



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

AUGUSTO FERRAZ DA SILVA ROSA

**IMOBILIZAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS PARA O TRATAMENTO
DE EFLUENTE TÊXTIL**

Recife
2018

AUGUSTO FERRAZ DA SILVA ROSA

**IMOBILIZAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS PARA O TRATAMENTO DE
EFLUENTE TÊXTIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia Aplicada.

Orientadora: Profa. Dra. Norma Buarque de Gusmão

Coorientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Mendonça de Miranda

Recife

2018

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Rosa, Augusto Ferraz da Silva

Imobilização de fungos filamentosos para o tratamento de efluente têxtil / Augusto Ferraz da Silva Rosa- 2018.

69 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Norma Buarque de Gusmão

Coorientadora: Rita de Cássia Mendonça de Miranda

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos. Recife, 2018.

Inclui referências e apêndice

1. Fungos filamentosos 2. Biodegradação 3. Fenoloxidase I. Gusmão, Norma Buarque de (orient.) II. Miranda, Rita de Cássia Mendonça de (coorient.) III. Título

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-054

AUGUSTO FERRAZ DA SILVA ROSA

**IMOBILIZAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS PARA O TRATAMENTO DE
EFLUENTE TÊXTIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 20/02/2018.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Norma Buarque de Gusmão (Orientadora)
Departamento de Antibióticos
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Cristina Maria de Souza Motta (Examinadora Interna)
Departamento de Micologia
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Minelli Albuquerque Sousa Lins (Examinadora Externa)
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Virgínia Ferraz que me criou da mais pura e dedicada forma, me ensinando os valores corretos e humanos, sempre visando com compreensão as minhas escolhas profissionais desde o primeiro vestibular, sustentando a busca pelo meu sonho no cursinho pré-vestibular até a entrada no meu ensino superior e pós-graduação.

Aos meus irmãos Mariana Ferraz e Germano Ferraz, que foram alicerces na vida antes mesmo de nascer e puderam acompanhar a minha trajetória desde os meus primeiros passos.

Ao casal mais apaixonado que conheço meus avós, Pedro Teodorico e Fátima Ferraz, que com muita simplicidade e alegria de viver sempre me ensinaram de maneira natural os significados do amor: Amor próprio, ao próximo e à vida como um todo.

À minha orientadora Norma Gusmão e coorientadora Rita de Cássia Miranda pela paciência, orientação, amizade e oportunidade de trabalho num ambiente agradável para conclusão desta etapa em minha vida.

Aos amigos que ganhei no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial – LAMAI pelo companheirismo e auxílio durante os experimentos, bem como os momentos de descontração.

À amiga Fabíola Gomes, por me encorajar e possibilitar a minha entrada na Pós-Graduação em Biologia de Fungos.

À Moara Costa, Erik Almeida, Jackson Freire, Laís Jardim por serem meus amigos mais próximos e estarem comigo em momentos bons e ruins, minha eterna gratidão.

Aos funcionários da Universidade Federal de Pernambuco, em especial do Departamento de Antibióticos, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães.

À vida.

RESUMO

Os efluentes têxteis possuem elevadas quantidades de corantes e materiais em suspensão com impacto ambiental, seu despejo em corpos d'água ocasiona problemas às formas de vida por serem agentes muitas vezes mutagênicos e/ou carcinogênicos. O objetivo desse trabalho foi de avaliar a descoloração do efluente proveniente de lavanderia industrial têxtil de Caruaru-PE/Brasil por fungos imobilizados em suportes sintético e natural, assim como testar a toxicidade do material residual. Para o trabalho foram utilizados dez fungos filamentosos provenientes da Micoteca URM – UFPE. Os fungos foram submetidos aos ensaios de descoloração do corante e das fenoloxidasas, sendo selecionados para os testes de imobilização em espuma de poliuretano-EPA e bucha vegetal-BV (*Luffa cylindrica*) os que apresentassem percentual de descoloração acima de 80% com o corante, seriam submetidos ao teste com o efluente. Após a imobilização dos fungos aos suportes, a aderência foi visualizada em microscopia óptica e varredura. *Aspergillus niger* e *Scytinostroma duriusculum* apresentaram percentuais de descoloração do corante de 89,49 e 86,50% respectivamente e produção de manganês peroxidase de 35,72 e 106,79 U/L, com baixa produção da lacase. Os dois fungos aderiram a EPA e o somente *Aspergillus niger* a BV. O *A. niger* imobilizado descoloriu 54, 47% no EPA e 30,28% no BV. Enquanto que, *Scytinostroma duriusculum* imobilizado descoloriu 89,88% do corante e 95,12% do efluente. O fungo *Scytinostroma duriusculum* imobilizado pode ser utilizado nos processos de biorremediação de efluentes têxteis.

Palavras-chave: Biodegradação. Biotratamento. Fenoloxidasas.

ABSTRACT

The textile effluents have high amounts of dyes and materials in suspension with environmental impact, their dumping into bodies of water occasional problems in the life forms by mutations and carcinogens. The objective of this work was evaluated by a discoloration of the effluent from the industrial laundry of Caruaru-PE / Brazil by fungi immobilized in synthetic and natural supports, as well as to test the toxicity of the residual material. For the work we used ten filamentous fungi from Micoteca URM - UFPE. The fungi were submitted to the discoloration tests of the curator and the phenoloxidases production, and the ones that presented percentage of discoloration above 80% with the dye were selected for the tests of immobilization in polyurethane foam-EPA and vegetal bush-BV (*Luffa cylindrica*) would be submitted to the effluent test. After an immobilization of the fungi to the supports, an application for optical microscopy and scanning. *Aspergillus niger* and *Scytinostroma duriusculum* presented dye discoloration percentages of 89,49 and 86,50% respectively and manganese peroxidase production of 35.72 and 106.79 U / L, with low laccase production. The two fungi joined the EPA and the soil *Aspergillus niger* to BV. The immobilized *A. niger* discolored 54,47% without EPA and 30,28% non-BV. Meanwhile, immobilized *Scytinostroma duriusculum* discolored 89,88% of the dye and 95,12% of the effluent. The immobilized *Scytinostroma duriusculum* fungus can be used in the processes of bioremediation of textile effluents.

Keywords: Biