CClbt 2611. / Dayse Pereira Dias Silva. - Sumé - PB: [s.n], 2015.

55 f.

Orientadora: Professora Dra. Glauciane Danusa Coelho.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Biorremediação. 2. Efluente têxtil. 3. Descoloração. 4. Enzimas ligninolíticas. 5. Fungo *lentinus crinitus*. 6. Biotecnologia. I. Título.

CDU: 60(043.3)

DAYSE PEREIRA DIAS SILVA

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO CORANTE VERMELHO CONGO NA
DEGRADAÇÃO/ADSORÇÃO PELO FUNGO *Lentinus crinitus* CCIBt 2611**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

BANCA EXAMINADORA:

Glauçiane D. Coelho Nota (10,0)

Orientadora: Dra. Glauçiane Danusa Coelho

Jean César F. Queiroz Nota (10,0)

Prof. Examinador 1: Dr. Jean César Farias de Queiroz

Lenilde M. Ribeiro Lima Nota (10,0)

Prof. Examinador 2: Dra. Lenilde Mérgia Ribeiro Lima

Nota final (média)

Nota (10,0)

Aprovada em, 23 de Março de 2015.

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pelas conquistas obtidas em minha vida.
Aos meus queridos e amados pais, José Florêncio (Baú) e Eliane, pelo exemplo de amor e
cumplicidade e por sempre me apoiarem e me darem forças em todos os momentos.
Ao meu amado irmão Douglas (Doguinha), por todo carinho, por sempre me incentivar e me
fazer rir.*

Muito obrigada, amo vocês incondicionalmente!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por nunca me desamparar nos momentos difíceis. Pela sabedoria e discernimento para concluir este trabalho, por me orientar e me guiar nas minhas escolhas e pelas vitórias alcançadas em minha vida.

Ao meu pai Baú e minha mãe Eliane, meus exemplos de vida, amor e cumplicidade. Por estarem sempre do meu lado, apoiando, incentivando, aconselhando, fazendo o possível e muitas vezes renunciando de vontades próprias para realizarem meus sonhos.

Ao meu amado e querido irmão Douglas (Doguinha) pelo carinho e momentos de descontração, pelas palhaçadas, por todo apoio e compreensão. Sem você a vida não tem graça.

À minha família Pereira e Florêncio, por todo incentivo moral para com meus estudos, pela torcida e todo carinho.

Ao meu avô, Inácio (*in memoriam*), sei que onde estiver sempre estará torcendo pela minha felicidade.

À minhas amigas de infância Akyelly e Helen, por sempre torcerem pela realização deste sonho e por entenderem os momentos de ausência.

Ao meu G11, minha turma pioneira, Leandro Costa, Felipe Douglas, José Marreiro, Rhyanne Freitas, Rayza Morganna, Raíssa Mayane, Renally Barbosa, Camila de Castro, Jucilene Pereira e Bruna Riviane, pelas boas risadas e aprendizados. Sem vocês esse curso não teria sido como foi inesquecível.

Às minhas “Engenheiras Gatas SA”, as irmãs que não tive Camila (Miloca), Rhyanne (Rhay), Rayza (Cabrita mãe), Raíssa (Gata da Prata), Renally (Rê), Jucilene (Juh) e Bruna (Bru), por todos os momentos que passamos juntas, pelas viagens, risadas, choros, conselhos, aprendizados e pelas dificuldades encontradas no caminho, mas que foram superadas porque tínhamos umas as outras. Levarei vocês por toda a vida.

À Rayza Morganna, um anjo em forma de amiga! Sou muito grata por todo carinho, apoio emocional, pela amizade e companheirismo em laboratório, deu mais que certo sem você não seria possível a conclusão deste trabalho. Muitíssimo obrigada.

A minha eterna amiga, Rhyanne Freitas (minha baixinha), pela amizade desde a pré-escola até a graduação, pelos trabalhos sempre feitos juntas, a nossa cumplicidade sempre deu certo, tanto na vida acadêmica como na vida pessoal.

Ao meu namorado Rodrigo Molina, pelo amor, incentivo, compreensão e por partilhar de momentos alegres e de dificuldades.

À Caio Azevedo pelo interesse e ajuda nos finais de semana com este trabalho.

À minha orientadora Glauciane Danusa, por toda paciência, contribuição, ensinamentos profissionais e para vida e por não me deixar desanimar nos momentos difíceis. És muito querida.

Ao professor e amigo Jean Queiroz pelas oportunidades e ensinamentos durante o curso.

A Universidade Federal de Campina Grande e a todos os professores do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido pelos ensinamentos oferecidos.

A coordenadora do curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, professora Fabiana Pimentel por toda atenção e preocupação, sou grata.

*“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si,
levam um pouco de nós.”*

(O Pequeno Príncipe)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Estrutura química do corante Vermelho Congo, contendo um grupo diazo como grupo cromóforo. Fonte: BRUSCATO, 2011.....23
- Figura 2:** (A) *Lentinus crinitus* cultivado e frutificado em bagaço de cana-de-açúcar (suplementado C/N 180. Fonte: BALLAMINUT (2007). (B) Fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 cultivado em meio de Extrato de Malte e Ágar (MEA) (2%) repicado em placa de Petri com aproximadamente 10 dias de cultivo.....31
- Figura 3:** (A) Corte correspondente a 1/8 da placa; (B) Inoculação do micro-organismo em meio líquido contendo o corante.....33
- Figura 4:** (A) Cultivo em incubadora; (B) Cultivo sob agitação orbital.....33
- Figura 5:** Representação dos halos de degradação no tempo de 48 horas de cultivo. (A) Concentração de 20 mg.L⁻¹; (B) Concentração de 40 mg.L⁻¹; (C) Concentração de 60 mg.L⁻¹; (D) Concentração de 80 mg.L⁻¹.....38
- Figura 6:** Representação dos halos de degradação no tempo de 72 horas de cultivo (A) Concentração de 20 mg.L⁻¹; (B) Concentração de 40 mg.L⁻¹; (C) Concentração de 60 mg.L⁻¹; (D) Concentração de 80 mg.L⁻¹.....39
- Figura 7:** Representação dos halos de degradação no tempo de 120 horas de cultivo. (A) Concentração de 20 mg.L⁻¹; (B) Concentração de 40 mg.L⁻¹; (C) Concentração de 60 mg.L⁻¹; (D) Concentração de 80 mg.L⁻¹.....40
- Figura 8:** Representação da porcentagem de descoloração em cultivo líquido sob agitação nas concentrações de: (A) 20 mg.L⁻¹; (B) 25 mg.L⁻¹; (C) 30 mg.L⁻¹ e (D) 40 mg.L⁻¹.....43
- Figura 9:** Representação da porcentagem de descoloração em cultivo líquido estacionário nas concentrações de: (A) 20 mg.L⁻¹; (B) 25 mg.L⁻¹; (C) 30 mg.L⁻¹ e (D) 40 mg.L⁻¹.....44
- Figura 10:** Crescimento fúngico em cultivo estacionário e sob agitação nas concentrações de: (A) 20 mg.L⁻¹; (B) 25 mg.L⁻¹; (C) 30 mg.L⁻¹ e (D) 40 mg.L⁻¹.....45
- Figura 11:** Valores de pH (A) cultivo estacionário; (B) cultivo sob agitação.....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição do meio de cultura MEA para ativação dos fungos basidiomiceto <i>Lentinus crinitus</i> CCIBt 2611.....	31
Tabela 2: Composição do meio sólido para avaliar a degradação do corante.....	32
Tabela 3: Composição do meio líquido para avaliar a degradação do corante.....	32
Tabela 4: Concentrações da mistura de reação para determinação da atividade enzimática.....	35
Tabela 5: Índice de Degradação do corante vermelho congo para todas concentrações.....	36
Tabela 6: Crescimento fúngico em meio sólido.....	41
Tabela 7: Velocidade do crescimento fúngico em meio sólido.....	42
Tabela 8: Crescimento fúngico em meio líquido estacionário.....	45
Tabela 9: Crescimento fúngico em meio líquido sob agitação.....	46

Abreviaturas

ABTS – ácido 2,2 – azino – bis – (3 – etilbenzotiazol – 6 – sulfônico)

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

ϵ – Absortividade molar

ETA – Estação de Tratamento de Água

ID – Índice de Degradação

IE – Índice Enzimático

LAC – Lacases

Lip – Lignina Peroxidase

MEA – Extrato de Malte, Ágar e Peptona

MnP – Peroxidases dependentes de manganês

nm – nanômetro

pH – Potencial Hidrogeniônico

ppm – partes por milhão

POA – Processos Oxidativos Avançados

rpm – Rotação por minuto

VC – Vermelho Congo

X - Biomassa

λ – Absorbância máxima

RESUMO

A contaminação das águas vem se tornando uma das maiores preocupações do século XXI e a indústria têxtil, setor que necessita de uma grande demanda de água, é responsável pela geração de grandes volumes de efluentes contendo corantes, na sua grande maioria, tóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e diversos outros produtos químicos que agridem o meio ambiente. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de descoloração do corante têxtil Vermelho Congo pelo fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611. Neste estudo foram avaliados a descoloração de diferentes concentrações do corante em meio sólido e em meio líquido estacionário e sob agitação. O maiores halos do Índice de Degradação enzimático em meio sólido foram de até 2,86 em um tempo de 120 horas de incubação para um concentração de 20 mg.L⁻¹ de corante. Em meio líquido, verificou-se máximas porcentagens de descoloração de até 89,35% para a concentração de 30 mg.L⁻¹ de corante com 24h horas de cultivo, não foi detectada atividade da enzima lacase durante o tempo deste experimento. O estudo da velocidade de crescimento de *L. crinitus* em meio sólido mostrou que o micro-organismo é tolerante a baixas concentrações de Vermelho Congo, mas que a elevação da concentração torna-se tóxica com o aumento do tempo de exposição ao corante. O fungo apresentou halos de crescimento microbiano de 1,44 cm para a concentração de 20 mg.L⁻¹ e de até 1,08 cm para a concentração de 80 mg.L⁻¹, demonstrando uma tolerância para altas concentrações do corante. Para o meio líquido, tanto em cultivo estacionário quanto em cultivo sob agitação, o micro-organismo conseguiu manter seu crescimento nas concentrações de 20 e 25 mg.L⁻¹ de corante, no entanto o aumento das concentrações para 30 e 40 mg.L⁻¹ acarretou na diminuição do seu crescimento. Diante do exposto, pode-se dizer que o fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 se mostra um micro-organismo potencial para a degradação/adsorção de corantes azóicos, como é o caso do Vermelho Congo, possibilitando assim o emprego de um método promissor na descoloração de altas concentrações do corante, fazendo uso de meio menos oneroso para o tratamento de efluentes. No entanto, é necessário que novos estudos sejam feitos para melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na degradação de corantes azóicos por *L. crinitus*.

Palavras-Chave: Biorremediação. Efluente têxtil. Corantes sintéticos. Descoloração. Enzimas ligninolíticas.

ABSTRACT

The contamination of water has become a major concern of the XXI Century and the textile industry, a sector that requires a large water demand, is responsible for the generation of large volumes of wastewater containing dyes, mostly, toxic, mutagenic, carcinogens and many other chemicals that harm the environment. Thus, this study aimed to evaluate the potential for discoloration of the textile dye Congo red by the fungus *L. crinitus* CCIBt 2611. This study evaluated the discoloration of different dye concentrations in solid medium and in stationary liquid medium and stirred. The largest halos enzymatic degradation index on solid medium were up to 2.86 at a time of 120 hours incubation for a concentration of 20 mg.L⁻¹ of dye. In liquid medium, it was up to 89.35% maximum percentages for the discoloration concentration of 30 mg.L⁻¹ of dye with 24 hours of cultivation, the activity was not detected laccase enzyme for the duration of this experiment. Growth speed on solid medium *L. crinitus* study showed that the micro-organism is tolerant of low concentrations of Congo red, but the increase of the concentration becomes toxic with increasing time of exposure to dye. The fungus halos showed microbial growth by 1.44 cm at the concentration of 20 mg.L⁻¹ and 1.08 cm for up to concentration of 80 mg.L⁻¹, showing tolerance to high concentrations of the dye. For liquid media, both in culture and in stationary cultivation under agitation, the microorganism was able to maintain its growth at concentrations of 20 and 25 mg mg.L⁻¹ of dye, however the concentrations for 30 and 40 mg.L⁻¹ resulted in decreased growth. Given the above, it can be said that the fungus *L. crinitus* CCIBt 2611 shown microorganism a potential for degradation / adsorption of azo dyes such as Congo Red, allowing the use of a method applied in discoloration high concentrations of the dye, using less expensive means of treating wastewater. However, it is necessary that further studies be made to better understand the mechanisms involved in the degradation of azo dyes by *L. crinitus*.

Keywords: Bioremediation. Textile effluent. Synthetic dyes. Discoloration. ligninolytic enzymes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1 INDÚSTRIAS TÊXTEIS	16
3.1.1 Breve histórico da indústria têxtil	16
3.1.2 Corantes naturais e o tingimento	17
3.2 A INDÚSTRIA TÊXTIL.....	18
3.2.1 A indústria têxtil e o meio ambiente	18
3.2.2 Problemas à saúde humana	19
3.3 CORANTES TEXTÊIS	20
3.3.1 Classificação dos corantes	20
3.4 TRATAMENTOS DE EFLUENTES.....	24
3.4.1 Métodos físicos	24
3.4.1.1 Adsorção	25
3.4.1.2 Filtração por membrana	25
3.4.2 Métodos químicos	25
3.4.2.1 Oxidação	26
3.4.2.2 Ozonização	26
3.4.3 Métodos biológicos	26
3.4.3.1 Descoloração Fúngica	27
3.5 BIORREMEDIAÇÃO	27
3.5.1 Processos biodegradativos	28
3.5.2 Agentes biodegradadores	28
3.6 FUNGOS BASIDIOMICETOS E A APLICAÇÃO EM BIORREMEDIAÇÃO	28
3.7 DEGRADAÇÃO DO CORANTE VERMELHO CONGO POR BASIDIOMICETOS	29
3.8 ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 MICRO-ORGANISMOS	31
4.2 CORANTE	31
4.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO	32

4.3.1 Meio sólido para avaliação da descoloração	32
4.3.2 Meio líquido para avaliação da descoloração	32
4.3.2.1 Obtenção do filtrado.....	33
4.4 DESCOLORAÇÃO.....	33
4.4.1 Avaliação do Índice de Degradação em meio sólido.....	33
4.4.2 Descoloração e aferição do pH no meio líquido	34
4.4.3 Atividade enzimática da lacase em meio líquido	34
4.5 CRESCIMENTO FÚNGICO	35
4.5.1 Crescimento fúngico em meio sólido.....	35
4.5.2 Crescimento fúngico em meio líquido.....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO FRENTE ÀS CONCENTRAÇÕES DO CORANTE VERMELHO CONGO EM MEIO SÓLIDO	36
5.1.1 Degradação em meio sólido – Teste de tolerância	36
5.1.2 Crescimento fúngico em meio sólido.....	41
5.1.3 Velocidade do crescimento fúngico em meio sólido.....	41
5.2 EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DO CORANTE VERMELHO CONGO NA DESCOLORAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO	42
5.2.1 Cultivo com agitação	42
5.2.2 Cultivo estacionário.....	43
5.2.3 Crescimento fúngico em meio líquido.....	44
5.2.4 Determinação do pH em meio líquido	46
5.3 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM MEIO LÍQUIDO	47
6 CONCLUSÕES.....	49
7 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	50
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os problemas ambientais têm se tornado cada vez mais sérios e corriqueiros, isto se deve à espantosa explosão demográfica aliada ao acelerado desenvolvimento tecnológico. O aumento das concentrações urbanas, decorrentes do grande desenvolvimento industrial, teve como consequência a geração dos mais variados tipos de rejeitos sólidos, líquidos e gasosos. Esses rejeitos vêm sendo produzidos em grande escala, com imensa diversidade de poluentes e concentrações. Tais ingredientes tem sido a causa desse comportamento predatório do ecossistema, podendo ser observada através de alterações no ar, solo e água (DEZOTTI, 2008).

A contaminação de águas naturais, sem sombra de dúvidas, tem sido uma das maiores preocupações do presente século frente ao valor agregado que este bem possui e a sua disponibilidade, visto que as reservas de água são finitas e dependentes do clima (KUNZ *et al.*, 2002). Os efluentes líquidos, sejam de natureza doméstica ou industriais, são os principais responsáveis por grande parte da carga de poluentes emitidos no planeta. Portanto, merecem atenção especial por parte dos órgãos de legislação ambiental e de todas as comunidades (DEZOTTI, 2008).

A indústria têxtil desempenha um papel importante na economia de muitos países, no entanto recebe destaque pelo fato de que o seu parque industrial gera grandes volumes de efluentes, os quais não recebem tratamento adequado antes do seu despejo final (KUNZ *et al.*, 2002). Esses efluentes são caracterizados por apresentar resíduos com níveis de degradação muito baixos, incluindo corantes provenientes das etapas de tingimento, tornando assim o efluente com intensa coloração e de composição extremamente variável em virtude da gama de corantes utilizados diariamente (DELLAMATRICE, 2005).

Devido à demanda, aproximadamente 10.000 diferentes corantes e pigmentos são usados industrialmente e 26.500 tons somente no Brasil (KUNZ *et al.*, 2002). Entretanto, estima-se que atualmente 2.000 tipos de corantes estão disponíveis para a indústria têxtil. Essa diversidade é explicada, pelo fato de que cada tipo de fibra a ser colorida requer corantes com características singulares e bem definidas (GUARATINI, 2000).

Dentre os diversos corantes utilizados nos processos de tingimento, há o Vermelho Congo, que apresenta alta toxicidade, é carcinogênico e mutagênico, além de ser de difícil remoção do meio ambiente (QUEIROZ *et al.*, 2011). É um corante classificado como direto,

ou seja, solúvel em água e capaz de atingir fibras de celulose como o algodão e a viscose através de interações de Van der Waals. Essa classe é constituída por conter mais de um grupo azo ou pré-transformada em complexos metálicos (BRUSCATO, 2011).

Em virtude da poluição ambiental dos corpos d'água, provocada por efluentes contendo tais compostos químicos, várias tecnologias vêm sendo estudadas e empregadas para o tratamento de efluentes têxteis, sendo mais comumente utilizados os de tratamento biológicos e métodos físico-químicos (DELLAMATRICE, 2005). Uma das áreas que está se tornando cada vez mais promissora no tratamento de efluentes têxteis é a biodegradação, essa técnica vem ganhando espaço entre os pesquisadores devido ao seu apelo ecológico e a sua capacidade de degradar de maneira eficiente um grande número de poluentes com um baixo custo operacional (KUNZ *et al.*, 2002).

De acordo com Bruscato (2011), a biodegradação consiste em modificações na estrutura de substratos poluentes através de diferentes organismos, tais como plantas, algas, leveduras, bactérias e fungos levando à introdução deles no fluxo normal de nutrientes na natureza. Os fungos vêm se destacando nessa tecnologia de biorremediação devido à produção de diversas enzimas que apresentam ação sobre vários substratos de origem industrial.

Desta forma a avaliação do potencial de degradação do corante Vermelho Congo a partir de fungos basidiomicetos, traz uma enorme contribuição e expectativas de novos organismos promissores capazes de atuarem no tratamento de efluentes têxteis.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a degradação/adsorção do corante Vermelho Congo pelo fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a degradação/adsorção do corante Vermelho Congo em diferentes concentrações;
- Avaliar a degradação do corante Vermelho Congo em meio sólido;
- Avaliar a degradação/adsorção do corante Vermelho Congo em meio líquido estacionário e sob agitação;
- Avaliar a atividade enzimática Lacase para degradação do corante Vermelho Congo.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 INDÚSTRIAS TÊXTEIS

3.1.1 Breve histórico da indústria têxtil

A necessidade de cobrir-se acompanha a humanidade desde a Pré-história. Além de constituir-se em uma necessidade para a sobrevivência humana, de certa forma, tal hábito procurava também satisfazer um desejo estético. Há registros da Era Paleolítica, que o homem da caverna foi capaz de utilizar peles de animais para se proteger. Os primeiros materiais têxteis, cuja procedência é muito antiga, são de origem vegetal a exemplo do linho e algodão, e de origem animal como a lã e a seda. O linho é uma fibra nobre caracterizada pelo toque, brilho e conforto, era fiado e tecido desde a Idade da Pedra. O algodão, fibra natural vegetal, cuja divulgação possivelmente se deu pelos os árabes que o levaram para a Índia e depois para o Oriente Próximo, há relatos também de plantações existentes na América. A lã, como fibra natural têxtil, foi muito utilizada pelos povos habitantes das margens do rio Eufrates, sendo considerado o tecido mais popular na Mesopotâmia e Egito. A seda, matéria prima de origem animal que passou a ser utilizada principalmente na China. (ARAGÃO *et al.*, 2002).

Certamente, é notória a importância das fibras naturais como matéria básica para a produção de têxteis desde o aparecimento da primeira veste tecida. Entretanto, atualmente há o surgimento das fibras artificiais e sintéticas que foram desenvolvidas com o intuito de atender as necessidades da demanda de consumo. Tal esforço para produzi-las se deve à pesquisa científica ainda no Século XVIII, com o desenvolvimento de uma máquina que produzia filamentos de vidros, sendo este artifício o mesmo processo para se obter a fibra artificial desenvolvida a partir de uma modificação da celulose natural, em 1889, em Paris. Os químicos ingleses Cross e Bevan em 1881 conseguiram a viscose, uma fibra de celulose regenerada. Anos mais tarde, em 1912 ocorre a produção da primeira fibra química em escala industrial, o *rayon viscose* (ARAGÃO *et al.*, 2002).

As primeiras fábricas têxteis surgidas no Brasil, nas décadas iniciais do Século XIX, eram estabelecimentos de pequeno porte e tiveram, em geral, um curto tempo de vida. A produção de tecidos data dos primeiros anos da colonização, o algodão, que já era conhecido e utilizado pelos indígenas, continuou a ser cultivado pelos portugueses em certas capitâneas, dando origem a uma produção têxtil doméstica de alguma importância (CLEMENTINO, 2012). Nas primeiras décadas do século XX a cultura do algodão passa a ser utilizada em

grande escala, visando atender a demanda da indústria têxtil nacional em constante crescimento. No ano de 1932, o Estado de São Paulo já contava com 112 fábricas de fiação e tecelagem de algodão (VASQUES; PELEGRINI, 201-?).

As exportações brasileiras de produtos têxteis apresentam uma relativa estagnação ao longo dos anos 80, atingindo a média de cerca de US\$ 1 bilhão entre 1989 e 1991. Neste último ano, a competitividade da indústria concentra-se nos produtos de algodão em que cerca de 47% dos fios e 73% dos tecidos exportados eram constituídos por essa fibra. No ano de 1987, as importações dos produtos têxteis aumentaram de US\$ 154 milhões para US\$ 642 milhões, em 1991 (GARCIA, 1993).

3.1.2 Corantes naturais e o tingimento

A utilização de corantes é milenar. Evidências mostram que os corantes eram utilizados pelos povos egípcios. No Brasil, os corantes naturais têm uma importante relação com a sua história, sendo seu nome derivado da madeira do Pau-brasil (*Caesalpiniae chinata*), fonte de corante vermelho de grande importância no século XVI (MENDA, 2011; ROSSI, 2008). O colorido dos materiais presentes nos tecidos era extraído dos vegetais, a exemplo a do pau-brasil que era encontrado em toda extensão da costa brasileira. Em contrapartida existia no Oriente uma essência semelhante ao pau-brasil com melhores qualidades. E essa essência passou então a ser exportada para a Índia e o mercado árabe transportava o pó para o Egito. No entanto, com o bloqueio das rotas comerciais, o produto proveniente do Oriente se tornou escasso e muito caro, favorecendo assim a exploração do pau-brasil como alternativa para atender a demanda de corantes naturais (ARAGÃO *et al.*, 2002).

A produção do pó resultava em um corante vermelho que se destinava em maior quantidade para França e Itália. O tingimento proporcionava um ar de requinte aos tecidos e aos materiais. A importância histórica, do uso dos corantes, obtidos de fontes vegetais, animais e minerais vem desde o homem primitivo. Posteriormente, a indústria de tinturaria passou por uma grande revolução com o surgimento de técnicas de preparação artificial, passando os corantes a se chamarem de sintéticos e artificiais (ARAGÃO *et al.*, 2002).

3.2 A INDÚSTRIA TÊXTIL

3.2.1 A indústria têxtil e o meio ambiente

Nas últimas décadas, o aumento da atividade industrial atrelado ao imenso crescimento populacional que por sua vez está associado a um consumismo assustador, tem acarretado sérios problemas ambientais em função do aumento da produção de resíduos gerados, tornando este problema cada vez mais crítico e corriqueiro. Com estes ingredientes tais problemas têm atingido dimensões catastróficas, podendo ser observadas através de alterações na qualidade do solo, ar e água (KUNZ *et al.*, 2002).

A água é um dos recursos naturais mais importantes da Terra, sendo indispensável para a origem e manutenção de todas as formas de vida em nosso planeta. O volume total de água na Terra é estimado em cerca de 1,34 bilhões de Km³, entretanto, apenas 2,7% deste valor corresponde à água doce. Apesar da porcentagem reduzida de água doce disponível, a água é um dos recursos naturais mais utilizados pelo homem, sendo de fundamental importância para as suas diversas atividades (PEREIRA; FREIRE, 2005).

A contaminação de águas naturais tem sido, sem dúvidas, um dos grandes problemas da sociedade moderna. A economia de água em processos produtivos e para fins domésticos, vem ganhando especial atenção devido ao valor agregado que esse bem possui (KUNZ *et al.*, 2002). A nova legislação ambiental reconhece os recursos hídricos como bem públicos, de valor econômico, cuja utilização deve ser controlada e taxada pelos os princípios, como do consumidor pagador e poluidores pagadores recentemente incorporados em nossa legislação. Além disso, a sociedade têm se interessado cada vez mais pela relação empresa-meio-ambiente, tornando-se cada vez mais crítica e exigente com relação aos produtos que consome e ao impacto ambiental que estes causam (PEREIRA; FREIRE, 2005).

A matéria orgânica lançada nos corpos d'água produz uma série de efeitos, tais como, o consumo de oxigênio e eutrofização dos mananciais, atribuição de gostos e odores fortes nas fontes de abastecimento de água, alteração na cor e turbidez e ainda causam uma série de problemas dentro de uma Estação de Tratamento de Água (ETA), além de alterar a estética do manancial (PEREIRA; FREITAS, 2012). Quando lançados em grandes concentrações, os metais pesados possuem uma ação tóxica sobre os micro-organismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, reduzindo a capacidade autodepurativa dos corpos aquáticos (SOUZA; ROSADO, 2009).

Dentro deste contexto, a indústria têxtil apresenta um destaque especial devido ao seu grande parque industrial gerar grandes volumes de efluentes. Esse tipo de indústria é a que mais gera efluentes líquidos, em que, para cada quilo de tecido pode-se utilizar cerca de 300 litros de água. As águas de lavagem representam em torno de 60 a 70% do consumo de água nas indústrias têxteis (KUNZ *et al.*, 2002; MELLO, 2011). Quando estes efluentes não são tratados de forma correta podem acarretar sérios problemas de contaminação ambiental, pois se caracterizam por ser altamente coloridos, devido à presença de corantes que não se fixam na fibra durante o processo de tingimento (KUNZ *et al.*, 2002).

De todos os produtos químicos utilizados para o beneficiamento da indústria têxtil, mais de 90% são removidos ao final do processo. As perdas são originadas dos banhos que não são completamente esgotados e dos corantes que não se fixam à fibra, devido à lavagem após o tingimento. Tal informação evidencia o potencial poluidor da indústria têxtil, tanto pela grande quantidade de água utilizada como já citado anteriormente, quanto pela eliminação de produtos químicos como, por exemplo, agentes de engomagem, umectantes e detergentes, ácidos orgânicos, redutores, auxiliares do tingimento e corantes propriamente ditos. Em geral, o efluente têxtil típico possui altas concentrações de álcalis, carboidratos, proteínas, além de corantes não fixados à fibra (LIMA, 2002).

Nos últimos anos, a legislação brasileira tornou-se mais rigorosa quanto ao tratamento de efluentes lançados em corpos aquáticos. De acordo com a Resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), todos os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água, após passarem pelo devido tratamento e desde que correspondam às condições, aos padrões e às exigências propostos pelo órgão regulamentador. O CONAMA ainda estabelece que a descarga deste tipo de resíduo não pode provocar coloração no corpo receptor (LIMA, 2002; PEREIRA; FREITAS, 2012).

3.2.2 Problemas à saúde humana

Além da preocupante poluição com os recursos naturais, outro problema são os efeitos que estas substâncias podem provocar à saúde humana quando liberadas no meio ambiente. Tais resíduos acumulam-se nos organismos vivos atingindo desta forma a cadeia alimentar. A principal preocupação é o poder mutagênico e carcinogênico que estas

substâncias possuem e os efeitos causados ao entrarem nos organismos não são conhecidos completamente (DELLAMATRICE, 2005).

O risco tóxico destas substâncias foi descoberto em pesquisa realizada com 4.461 corantes sobre a toxicidade oral aguda, sendo determinada pela dose letal para 50% dos testes realizados em ratos, em que se descobriu que corantes azo e catiônicos são em sua maioria tóxicos. A grande maioria destes compostos é considerada venenosa por ingestão, nas rotas subcutânea, intraperitoneal e intramuscular. Alguns corantes foram diretamente relacionados com câncer de bexiga em humanos, sarcomas esplênicos, hepatocarcinomas e aberrações cromossômicas em células de mamíferos (CAMPOS, 2010).

3.3 CORANTES TEXTÊIS

O tingimento dos tecidos é uma arte que surgiu há milhares de anos e possui uma disponibilidade comercial de corantes enorme. O primeiro corante sintético, *mauevin*, foi descoberto pelo inglês William Perkin em 1856. A maioria dos outros tipos de corantes usados atualmente foram descobertos no século XIX (CAMPOS, 2010; GUARATINI, 2000).

O processo de tingimento é um fator de extrema importância e que garante o sucesso comercial dos produtos na indústria têxtil. Além do padrão de beleza da cor, o consumidor tem se tornado exigente com relação a algumas características básicas do produto, como por exemplo, o elevado grau de fixação em relação à luz, lavagem e transpiração, tanto inicialmente quanto após uso prolongado. Para garantir tais propriedades, as substâncias que atribuem coloração à fibra devem apresentar alta afinidade, uniformidade na coloração e ainda serem economicamente viáveis. Visando atender esta demanda, milhões de compostos químicos coloridos têm sido sintetizados nos últimos 100 anos, destes cerca de 10.000 são produzidos em escala industrial. Entretanto, estima-se que atualmente 2.000 tipos de corantes estão disponíveis para a indústria têxtil. Essa diversidade é explicada, pelo fato de que cada tipo de fibra a ser colorida exige corantes com características únicas e bem definidas (GUARATINI, 2000).

3.3.1 Classificação dos corantes

A molécula de corante utilizada para tingimento da fibra têxtil pode ser dividida em duas partes, sendo a primeira o grupo cromóforo, uma estrutura aromática que absorve luz visível, e a segunda estrutura é responsável pela fixação do corante à fibra, que ocorre por

ligações iônicas ou covalentes, por pontes de hidrogênio ou ainda por forças de van der Waals (LIMA, 2002).

Conforme a fixação, os corantes dividem-se em quatro classes: ácidos, básicos, enxofre e reativos, sendo estes últimos os mais utilizados em todo o mundo (SOUZA; ROSADO, 2009). Segundo Guaratini (2000), os corantes podem ser classificados de acordo com a sua estrutura química e características relacionadas ao modo de fixação na fibra têxtil. Os principais grupos classificados pelo modo de fixação são mostrados a seguir:

Corantes Reativos - são aqueles que contêm um grupo eletrofílico (reativo) com a capacidade de formar ligação covalente com grupos hidroxila das fibras celulósicas, com grupos amino, hidroxila e tióis das fibras proteicas e também com grupos amino das poliamidas. Existem numerosos tipos de corantes reativos, entretanto os principais contêm os grupos clorotriazinila e sulfatoetilsulfonila como grupos reativos e a função azo e antraquinona como grupos cromóforos. Os corantes pertencentes a este grupo apresentam características de alta solubilidade em água e a ligação entre o corante e a fibra se dá por ligação covalente, conferindo uma maior estabilidade na cor do tecido tingido quando comparado a outros tipos, em que o processo de coloração atua através de ligações de maior intensidade.

Corantes Diretos - caracterizam-se como compostos solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose (algodão e viscose) por interações de van der Waals. A afinidade do corante é aumentada pela dupla ligação conjugada que aumenta a adsorção do corante sobre a fibra. Esta classe é constituída principalmente por corantes contendo mais de um grupo azo (díazo, tríazo e etc.).

Corantes Azóicos - Existem cerca de doze (12 classes) de grupos cromóforos, entretanto o grupo mais amplamente utilizado, representando ultimamente 60% dos corantes empregados no mundo, pertence à família dos azocorantes, que se caracterizam por apresentarem um ou mais grupamentos $-N=N-$ ligados aos sistemas aromáticos. São compostos insolúveis em água, coloridos e que utilizam um sistema de produção diretamente sobre a fibra durante o processo de tingimento. Nesse processo a fibra é impregnada com um composto solúvel em água, conhecido como agente de acoplamento o naftol, que apresenta alta afinidade por celulose. A adição de um sal diazônio promove uma reação com o agente de acoplamento que se encontra já fixado à fibra, produzindo um corante insolúvel em água. Esse processo permite o tingimento de fibras com alto padrão de fixação e resistência à luz e à umidade.

Corantes Ácidos - Correspondem a um grande grupo de corantes aniônicos que possuem de um a três grupos sulfônicos. Estes grupos substituintes ionizáveis tornam o corante solúvel em água e apresentam grande importância na aplicação do corante em fibras, como a lã e a seda e em fibras de poliamida sintética. No tingimento, o corante previamente neutralizado com solução de cloreto, acetato, entre outros, se liga à fibra por troca iônica envolvendo o par de elétrons livres dos grupos amino e carboxilato das fibras protéicas, na forma não-protonada. Estes corantes são caracterizados por apresentar substâncias com estrutura química baseada em compostos azo, antraquinona, triarilmetano, azina, xanteno, ketonimina, nitro e nitroso, que fornecem uma ampla faixa de coloração e grau de fixação.

Corantes a Cuba - São caracterizados por ser uma grande e importante classe de corantes baseada nos índigos, tioindigóides e antraquinóides. Eles são praticamente insolúveis em água, contudo durante o processo de tintura eles são reduzidos em solução alcalina, transformando-se em um composto solúvel. Possuem uma ampla aplicação na tintura de fibras de algodão, apesar das suas excelentes propriedades de fixação, outros materiais também têm sido utilizados. Devido à produção química de hidrossulfito de sódio este pode acarretar problemas ecológicos, tornando o custo desse corante bastante alto.

Corantes de Enxofre – Caracterizam-se por compostos macromoleculares com pontes de polissulfetos ($-S_n-$), os quais são altamente insolúveis em água. Estes são utilizados principalmente na tintura de fibras celulósicas, conferindo cores como preto, verde oliva, azul marinho, marrom, apresentando boa fixação. No entanto, estes corantes frequentemente apresentam resíduos altamente tóxicos.

Corantes Dispersivos - Compõem uma classe de corantes insolúveis em água aplicados em fibras de celulose e outras fibras hidrofóbicas através de suspensão. O grau de solubilidade do corante deve ser pequeno, mas influencia diretamente o processo e a qualidade da tintura. Geralmente o processo de tintura ocorre na presença de agentes dispersantes com longas cadeias que estabilizam a suspensão do corante promovendo o contato entre o corante e a fibra hidrofóbica. Esta classe tem sido utilizada principalmente no tingimento de fibras sintéticas, tais como: o acetato de celulose, o nylon, o poliéster e a poliácridonitrila.

Corantes Pré- Metalizados – Classe de corantes empregada principalmente na tintura de fibras proteicas e poliamida. Os corantes são caracterizados pela presença de um grupo hidroxila ou carboxila na posição orto em relação ao cromóforo azo, permitindo a formação

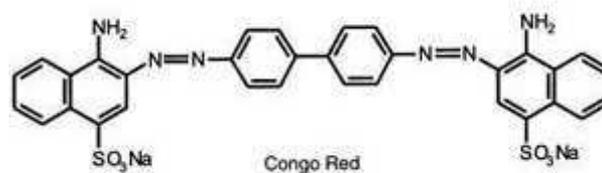
de complexos com íons metálicos. Esta classe possui uma desvantagem ecológica devido ao alto nível de metal (cromo) liberado nas águas de rejeito.

Corantes Branqueadores - Estes corantes apresentam grupos carboxílicos, azometino (-N=CH-) ou etilênicos (-CH=CH-) agrupados a sistemas benzênicos, naftalênicos, pirênicos e anéis aromáticos que proporcionam reflexão por fluorescência na região de 430 a 440 nm quando excitados por luz ultravioleta. Sabe-se que as fibras têxteis no seu estado bruto são compostas por materiais orgânicos que conferem uma cor amarelada a fibra. Logo, a diminuição dessa tonalidade é reduzida com o uso de alvejantes químicos ou corantes branqueadores.

3.3.2 Vermelho Congo

O Vermelho Congo (VC) é um sal sódico do ácido benzidinodiazobis-1-naftilamina-4-sulfônico, de cor vermelha, com temperatura de fusão acima de 360°C, cuja fórmula molecular é $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$, apresentando uma massa molar de $696,66 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ e estrutura molecular (Figura 1) bastante complexa contendo anéis aromáticos, sendo, portanto, um corante de difícil eliminação no meio ambiente, o que torna seu uso cada vez mais restrito. Trata-se de um corante classificado como diazo secundário por apresentar dois grupos de ligações estáveis azo (-N=N-) (QUEIROZ *et al.*, 2011).

Figura 1: Estrutura química do corante Vermelho Congo, contendo um grupo diazo como grupo cromóforo.
Fonte: BRUSCATO, 2011.



É um corante solúvel em água, produzindo uma solução coloidal vermelha, possui uma solubilidade melhor com solventes orgânicos como o etanol. Tem uma forte afinidade a fibras de celulose, aparentemente não-covalente. Devido à sua alta toxicidade, seu possível papel carcinogênico e mutagênico, a indústria de celulose (algodão têxtil e papel) tem abandonado cada vez mais o seu uso. No entanto, ainda é utilizado no tingimento da seda (REIS, 2009).

O Vermelho Congo foi primeiramente sintetizado por Paul Bottiger que trabalhava para a Friedrich Bayer Company em Elberfel na Alemanha em 1883. Bottiger buscava por

corantes têxteis que não demandassem de uma etapa mordente. A companhia não se interessou por sua cor vermelha brilhante, e então ele registrou a patente em seu nome e a vendeu para a companhia AGFA de Berlim. O corante descoberto foi então comercializado pela AGFA sob o nome de "Vermelho Congo", um nome atrativo na Alemanha em 1884 no tempo da Conferência de Berlin para a África Ocidental, um evento importante na Colonização da África. O corante foi um importante sucesso comercial para a AGFA e, diante disso, nos anos seguintes, outros corantes foram sendo comercializados utilizando o nome "Congo", como por exemplo, Congo rubina, Congo corinto, Congo brilhante, laranja Congo, castanho Congo e azul Congo (REIS, 2009).

Este corante pode ser usado como um indicador de potencial Hidrogeniônico (pH), devido à mudança em sua cor, de azul para vermelho, a um pH de 3,0 a 5,2. Em bioquímica e histologia, é usado para coloração biológica de microscopia, principalmente como um corante de citoplasma e eritrócitos. Pode ser usado como corante no diagnóstico de carcinoma da tireóide, ou ainda da amiloidose pelo tecido do fígado. Adicionalmente, o VC é usado em epidemiologia microbiológica para identificar de imediato a presença de sorotipos virulentos, onde o corante liga-se à única estrutura de lipopolisacarídeos das bactérias. Ainda vem sendo pesquisado seu papel como corante no diagnóstico de cândida e outros fungos patogênicos (SILVA, 2012).

3.4 TRATAMENTOS DE EFLUENTES

A remoção de corantes presentes nos efluentes industriais de maneira eficiente ainda é um dos maiores desafios ambientais devido à grande diversidade dos compostos e a sua alta complexidade, surgindo assim, uma grande preocupação para desenvolver processos voltados para o tratamento destes efluentes de forma mais adequada. Em função disso, atualmente diversos métodos de tratamentos físicos, químicos e biológicos vem sendo estudados (CAMPOS, 2010).

3.4.1 Métodos físicos

Os processos físicos são caracterizados por atuarem separando as fases, seja por sedimentação, decantação, filtração e centrifugação, ou mudança de fases por extração por solventes ou adsorção, ou ainda por separação em nível molecular utilizando técnicas mais sofisticadas e seletivas como a filtração por membranas (REIS, 2009).

3.4.1.1 Adsorção

A técnica de adsorção é conhecida desde o século XVIII, em que uma espécie de carvão retinha uma quantidade de vapor d'água em seus poros. Atualmente, essa técnica vem se destacando devido à sua eficiência na remoção de poluentes estáveis e por ser um método economicamente viável produzindo um efluente de alta qualidade (FILHO, 2012; REIS, 2009). A adsorção está ligada à tensão superficial das soluções, sendo influenciada por variáveis como temperatura, concentração e natureza da substância a ser adsorvido, o estado de agregação do adsorvente e do fluido em contato com o adsorvente. Por fim, é um fenômeno de superfície, ou seja, é necessária uma grande área superficial. Os adsorventes mais utilizados na indústria são o carvão ativado, a sílica-gel e as peneiras moleculares (FILHO, 2012).

3.4.1.2 Filtração por membrana

É um processo com aspectos moleculares, em que os poros possuem dimensões microscópicas possibilitando a clarificação e separação do corante do efluente. De acordo com o tamanho dos poros, as membranas são divididas em quatro classes: microfiltração (retém membranas coloidais com dimensões entre 100-1000 nm de diâmetro), ultrafiltração (separam moléculas grandes com dimensões entre 1-100 nm), nanofiltração (usada na separação de substâncias orgânicas, sendo seus poros com dimensões de 1 nm) e osmose reversa (retém moléculas menores que 1 nm). Essa técnica é vantajosa tendo em vista que remove todos os tipos de corantes, entretanto, tem como desvantagem a produção de lodo concentrado (FILHO, 2012; REIS, 2009).

3.4.2 Métodos químicos

Os tratamentos químicos baseiam-se na reação do corante com alguma substância que o converta em outra menos prejudicial ao meio ambiente. Esse tipo de tratamento vem ganhando destaque devido à sua enorme aplicabilidade em sistemas ambientais, como desinfecção, purificação de ar, purificação de água e efluentes industriais. Na maioria das vezes, ele é utilizado associado a outro tipo de tratamento, seja ele físico ou biológico (REIS, 2009; FREIRE *et al.*, 2000).

3.4.2.1 Oxidação

Devido à crescente necessidade de procedimentos que apresente uma maior eficiência no tratamento de efluentes, diversas técnicas têm sido estudadas nas últimas décadas. A oxidação é um processo químico de descoloração que vem sendo bastante utilizado devido ao seu simples manuseio. A oxidação química remove o corante do efluente através da oxidação, resultando na quebra dos anéis aromáticos das moléculas de corante. Os Processos Oxidativos Avançados (POA) são alternativas para o tratamento de compostos orgânicos recalcitrantes. Os POAs fundamentam-se na geração do radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) que possui alto poder oxidante promovendo a degradação em poucos minutos de diversos compostos poluentes (CAMPOS, 2010). Apesar dos POAs serem uma alternativa bastante promissora para o tratamento de efluentes, a geração de $\cdot\text{OH}$ é um processo relativamente caro, além de apresentar uma série de dificuldades na sua implantação em grande escala (PEREIRA; FREIRE, 2005).

3.4.2.2 Ozonização

A ozonização é outro processo bastante promissor, devido à sua capacidade de descoloração e aumento da biodegradabilidade do efluente. Além disso, esse tipo de sistema não gera resíduos sólidos como o do lodo ativado e por ser um método de fácil instalação e operação simples, tornando assim sua aplicação mais atrativa (ALMEIDA *et al.*, 2004). O ozônio foi utilizado pela primeira vez na década de 1970, sendo um ótimo agente oxidante por apresentar alta instabilidade, com potencial de oxidação de $E^\circ = 2,07\text{ V}$ comparado com o cloro ($E^\circ = 1,36\text{ V}$) e H_2O_2 ($E^\circ = 1,78\text{ V}$). O ozônio pode oxidar ligações não saturadas como, por exemplo, $-\text{C}=\text{C}-$ ou $-\text{N}=\text{N}-$ e estruturas aromáticas. A oxidação por ozônio é capaz de gerar a degradação de hidrocarbonetos clorados, fenóis, pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos. Apesar de ser um dos meios mais efetivos na descoloração de efluentes e por promover uma alta taxa de remoção de cor, este método ainda possui uma desvantagem que é sua curta meia-vida, normalmente 20 minutos, exigindo dessa forma uma aplicação contínua, elevando o custo do processo (CAMPOS, 2010).

3.4.3 Métodos biológicos

Os tratamentos biológicos são, sem dúvida, os processos mais utilizados pelas indústrias, devido à sua eficiência e à possibilidade de remediar grandes quantidades de efluentes, transformando compostos tóxicos em CO_2 , H_2O ou CH_4 com um custo

relativamente baixo (FREIRE *et al.*, 2000). São processos que se baseiam na nutrição de micro-organismos que se proliferam na presença de resíduos utilizando-os como fonte de carbono e nitrogênio. Devido à sua versatilidade, podem ser usados em uma vasta classe de compostos orgânicos poluentes (REIS, 2009).

3.4.3.1 Descoloração Fúngica

Os fungos têm provado serem os micro-organismos mais adequados para o tratamento de efluentes têxteis e remoção de corantes. Estudos recentes mostram que os fungos são capazes de descolorir e remover corantes têxteis por biossorção. Muitos têm capacidade de descolorir efluentes industriais contendo corantes via adsorção de biomassa sem degradação ou através de degradação aeróbia completa. Tais micro-organismos promovem a remoção de corantes do efluente têxtil por meio de três mecanismos: biossorção, bioacumulação e biodegradação (PEIXOTO; MARINHO; RODRIGUES, 2013).

A biossorção pode ser definida como uma ligação do soluto à biomassa por um processo que não envolve transporte de energia metabólica. Atualmente, tem se observado um crescente interesse em termos de pesquisa de adsorção pela procura por adsorventes de baixo custo, aumentando assim o interesse por resíduos da indústria ou da agricultura, além de biomassa microbiana como bactérias, fungos e algas podem ser utilizados como material adsorvente. A bioacumulação é definida como sendo o acúmulo de poluentes por ativação de células em crescimento por seu metabolismo (PEIXOTO; MARINHO; RODRIGUES, 2013).

3.5 BIORREMEDIAÇÃO

A biorremediação é uma técnica que utiliza organismos vivos no tratamento de ambientes contaminados para remover ou reduzir a concentração dos poluentes a níveis aceitáveis, não detectáveis e não tóxicos, isto é, dentro dos limites estabelecidos pelas agências de controle ambiental. O uso desta prática data desde as primeiras civilizações que mesmo sem o conhecimento adequado, atribuíram aos micro-organismos à destruição de compostos perigosos de uso doméstico, agrícola e industrial, sendo estes convertidos a dióxido de carbono, água e biomassa. A partir do século XIX, o biotratamento tornou-se mais aperfeiçoado com o auxílio das engenharias de processo, no entanto ainda não era chamada de biorremediação (BALLAMINUT, 2007).

Essa tecnologia vem ganhando bastante atenção e tem sido intensamente estudada pela comunidade científica por ser considerada uma alternativa ecologicamente adequada, eficaz e economicamente viável para o tratamento de áreas contaminadas. Apesar de outras tecnologias que utilizam tratamento físico-químico serem indicadas, a biorremediação se mostra mais adequada (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

3.5.1 Processos biodegradativos

A biorremediação envolve o processo de biotransformação do poluente, que pode ocorrer por processos de metabolismo ou de co-metabolismo. Na biotransformação ocorrem reações de oxidação, hidrólise, redução e conjugação. As vias metabólicas que atuam na biodegradação dependem de vários fatores, como a estrutura química do composto xenobiótico, as vias bioquímicas, a capacidade metabólica dos organismos envolvidos na degradação e as condições ambientais (BALLAMINUT, 2007).

3.5.2 Agentes biodegradadores

Segundo Ballaminut (2007), os agentes decompositores mais utilizados de matéria orgânica na biosfera são bactérias e fungos. Entretanto, as bactérias têm seu uso limitado nos tratamentos biológicos devido a fatores de estresse ambiental, além de apresentarem baixa eficiência na degradação de compostos ligados ao solo ou insolúveis em água. Por outro lado, os fungos são capazes de crescer sob condições de estresse, as quais as bactérias não suportariam. Além de que o modo de crescimento dos fungos, do alongamento e ramificação das hifas, permite uma colonização de áreas maiores, aumentando assim o contato superficial com o contaminante, melhorando os níveis de biodegradação.

3.6 FUNGOS BASIDIOMICETOS E A APLICAÇÃO EM BIORREMEDIAÇÃO

Os fungos pertencentes ao Filo Basidiomycota caracterizam-se por produzirem basidiósporos, em estruturas especializadas, denominadas basídios, que são microestruturas reprodutivas especializadas, que funcionam como esporângios de reprodução sexuada, produzindo meiósporos, chamados de basidiósporos devido à sua origem (VASCONCELLOS NETO, 2010).

A aplicação dos basidiomicetos lignocelulolíticos na biodegradação de substâncias químicas recalcitrantes vem sendo largamente estudada. Esse interesse fundamenta-se na

capacidade que esses organismos apresentam para degradar diversas moléculas de poluentes orgânicos persistentes e outras substâncias tóxicas (SILVA, 2009).

Os basidiomicetos ligninolíticos secretam enzimas capazes de converterem os polímeros externos em moléculas menores, estas são, então, assimiladas e utilizadas como fontes de nutrientes. A excreção de proteínas parece ocorrer durante o crescimento apical das hifas, sendo liberadas pela parede celular recém sintetizada (NETO, 2006).

A capacidade de degradar compostos xenobióticos deve-se inicialmente à semelhança entre as estruturas da molécula de lignina e de alguns compostos sintéticos orgânicos, principalmente os aromáticos. Só então a partir do entendimento básico do mecanismo do sistema enzimático ligninolítico, que foi sugerido o uso desses micro-organismos na degradação de poluentes ambientais (BALLAMINUT, 2007).

A capacidade dos fungos de podridão branca em degradar lignina torna este grupo mais interessante dentre os fungos utilizados para a biorremediação. Os basidiomicetos causadores da podridão branca desempenham um papel fundamental na clivagem de nutrientes, principalmente no ciclo do carbono, sendo excelentes degradadores de lignina (o segundo biopolímero mais abundante da terra) por meio de um processo multienzimático de uma série de enzimas intra e extracelular (SALVI, 2011).

3.7 DEGRADAÇÃO DO CORANTE VERMELHO CONGO POR BASIDIOMICETOS

Diversos autores vêm abordando em seus trabalhos a bioissorção de corantes orgânicos, investigando a influência dos micro-organismos vivos ou mortos (fungos, leveduras, algas, bactérias, etc.) e as formas de condução dos processos na bioissorção dos corantes. Fu e Viraraghavan (2002) investigaram a remoção do corante Vermelho Congo de águas residuais através da bioissorção desse composto poluente pelo fungo filamentosos *Aspergillus niger*.

A degradação de corantes por fungos de podridão branca, como o *Lentinus crinitus*, já foi relatada na literatura por outros autores (NIEBISCH, 2010). Esses fungos apresentam enzimas que participam da degradação da lignina, estas enzimas possuem baixa especificidade, tal fato é responsável por permitir que as mesmas oxidem poluentes sintéticos, que tenham similaridade estrutural com a lignina, como por exemplo, os corantes têxteis (ASGHER, 2008).

3.8 ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS

O uso de enzimas em processos de biorremediação para o tratamento de poluentes persistentes é cada vez maior e mais reconhecido. Elas podem atuar em compostos recalcitrantes removendo-os ou alterando suas características e tornando-os mais receptivo ao tratamento e menos agressivos ao ser lançado no meio ambiente (SILVA, 2011).

Segundo Silva (2009), as três principais enzimas ligninolíticas envolvidas na degradação de poluentes são lignina peroxidase (Lip), lacases (LAC) e peroxidases dependentes do manganês (MnP):

- A Lip é uma enzima relacionada ao metabolismo secundário, pertencente ao grupo de peroxidases, que oxidam principalmente compostos aromáticos não-fenólicos. A Lip é capaz de mineralizar uma variedade de compostos aromáticos recalcitrantes. Atuam em um pH entre 2 a 5 e uma temperatura de 35° a 55° C.
- A MnP é um grupo de enzimas que tem como principal característica o grupo prostético (heme). As condições ótimas para essa enzima variam entre as espécies de fungos, apresentam uma faixa ótima de pH entre 4 e 7, e temperatura entre 40° e 60°.
- As lacases são enzimas fenoxidases capazes de degradar compostos aromáticos desde que estejam na presença de mediadores específicos. Diversos fatores podem influenciar a produção desta enzima, a exemplo, composição do meio de cultura, pH ótimo entre 2 e 10 e temperatura entre 40° e 65°.

Com base no potencial dessas enzimas em atuarem na degradação de uma variedade de compostos poluentes, entre eles os corantes sintéticos, o uso de fungos basidiomicetos capazes de sintetizá-las e secretá-las vem ganhando cada vez mais destaque e aplicações biotecnológicas.

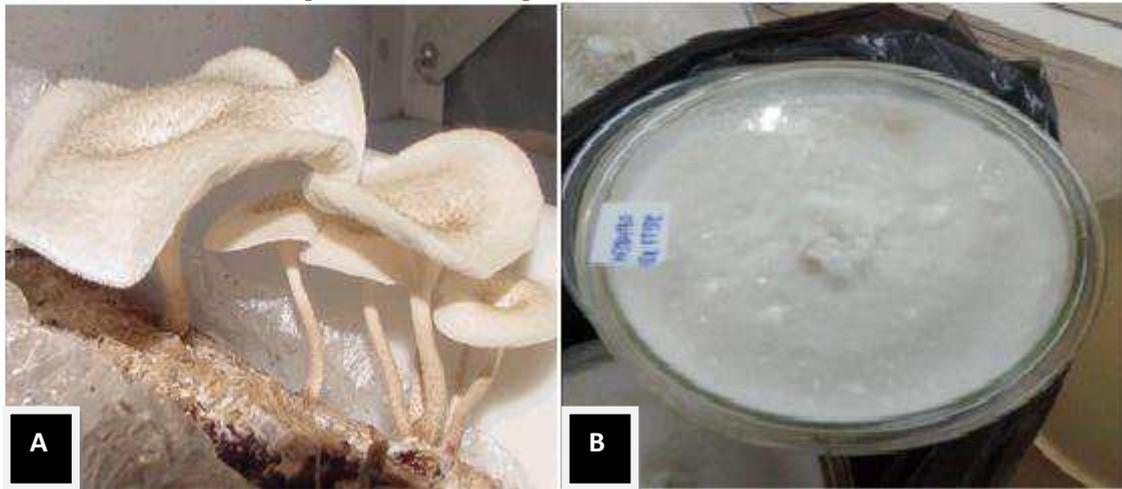
4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados os softwares Microsoft Office Excel 2007 e Origin 8 para montagem de planilhas, plotagem de gráficos e análises estatísticas como médias e desvios padrão.

4.1 MICRO-ORGANISMOS

O micro-organismo empregado neste estudo foi o fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611, cedido pelo Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente do estado de São Paulo (Figura 2).

Figura 2: (A) *Lentinus crinitus* cultivado e frutificado em bagaço de cana-de-açúcar (suplementado C/N 180. Fonte: BALLAMINUT (2007). (B) Fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 cultivado em meio MEA(2%) repicado em placa de Petri com aproximadamente 10 dias de cultivo.



A ativação, bem como a manutenção do isolado, foi feita em meio MEA (2%) a 28°C (Tabela 1), conforme descrito por Salvi, 2008.

Tabela 1: Composição do meio de cultura MEA para ativação dos fungos basidiomiceto *Lentinus crinitus* CCIBt 2611.

Componentes	Concentração (%)
Extrato de Malte	2,0
Peptona	0,1
Ágar	1,5

4.2 CORANTE

O corante utilizado foi o Vermelho Congo, cuja fórmula molecular é $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$, apresentando uma massa molar de 696,66 e solução vermelha. Partiu de solução estoque na concentração de 2,5 g/L diluída em água destilada.

4.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO

4.3.1 Meio sólido para avaliação da descoloração

Para avaliar a degradação do corante Vermelho Congo em meio sólido foi utilizado um meio composto por água e ágar, acrescido de corante na quantidade suficiente para estabelecer as concentrações de 20, 40, 60 e 80 mg.L⁻¹. Como controle foi utilizado o mesmo protocolo descrito acima, no entanto, na ausência do inoculo microbiano e armazenado em incubadora a 28°C. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Pedaços 0,5 cm x 0,5 cm das placas com meio MEA (2%) contendo o fungo foram transferidos, em condições assépticas, para placas de Petri com aproximadamente 20 mL de meio composto por água e ágar, (Tabela 2) acrescido de corante VC. As placas foram incubadas a 28°C e realizadas medições de halos a cada 24 horas até o período de 120 horas.

Tabela 2: Composição do meio sólido para avaliar a degradação do corante.

Componentes	Concentração
Ágar	1,5%
Água	1L
Corante	Concentrações estudadas

4.3.2 Meio líquido para avaliação da descoloração

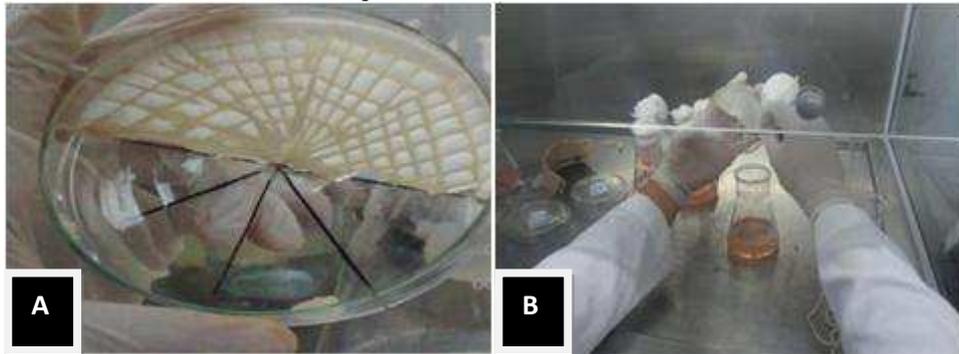
Para avaliar a descoloração do corante Vermelho Congo em meio líquido foi utilizado de caldo de batata, suplementado com sacarose, (Tabela 3) previamente autoclavados por 20 minutos a 121°C e distribuídos em Erlenmeyers de 250 mL, contendo corante nas concentrações de 20, 25, 30 e 40 mg.L⁻¹. Como controle foi utilizado o mesmo sistema, na ausência do inoculo microbiano e armazenado sob agitação orbital de 120 rpm (rotação por minuto). Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Tabela 3: Composição do meio líquido para avaliar a degradação do corante.

Componentes	Concentração
Batata	200,00 g
Sacarose	20,00 g
Água	1L
Corante	Concentrações estudadas

Foram retirados pedaços correspondentes a 1/8 das placas contendo os fungos previamente cultivados e transferidos, em condições assépticas, para Erlenmeyers contendo 100 mL de caldo de batata, sacarose e acrescido de corante nas diferentes concentrações (Figura 3).

Figura 3: (A) Corte correspondente a 1/8 da placa; (B) Inoculação do micro-organismo em meio líquido contendo o corante.



Os frascos foram incubados sob agitação orbital de 120 rpm (rotação por minuto) e em incubadora em cultivo sem agitação por 72 horas, ambos em temperatura de 28°C. O cultivo foi interrompido com 24 h, 48 h e 72 h para coleta e análise de dados (Figura 4).

Figura 4: (A) Cultivo em incubadora; (B) Cultivo sob agitação orbital.



4.3.2.1 Obtenção do filtrado

O filtrado foi obtido por meio de filtração a vácuo utilizando papel de filtro com poro de 0,25 μm .

4.4 DESCOLORAÇÃO

4.4.1 Avaliação do Índice de Degradação em meio sólido

O cálculo do Índice de Degradação (ID) foi feito estabelecendo uma relação com o que é feito para a determinação da atividade enzimática adaptado por Hankin e Anagnostakis (1975). Nesse caso o Índice de Degradação foi avaliado pela relação entre a medida do halo de degradação do corante e o halo de crescimento fúngico. Para as medidas do diâmetro do halo foi utilizada uma régua milimétrica. Todos os ensaios foram realizados em triplicata, Equação 1.

$$ID = \frac{\varnothing_h}{\varnothing_c} \quad (1)$$

Em que,

ID = Índice Degradação;

\varnothing_h = Diâmetro médio do halo de degradação, cm;

\varnothing_c = Diâmetro médio da colônia, cm.

4.4.2 Descoloração e aferição do pH no meio líquido

O filtrado foi utilizado para aferição do pH com o auxílio de fitas de pH e da absorbância para avaliação de descoloração do corante. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

A leitura da absorbância do filtrado das amostras foi realizada em espectrofotômetro Instrutherm UV – 1000A e utilizada para inferir na descoloração em cultura realizada pelo fungo. O comprimento de onda utilizado neste trabalho para leitura de absorbância foi realizado com base na absorbância máxima λ (nm) do corante em estudo (MANCILHA, 2006). A porcentagem de descoloração em cultura foi calculada de acordo com a Equação 2 (BRUSCATO, 2011):

$$\% \text{ de descoloração} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (2)$$

Em que,

A_{amostra} = é a absorbância a 480 nm do sobrenadante;

A_{controle} = é a absorbância a 480 nm do sobrenadante de culturas sem o inóculo fúngico contendo apenas o corante.

4.4.3 Atividade enzimática da lacase em meio líquido

Foi determinada pela oxidação do ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazol-6-sulfônico), medida por variação de absorbância a 420 nm ($\epsilon = 36000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) durante 10 minutos, em espectrofotômetro Instrutherm UV – 1000A, seguindo o método descrito por Ballaminut (2007). A mistura de reação está expressa a seguir (Tabela 4). Uma unidade enzimática corresponde à quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μMol de ABTS por minuto.

Tabela 4: Concentrações da mistura de reação para determinação da atividade enzimática.

Componentes (mM)	Concentração (µL)
Tampão citrato-fosfato (50)	250,00
Peróxido de hidrogênio (2)	50,00
ABTS (5)	100,00
Extrato enzimático	600,00

4.5 CRESCIMENTO FÚNGICO

4.5.1 Crescimento fúngico em meio sólido

O crescimento fúngico foi verificado a cada 24 horas por meio da medida do diâmetro das colônias em eixos perpendiculares entre si. Foi verificada a velocidade de crescimento usando a Equação 3.

$$V = \frac{\varnothing_c}{t} \quad (3)$$

Em que,

V= Velocidade instantânea do crescimento fúngico, cm/dia;

\varnothing_c = Diâmetro da colônia em cm;

t= Tempo em dia.

4.5.2 Crescimento fúngico em meio líquido

A determinação do crescimento fúngico em meio líquido foi realizada pela análise da biomassa obtida por filtração a vácuo, que foi incubada em estufa a 70°C, por 96 horas, em papel filtro de poro 0,25 μm , seguida de aferição por gravimetria.

A biomassa foi determinada pela diferença entre as médias do papel filtro com células (*massa*₂) e sem células (*massa*₁), de acordo com a Equação 4.

$$X = \text{Massa 2} - \text{Massa 1} \quad (4)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO FRENTE ÀS CONCENTRAÇÕES DO CORANTE VERMELHO CONGO EM MEIO SÓLIDO

5.1.1 Degradação em meio sólido – Teste de tolerância

A degradação do corante foi verificada por meio do método de difusão em gel de Agar em placas de Petri. Analisando a Tabela 5, pode-se observar que no decorrer do tempo há um aumento nos valores dos Índices de Degradação em todas as concentrações do corante (20, 40, 60 e 80 mg.L⁻¹), apresentando Índices maiores no instante de 120 horas. Não foi observada formação de halo de degradação nas primeiras 24 horas de cultivo e não houve diferença no tamanho dos halos no intervalo de 72 horas para 96 horas. Pode se inferir que o fungo produz algum metabólito o qual se difunde pelo meio degradando o corante, o que resultou na formação de halos de degradação. Entre os possíveis metabólitos produzidos estão as enzimas ligninolíticas, como as lacases e peroxidases e os compostos de baixa massa molecular, visto que esse isolado é conhecido por produzir tais compostos (SALVI, 2008).

Na Tabela 5, ainda é possível observar que todos os ensaios apresentaram halos de degradação maiores que 2, exceto nas concentrações de 60 e 80 mg.L⁻¹ ambos nos tempos de 48 horas. Esses halos de degradação inferiores podem ser decorrentes da alta concentração do corante que pode ter sido tóxica para o fungo, impedindo a produção de metabólitos, além do curto tempo para difusão dos referidos metabólitos no meio. Os maiores halos de degradação foram de 2,86 e 2,83, observados com 120 horas de cultivo para a concentração de 20 e 80 mg.L⁻¹, respectivamente, correspondendo a 30,10% e 29,80% de degradação. Os menores halos foram obtidos para a concentração de 60 mg.L⁻¹.

Tabela 5: Índice de Degradação do corante Vermelho Congo para todas concentrações.

Concentrações de Corante (mg.L ⁻¹)	Índice Degradação – ID		
	48 h	72 h	120 h
20	2,09 ± 0,27	2,09 ± 0,27	2,86 ± 0,41
40	2,25 ± 0,91	2,52 ± 0,27	2,55 ± 0,31
60	1,71 ± 0,27	2,15 ± 0,22	2,16 ± 0,46
80	1,85 ± 0,19	2,30 ± 0,28	2,83 ± 0,43

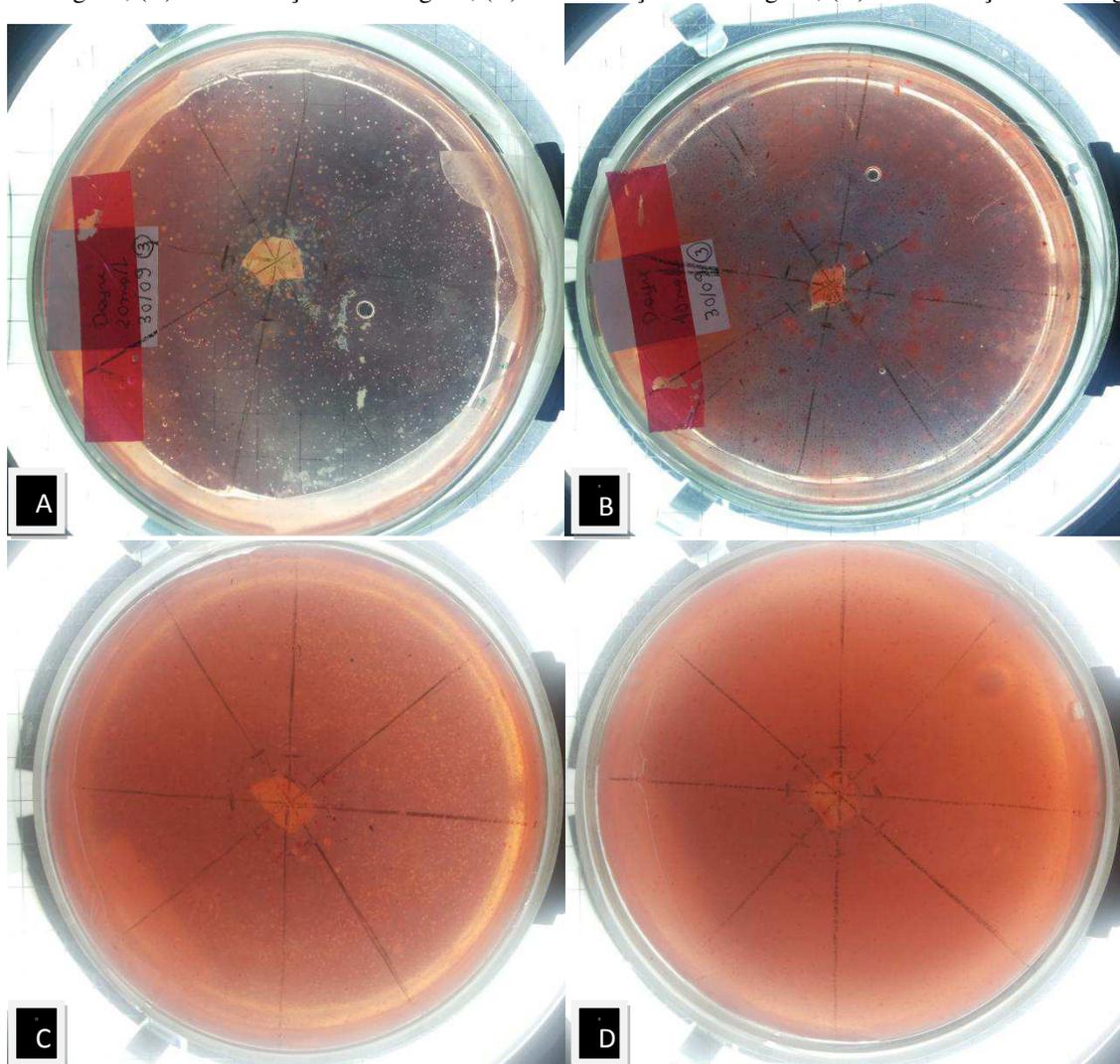
Nota: O índice de Degradação representa a média das medidas do halo de degradação do corante/halo do crescimento fúngico. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Neste trabalho houve a degradação do corante nas primeiras 48 horas sem a presença de indutores enzimáticos, tornando este método interessante, visto a capacidade do micro-organismo em degradar o corante em um tempo menor quando corroborado com outros

estudos e por utilizar um meio de cultura mais barato. Ao contrário de Almeida *et al* (2012), que observaram em seu trabalho a produção de lacases pelo fungo do gênero *Penicillium* na descoloração do corante Índigo Carmim após 72 horas de cultivo, utilizando o ácido tânico como indutor enzimático.

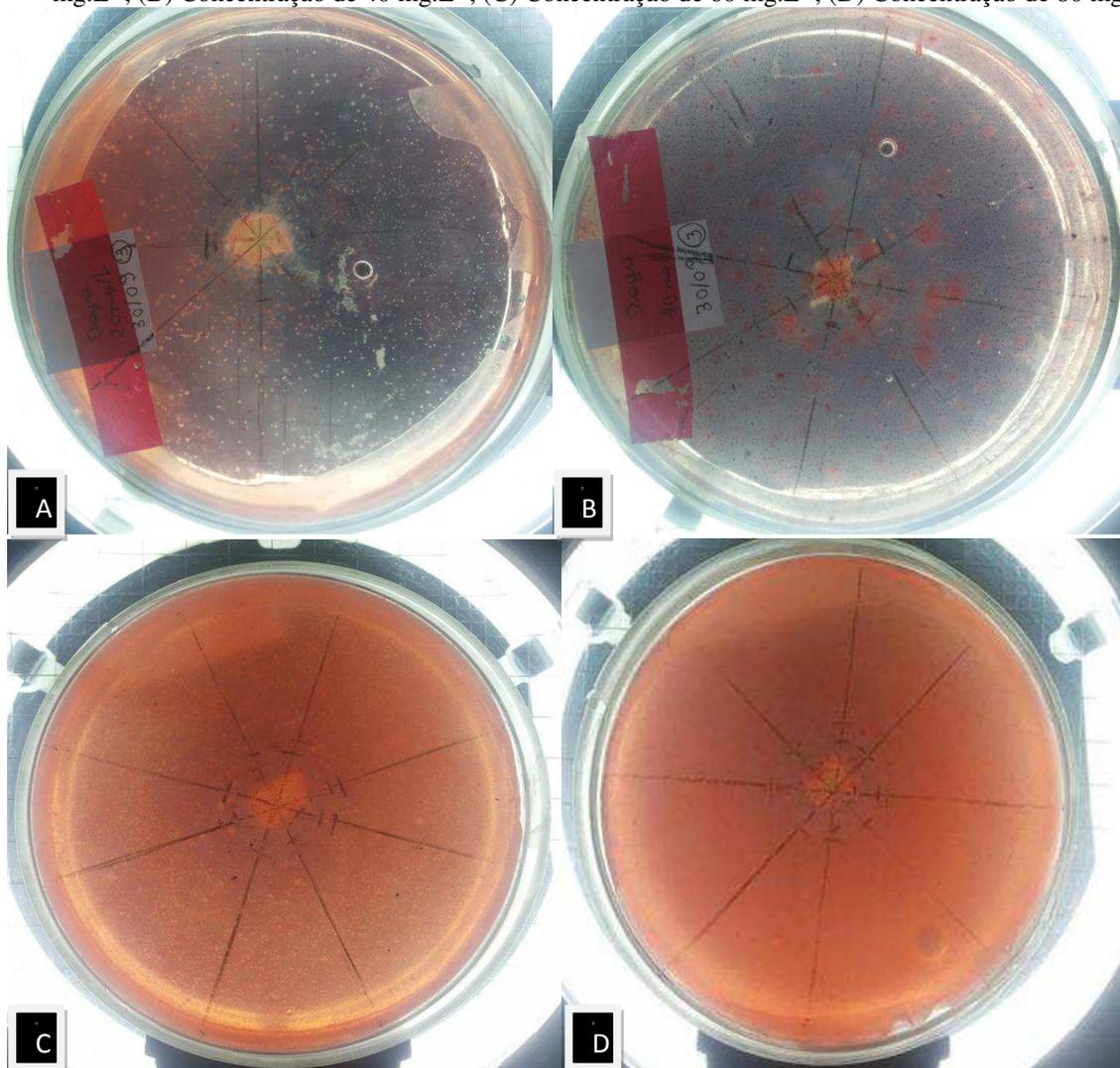
A Figura 5 ilustra os halos de degradação do corante Vermelho Congo no tempo de 48 horas de cultivo. É possível observar que nas primeiras 48 horas ocorre uma degradação quase que total na placa nas concentrações de 20 e 40 mg.L⁻¹ (A e B), essa rápida degradação pode ser entendida pelas baixas concentrações do corante que não foram tóxicas para o micro-organismo e possibilitaram a produção de metabólitos pelo fungo, que utilizou tais compostos produzidos para sua manutenção vital. Para as concentrações de 60 e 80 mg.L⁻¹ (C e D), há também a formação de halos no instante de 48 horas, no entanto, estes ainda se mostram pequenos quando comparados aos de concentrações menores. Este resultado pode ser explicado devido a uma possível dificuldade do micro-organismo tolerar altas concentrações do corante em um curto período de tempo.

Figura 5: Representação dos halos de degradação no tempo de 48 horas de cultivo. (A) Concentração de 20 mg.L⁻¹; (B) Concentração de 40 mg.L⁻¹; (C) Concentração de 60 mg.L⁻¹; (D) Concentração de 80 mg.L⁻¹.



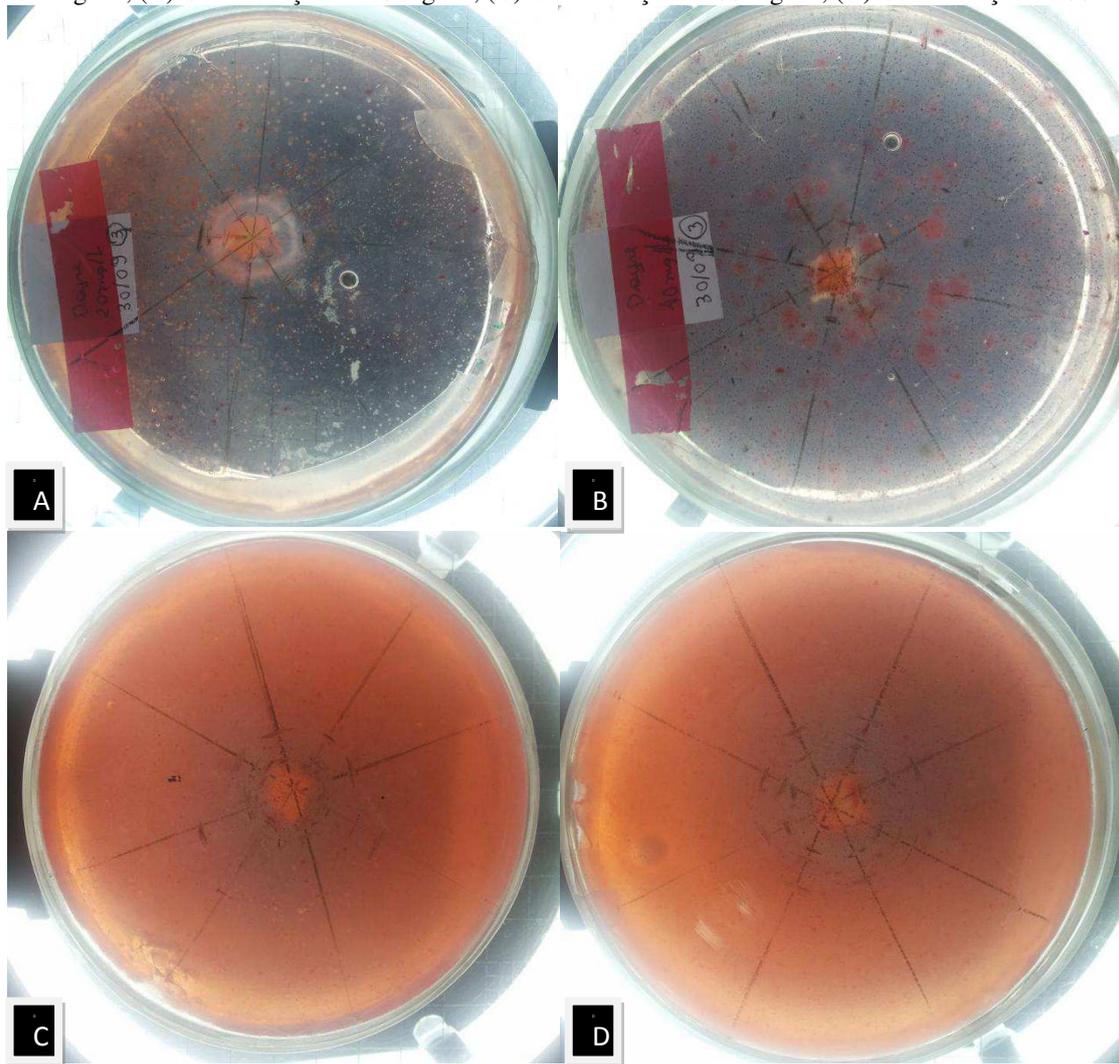
De acordo com a Figura 6, o fungo continua degradando o corante com 72 horas de cultivo. Como esperado, as placas nas concentrações de 20 e 40 mg.L⁻¹ (A e B) apresentam agora uma cor mais clara dificultando a visualização dos halos de degradação, visto que uma quantidade significativa de corante já foi degradado. Nas placas com concentrações maiores de 60 e 80 mg.L⁻¹, C e D respectivamente, com mais tempo de cultivo (72 horas), é possível visualizar com maior nitidez a formação dos halos de degradação.

Figura 6: Representação dos halos de degradação no tempo de 72 horas de cultivo (A) Concentração de 20 mg.L⁻¹; (B) Concentração de 40 mg.L⁻¹; (C) Concentração de 60 mg.L⁻¹; (D) Concentração de 80 mg.L⁻¹.



Com base na Figura 7, pode-se notar que com 120 horas de cultivo as concentrações de 20 e 40 mg.L⁻¹ visualmente praticamente não apresentaram mais o corante no meio. Os halos de degradação nas placas com concentrações maiores aumentaram consideravelmente, demonstrando que, mesmo este corante apresentando alta toxicidade, as altas concentrações e o tempo de exposição prolongado possibilitaram maior difusão em gel de ágar dos metabólitos produzidos por *Lentinus crinitus*.

Figura 7: Representação dos halos de degradação no tempo de 120 horas de cultivo. (A) Concentração de 20 mg.L⁻¹; (B) Concentração de 40 mg.L⁻¹; (C) Concentração de 60 mg.L⁻¹; (D) Concentração de 80 mg.L⁻¹.



Bruscato (2011) em seu trabalho utilizando fungos endofíticos para a descoloração de corantes da família Remazol (Remazol Amarelo, Remazol Vermelho e RB220), obteve uma degradação superior a 50% do diâmetro da placa com 15 dias de cultivo. É importante ressaltar a utilização em seu experimento de fontes de carbono (galactose 1g/L) e nitrogênio (tartarato de amônio 1g/L) para 0,1 g/L de corante, obtendo assim uma degradação final de 84%. Tatarko e Bumpus (1998) analisaram além do cultivo em meio líquido, a degradação do Vermelho Congo pelo *Phanerochaete chrysosporium* em meio sólido, contendo extrato de malte e ágar, e observaram que este basidiomiceto é capaz de descolorir 31,2 % de 500 mg.L⁻¹ de corante em dois dias.

Pereira e colaboradores (2010) avaliaram em seu estudo a descoloração em meio sólido dos corantes monoazos, Reactive Yellow 145 e Reactive Red 195, na concentração de

300 ppm e observaram uma total descoloração dos corantes após 12 dias de cultivo utilizando o fungo basidiomiceto *Lentinula edodes*.

Comparando os trabalhos citados anteriormente com o presente estudo, o fungo *Lentinus crinitus*, quando cultivado em um meio sem nenhuma fonte de nutriente que favorecesse e acentuasse a degradação, foi capaz de descolorir 30,10 % e 29,80 % nas concentrações de 20 e 40 mg.L⁻¹, respectivamente, do corante Vermelho Congo e apresentar halos de degradação para altas concentrações (60 e 80 mg.L⁻¹) em um período de 120 horas, correspondendo a 5 dias, tempo inferior aos citados anteriormente nos trabalhos.

5.1.2 Crescimento fúngico em meio sólido

A avaliação do crescimento microbiano em meio sólido está representada na Tabela 6, em que foi analisado o crescimento fúngico por um período de 120 horas. Foi possível observar que há um aumento no diâmetro da colônia em todas as concentrações do corante Vermelho Congo, apresentando maior crescimento na concentração de 20 mg.L⁻¹ e menor crescimento na concentração de 80 mg.L⁻¹. Esses resultados demonstram que o fungo é capaz de tolerar altas concentrações do corante pois, apesar desta alta concentração, houve crescimento.

Segundo Ballaminut (2011), mesmo que os basidiomicetos sejam capazes de suportar elevadas concentrações de poluentes, a presença desses em culturas fúngicas pode interferir nos processos metabólicos, incluindo alterações nas atividades enzimáticas e no seu crescimento.

Tabela 6: Crescimento fúngico em meio sólido.

Concentrações de corante (mg.L ⁻¹)	Crescimento fúngico (cm)		
	48 h	72 h	120 h
20	0,90 ± 0,10	0,90 ± 0,10	1,44 ± 0,19
40	0,95 ± 0,16	1,10 ± 0,14	1,40 ± 0,14
60	0,93 ± 0,10	1,01 ± 0,08	1,40 ± 0,24
80	1,04 ± 0,13	1,05 ± 0,12	1,08 ± 0,13

Nota: Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Legenda: Ø: Diâmetro médio da colônia (cm).

5.1.3 Velocidade do crescimento fúngico em meio sólido

A velocidade do crescimento microbiano foi verificada a cada 24 horas, em que foram realizados cálculos com base na Equação 4, descrita no item 4.5.1. De acordo com a Tabela 7, o fungo *Lentinus crinitus* apresenta uma maior velocidade de crescimento em concentrações mais baixas do corante, de 20 e 40 mg.L⁻¹. Ao expor o fungo a concentrações

maiores, o micro-organismo tende a diminuir sua velocidade de crescimento, como observado para a concentração de 80 mg.L^{-1} , em que o fungo também apresentou uma menor taxa de crescimento. Este fato pode ser associado à toxicidade do corante, o que dificultou que o fungo o metabolizasse para a produção de energia e conseqüentemente seu crescimento.

Tabela 7: Velocidade do crescimento fúngico em meio sólido.

Concentrações de corante (mg.L^{-1})	Velocidade instantânea do crescimento fúngico (cm/dia)		
	48 h	72 h	120 h
20	0,90	0,90	0,54
40	0,95	0,15	0,30
60	0,93	0,08	0,47
80	1,04	0,01	0,03

Nota: Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

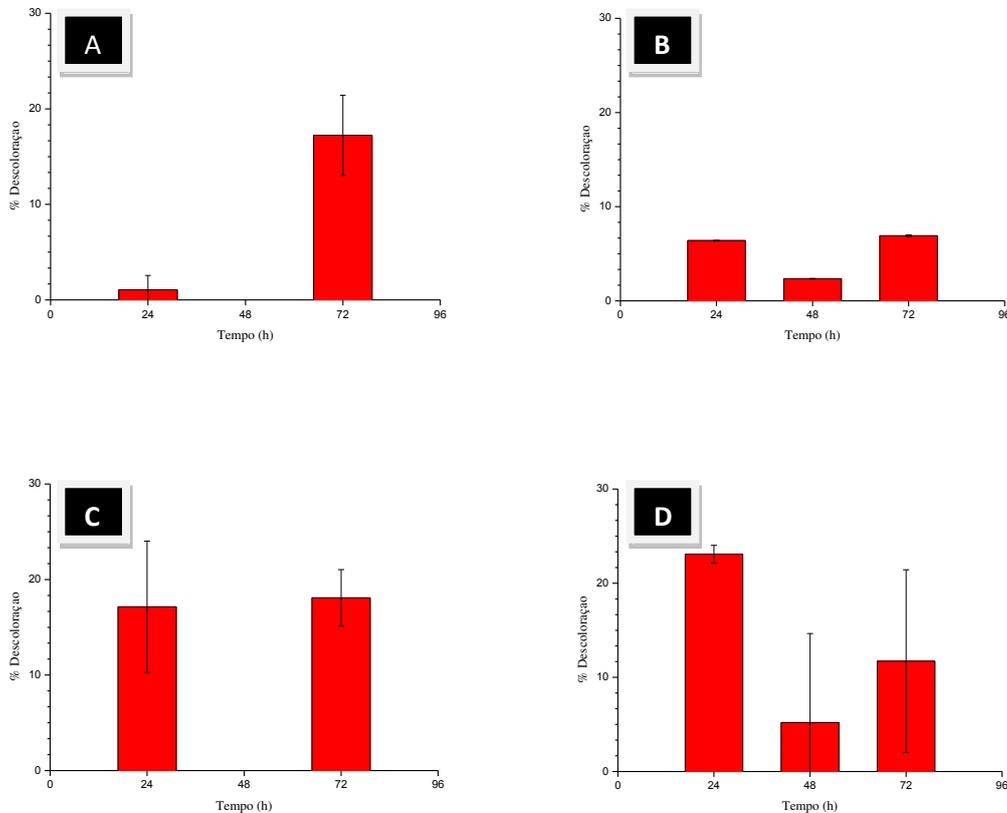
5.2 EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DO CORANTE VERMELHO CONGO NA DESCOLORAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO

5.2.1 Cultivo com agitação

A adsorção do corante Vermelho Congo pelo fungo *Lentinus crinitus* no meio de cultura líquido foi determinada por meio da porcentagem de degradação, Equação 2. Analisando a Figura 8 (A), é possível observar uma adsorção/descoloração de 17,23% para a concentração de 20 mg.L^{-1} no tempo de 72 horas de cultivo. Para a concentração de 25 mg.L^{-1} , observou-se uma porcentagem de adsorção/descoloração, apenas 6,93% com 72 horas de cultivo (Figura 8-B). Na Figura, 8 (C) também se verifica que a maior adsorção/descoloração ocorreu com 72 horas de cultivo, apresentando um resultado de 18,09%. A maior adsorção/descoloração observada nesse tipo de cultivo sob agitação foi na concentração de 40 mg.L^{-1} , conforme a Figura 8 (D), obtendo-se uma porcentagem de 23,07% nas primeiras 24 horas.

Pereira e Colaboradores (2010), utilizou em seu estudo o fungo *Lentinula edodes* (fungo ligninolítico) na descoloração de corantes como o Reactive Red 195 na concentração de 100 ppm, os melhores resultados obtidos foram observados nos cultivos sob agitação e na presença do tampão acetato de sódio, com uma descoloração de 89%. De acordo com os referidos autores, na grande maioria dos casos, a agitação garante uma maior oxigenação favorecendo o crescimento fúngico e interferindo diretamente nas reações enzimáticas, podendo tal fato estar associado a uma maior taxa de degradação do corante. No entanto, isto não pode ser observado nesse estudo, visto que não se tem conhecimento da fisiologia completa do micro-organismo.

Figura 8: Representação da porcentagem de descoloração em cultivo líquido sob agitação nas concentrações de: (A) 20 mg.L⁻¹; (B) 25 mg.L⁻¹; (C) 30 mg.L⁻¹ e (D) 40 mg.L⁻¹.



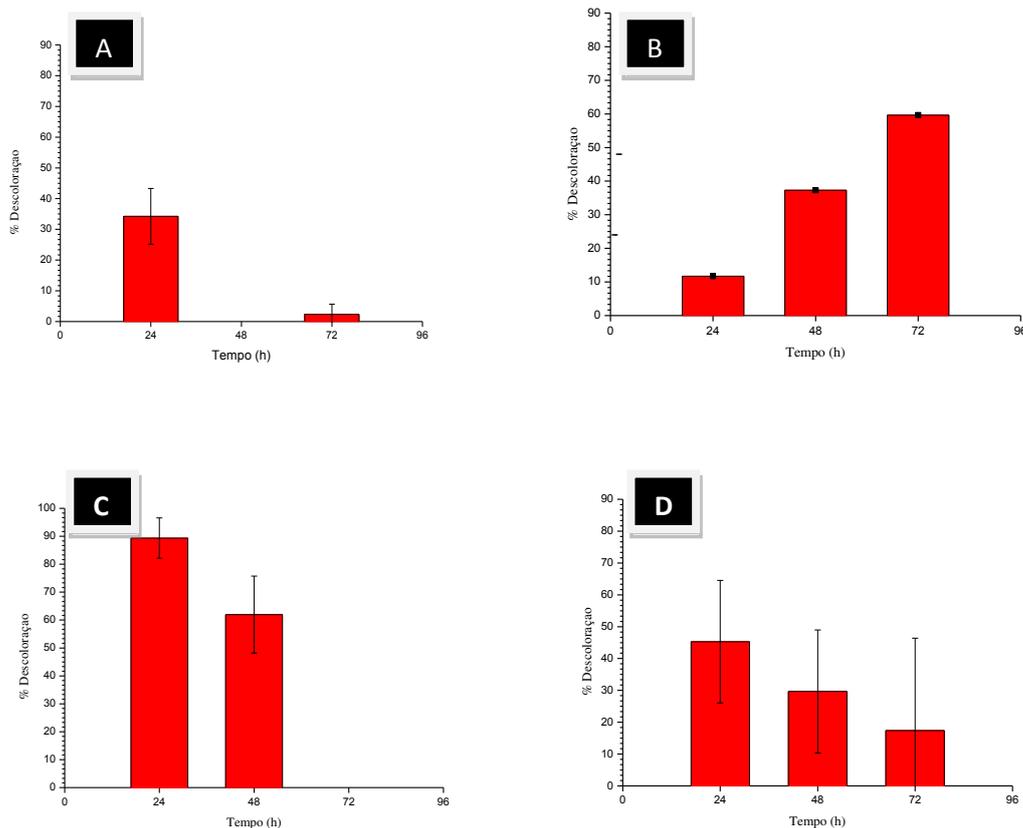
5.2.2 Cultivo estacionário

No cultivo estacionário as maiores descolorações foram obtidas nas primeiras 24 horas de cultivo nas concentrações de 20, 30 e 40 mg.L⁻¹, com exceção da concentração de 25 mg.L⁻¹. Analisando a Figura 9 (A, C e D), pode-se observar porcentagens de descoloração de 34,24%, 89,34% e 45,30% respectivamente para as concentrações de 20, 30 e 40 mg.L⁻¹, todas no instante de 24 horas. Enquanto que para a concentração de 25 mg.L⁻¹ foi obtida uma porcentagem de 59,64% com 72 horas de cultivo, Figura 9 (B).

Rodrigues e Colaboradores (2011), observaram em seu trabalho uma remoção de 96% do corante Vermelho Congo na concentração de 400 mg.L⁻¹ em um tempo de 168 horas utilizando o fungo *Aspergillus niger* AN400 fazendo uso de um Reator em Batelada com Biomassa Imobilizada (RBBI), tal porcentagem de remoção foi alcançada com a adição de 1g/L de glicose. De modo diferente, neste trabalho não foi utilizado nenhum indutor para atividade enzimática e os maiores valores de descoloração foram observados em um menor período de tempo, nas primeiras 24 horas de cultivo.

Tatarko e Bumpus (1998), observaram em seus trabalhos a adsorção do corante Vermelho Congo pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium* em meio líquido, em que conseguiam descolorir 50 mg.L^{-1} em 5 horas pelos pellets do basidiomiceto.

Figura 9: Representação da porcentagem de descoloração em cultivo líquido estacionário nas concentrações de: (A) 20 mg.L^{-1} ; (B) 25 mg.L^{-1} ; (C) 30 mg.L^{-1} e (D) 40 mg.L^{-1} .



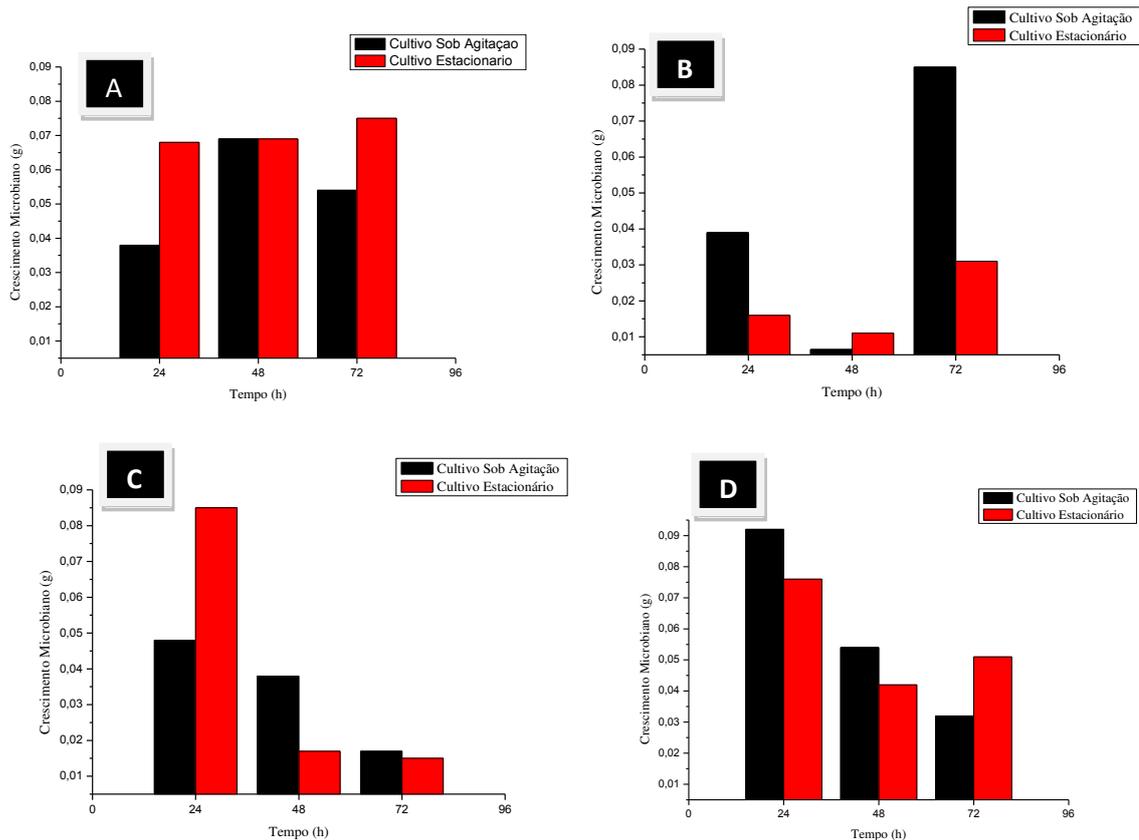
5.2.3 Crescimento fúngico em meio líquido

Observando a Figura 10 (A e B) para avaliar o crescimento microbiano nas concentrações de 20 e 25 mg.L^{-1} , nota-se que nestas concentrações de corante o fungo apresenta um bom crescimento, demonstrando que o micro-organismo consegue manter seu crescimento e tolera a exposição prolongada em um meio contendo um corante tóxico, tanto no cultivo estacionário como no cultivo sob agitação.

No entanto, para concentrações maiores de 30 e 40 mg.L^{-1} , é possível observar na Figura 10 (C e D), que o fungo *Lentinus crinitus* atinge seu ponto máximo de crescimento com 24 horas de cultivo, vindo a decair no decorrer do tempo, tanto no cultivo estacionário como no cultivo sob agitação. Tal comportamento demonstra que as altas concentrações e o tempo de exposição ao corante podem interferir no crescimento do micro-organismo em meio

líquido. Este resultado corrobora com obtido por Niebisch (2009), ao avaliar o potencial de biodegradação do corante têxtil Remazol Azul Brilhante pelo fungo *Lentinus crinitus*, a presença do corante inibiu significativamente o crescimento do micro-organismo, cerca 50% independente da concentração analisada.

Figura 10: Crescimento fúngico em cultivo estacionário e sob agitação nas concentrações de: (A) 20mg.L⁻¹; (B) 25 mg.L⁻¹; (C) 30 mg.L⁻¹ e (D) 40 mg.L⁻¹



Com base na Figura 10 (B e D), é possível observar uma diminuição no crescimento fúngico no tempo de 48 horas de cultivo. Analisando os valores dos desvios padrão, Tabelas 8 e 9, verifica-se que os valores da biomassa no instante de 48 horas tendem a estar próximos aos valores da biomassa referentes ao tempo de 72 horas de acordo com o intervalo dos desvios.

Tabela 8: Crescimento fúngico em meio líquido estacionário.

Concentração de corante (mg.L ⁻¹)	Crescimento fúngico (g)		
	24 h	48 h	72 h
20	0,068 ± 0,021	0,069 ± 0,016	0,075 ± 0,01
25	0,016 ± -	0,011 ± -	0,031 ± -
30	0,085 ± 0,015	0,017 ± 0,011	0,015 ± 0,001
40	0,076 ± 0,002	0,042 ± 0,008	0,051 ± 0,001

Nota: Houve perda nos valores dos desvios padrão para a concentração de 25 mg.L⁻¹.

Tabela 9: Crescimento fúngico em meio líquido sob agitação.

Concentração de corante (mg.L ⁻¹)	Crescimento fúngico (g)		
	24 h	48 h	72 h
20	0,038 ± 0,025	0,069 ± 0,011	0,054 ± 0,083
25	0,039 ± -	0,007 ± -	0,085 ± -
30	0,048 ± 0,030	0,038 ± 0,013	0,017 ± 0,002
40	0,092 ± 0,013	0,054 ± 0,004	0,032 ± 0,001

Nota: Houve perda nos valores dos desvios padrão para a concentração de 25 mg.L⁻¹.

5.2.4 Determinação do pH em meio líquido

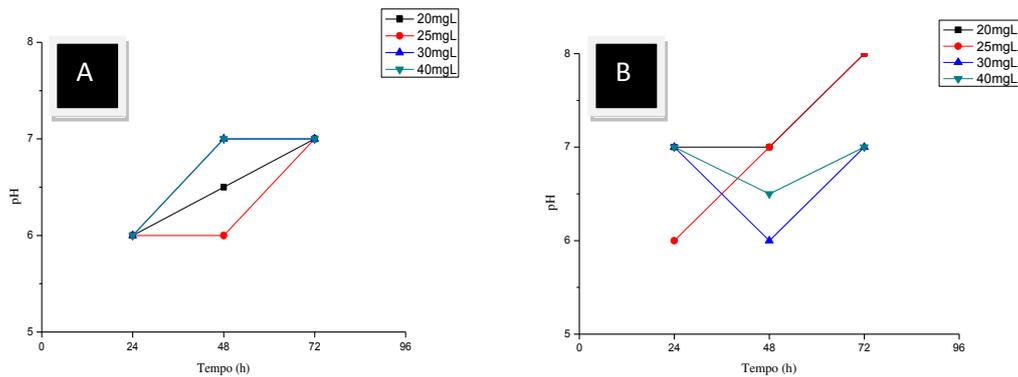
A Figura 11 mostra os valores de pH em cultivo estacionário e sob agitação. É possível observar uma variação e elevação dos seus valores em ambos os cultivos, variando de 6 a 8. O micro-organismo neutraliza o pH do meio em todas as concentrações no tempo de 72 horas para o cultivo estacionário. Enquanto que no cultivo sob agitação é observado uma elevação do pH para 8 nas concentrações de 20 e 25 mg.L⁻¹ e uma neutralização do meio nas concentrações de 30 e 40 mg.L⁻¹. Segundo Melo *et al* (2014), os fungos basidiomicetos tendem a neutralizar o meio devido às suas reações metabólicas, por meio de elevações no pH. Porém conforme Niebisch (2009), é possível observar uma eficiente descoloração de corantes têxteis em pHs altos. Observando a Figura 9 (B), obteve-se uma porcentagem de adsorção/ descoloração de 59,64% em meio líquido estacionário para a concentração de 25 mg.L⁻¹ no tempo de 72 horas, em que neste tempo observava-se um pH de 7.

Comparando os valores de adsorção do corante e as medidas da biomassa, nota-se que a porcentagem de adsorção não depende somente da concentração final de biomassa. Segundo Melo *et al* (2014), isso pode estar relacionado às mudanças no pH, visto que ele promove a dissociação de grupos funcionais que estão presentes nos sítios ativos do adsorvente, afetando consequentemente o processo de adsorção.

Pereira *et al.* (2010) em seu estudo na descoloração do corante antraquinônico o Remazol Brilliant Blue R - RBBR e o corante monoazo Reactive Red 195 utilizando o fungo *Lentinula edodes* em meio líquido, pode observar uma descoloração de 100% e 89% para os corantes, respectivamente, em um pH de 5.

Os meios de cultura com valores baixos de pH são mais propícios aos fungos e um grande número de enzimas são secretadas em pH cujos valores se encontram na faixa ácida, sendo que a partir de 7 as atividades enzimáticas diminuem, ocorrendo perda da eficiência na remoção de poluentes (RODRIGUES *et al*, 2011).

Figura 11: Valores de pH (A) cultivo estacionário; (B) cultivo sob agitação.



5.3 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM MEIO LÍQUIDO

Não foi verificada a produção de enzimas lacases pelo o fungo *Lentinus crinitus* nas condições de cultivo expostas. Deve-se considerar que neste estudo, o referido fungo foi submetido à fermentação submersa e sendo este um fungo causador da podridão branca da madeira, deve haver um tempo maior de cultivo para que haja adaptação do micro-organismo ao ambiente. Além disso, talvez a adição de agentes indutores enzimáticos seja imprescindível para a detecção de lacase no meio de cultura.

Bruscato (2011) observou a produção de lacases utilizando fungos endofíticos com 10 dias de cultivo em meio líquido, é importante ressaltar a utilização em seu trabalho de fontes de carbono e nitrogênio que atuaram como indutores enzimáticos. Na presença de galactose como fonte de carbono, na concentração de 1g/L, Bruscato (2011) pode observar uma descoloração de 84% do corante estudado. Como fontes de nitrogênio o mesmo utilizou uréia, nitrato de Sódio e tartarato de amônia, sendo este último a melhor fonte de nitrogênio observada, apresentando uma descoloração de até 70 % do corante na presença de 5 g/L de tartarato de amônia.

Ballaminut (2007) detectou em seu estudo a presença de enzimas peroxidases de extratos do fungo *L. crinitus* cultivado em bagaço de cana-de-açúcar com até, pelo menos 30 dias de incubação, e atividades máximas de lacases e peroxidases dependentes do manganês com 10 dias de cultivo.

A ausência da produção de enzimas ligninolíticas por *L. crinitus*, pode ser justificada pelo fato da fermentação ter sido conduzida na presença de caldo de batata, que pode ter fornecido carboidrato suficiente para o micro-organismo manter as atividades metabólicas, não havendo necessidade do uso de outras fontes de energia, como o corante Vermelho

Congo. Isso corrobora com Belote (2000), que afirma que a produção de enzimas ligninolíticas em fungos de degradação branca ocorre durante o metabolismo secundário em resposta da falta de nutrientes como o nitrogênio, carbono e enxofre.

6 CONCLUSÕES

- O fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 se mostrou promissor na adsorção/descoloração do corante Vermelho Congo em meio sólido por descolorir quase que totalmente baixas concentrações do corante e ainda apresentar halos de degradação para altas concentrações sem o uso de nenhum indutor enzimático e por utilizar um meio de cultura barato;
- O crescimento microbiano em meio sólido demonstra que o fungo tolera altas concentrações do corante, mas com o tempo de incubação, o corante mostra-se tóxico para o fungo, uma vez que a velocidade de crescimento fica próxima a zero (0 cm/dia) entre 72h e 120h de cultivo;
- O cultivo de *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 em meio líquido sem agitação se mostrou melhor quando comparado com o cultivo sob agitação;
- O cultivo sem agitação se mostrou melhor pois apresentou as mais altas porcentagens de adsorção/degradação do meio em 24 horas de cultivo.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Avaliar a adsorção/descoloração do corante Vermelho Congo pelo fungo *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 utilizando fontes de nutrientes e indutores enzimáticos para auxiliar e potencializar a adsorção/descoloração do corante. E realizar o experimento em um tempo maior de cultivo, visto que a produção de enzimas ligninolíticas responsáveis pela degradação dos poluentes se dá em um tempo maior que o realizado neste estudo.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, D. G. SILVA, M. G. C.; MIRANDA, R. C. M.; MACIEL, C. C. S.; GUSMÃO, N. B. Descoloração do corante Índigo Carmim e produção de Lacase por fungos filamentosos. **Scientia plena**, v. 8, n. 5, 2012.
- ALMEIDA, E.; ASSALIN, M. R.; ROSA, M. A.; DÚRAN, N. Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 818 – 824, 2004.
- ARAGÃO, E. F.; BEZERRA, A. S.; BEZERRA, R. G.; FILHO, I. P. L.; FERREIRA, S. S. L.; NASCIMENTO, M. M. M.; PINHEIRO, D. **O Fiar e o Tecer: 120 anos da indústria têxtil no Ceará**. Cap. 1. A evolução do processo de fiação e tecelagem, p. 45 – 61. Federação das Indústrias do Estado do Ceará - FIEC. Sindicato das Indústrias de Fiação e Tecelagem em Geral no Estado do Ceará – Sinditêxtil. Fortaleza – CE, 2002.
- ASGHER, M. ; BHATTI, H.N.; ASHRAF, M.; LEGGE, R.L. Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system, **Biodegradation** p. 771–783, 2008.
- BALLAMINUT, N. **Caracterização fisiológica do inóculo de *Lentinus crinitus* (L.) Fr. CCB274 empregado em biorremediação de solo**. 2007. 176f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo, 2007.
- BELOTE, J. G. **Utilização de basidiomicetos ligninolíticos na degradação de corantes industriais e no tratamento do efluente de uma indústria de alimentos**. 2000. 141f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimento). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2000.
- BRUSCATO, E. C. **Potencial Biotecnológico de Fungos Endofíticos na Descoloração de Corantes da Indústria Têxtil**. 2011. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2011.
- CAMPOS, E. S. **Seleção e Avaliação de *Pseudomonas* para a Descoloração de Corantes Têxteis por Cultivo Submerso**. 2010. 169f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2010.
- CLEMENTINO, M. L. M. **A evolução da indústria têxtil no contexto da afirmação do imperialismo americano**. In: XII Coloquio Internacional de Geocrítica. Bogotá, 2012.
- DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de América, SP**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2005.
- DEZOTTI, M. Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos. **Serie Escola Piloto de Engenharia Química - COPPE/UFRJ**. v.5 360p. Rio de Janeiro, 2008. ISBN 978-85-7650-173-2.

FILHO, G. M. R. **Adsorção do corante amarelo reativo BF – 4G 200% por argila esmectita**. 2012. 224 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2012.

FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DÚRAN, N.; ZAMORA, P. P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 504 – 510, 2000.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*. **Advances in Environmental Research**, v. 7, p. 239-247, 2002. ISSN 1093-0191.

GARCIA, O. L. **Estudo da competitividade da indústria brasileira**. Nota técnica setorial do complexo têxtil. Campinas, 1993.

GAYLARDE, C. C. BELLINASSO, M. L. MANFIO, G. P. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34, p. 36 – 43, janeiro/junho, 2005.

GUARATINI, C. C. L.; ZANONI, M. V. B. Revisão: Corantes Têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzymes production by fungi. **Mycologia**, New Haven, v. 67, n. 3, p. 597-607, 1975.

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

LIMA, L. **Degradação de corantes reativos via processo Fotoeletroquímico aplicado na presença de eletrodo de titânio modificado: estudo da potencialidade na remediação de efluentes têxteis**. 2002. 99f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2002.

MANCILHA, L. S. L. **Seleção de basidiomycetes coletados e isolados em área de mata Atlântica – PE, com atividade fenoloxidase e sua aplicação na descoloração de corantes sintéticos**. 2006. 130f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2006.

MELLO, V. F. B. **Otimização do tratamento de lixiviados e corantes por processos físico-químicos**. 2011. 129 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil – Geotecnia Ambiental). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2011.

MELO, G. G.; BRAZ, L. C. C.; AMADOR, V.C.; DIAS, E. C.; ALMEIDA, E. S.; SILVA, D. P. D.; BEZERRA, R. M. S.; COELHO, G. D. **Estudos preliminares sobre atividade adsorptiva do corante vermelho congo pelo fungo *lentinus crinitus***. In: I Simpósio de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos. Sumé, 2014.

MENDA, M. **Corantes e pigmentos**. [S.l]: 2011. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/quimicaviva_corantespigmentos>. Acesso em: 15 dez. 2014.

NETO, S. L. M. **Enzimas ligninolíticas produzidas por *Psilocybe castanella* CCB444 em solo contaminado com hexaclorobenzeno.** 2006. 124f. Dissertação (Biodiversidade vegetal e Meio ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo, 2006.

NIEBISCH C. H. Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract, **J. Hazard. Mater**, v. 180, 2010. ISSN 0304-3894.

NIEBISCH, C. H. **Biodegradação do corante têxtil remazol azul por *Lentinus crinitus*, *Lepista sordida* e *Hydnopolyporus fimbriatus*.** 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PEIXOTO, F. MARINHO, G. RODRIGUES, K. Corantes têxteis: uma revisão. **Holos**, Ceará, v. 5, n. 29, p. 98 – 106, 2013.

PEREIRA, A. R. B.; BUENO, F. L.; SANTOS, S. C.; LIMA, C. A. A.; DIAS, A. L. T. Biodegradação de corantes e efluentes têxteis por fungos. **Holos**, v. 10, n. 2, p. 165, 2010. ISSN: 1519-8634.

PEREIRA, A. R. B.; FREITAS, D. A. F. Uso de microorganismos para a biorremediação de ambientes Impactados. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Lavras, v. 6, n. 6, p. 975 – 1006, 2012.

PEREIRA, W. S.; FREIRE, R. S. Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 130-136, 2005.

QUEIROZ, M. T. A.; FERNANDES, C. M.; ALVIM, L. B.; COSTA, T. C.; AMORIM, C. C. **Produção mais limpa: fenton homogêneo no tratamento de efluentes têxteis.** VIII SEGeT – Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia, [S.l.], 2011.

REIS, L. G. T. **Degradação do corante vermelho congo em solução aquosa através de plasma obtido por eletrólise de alta tensão.** 2009. 114f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2009.

RODRIGUES, K.; SILVA, K. M. L.; SILVA, G. M. M.; LIMA, P. C. C.; WANDERLEY, C. R. P.; SILVA, G. M. Remoção de corante por uso de *aspergillus niger* an400 em reator em bateladas sequenciais. **Química Nova**, Fortaleza, v. 34, n. 7, p. 1119-1123, 2011.

ROSSI, T. **Corantes Naturais: Fontes, aplicações e potencial para uso da madeira.** [S.l.]: 2008. Disponível em: <<http://www.ipef.br/tecprodutos/corantes.asp>>. Acesso em: 15 dez. 2014.

SALVI, M. B. **Degradação química e biológica de 14CHexaclorobenzeno por polietilenoglicol/hidróxido de sódio e *Trametes villosa* (Sw.) Kreisel.** 2008. 165 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2008.

SALVI, M. B. **Fungos basidiomicetos em biorremediação.** 2011. Instituto de Botânica de São Paulo – Ibt. Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Curso de Capacitação de Monitores e Educadores, 2011.

SILVA, M. C. **Degradação de corantes e remediação de efluentes têxteis por extrato bruto de peroxidase de nabo.** 2011. 136f. Tese (Doutorado em Agroquímica e Agrobioquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

SILVA, R. N. O. **Caracterização molecular dos genes ospc1, ospg e ospf em diferentes sorotipos de *escherichia coli* enteroinvasora.** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2012.

SILVA, R. R. **Biorremediação de solos contaminados com organoclorados por fungos basidiomicetos em biorreatores.** 2009. 187f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo, São Paulo, 2009.

SOUZA, A. F.; ROSADO, F. R. Utilização de fungos basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.2, n.1, p. 121-139, jan./abr, 2009. ISSN 1981-9951.

TATARKO, M.; BUMPUS, J. A. Biodegradation of congo red by *pharenochaete chryso sporium*. **Wat. Res.**, v. 32, n. 5, p. 1714-1717, 1998. ISSN 0043-1354.

VASCONCELLOS NETO, J. R. T. **Diversidade e seleção de fungos basidiomicetos afiloforóides para a produção de enzimas lignocelulolíticas em área de mata atlântica do sul da Bahia.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.

VASQUES, R. S.; PELEGRINI, S. C. A.; **O produto têxtil: moda e história na década de 1960.** Universidade Estadual de Maringá, 201-?.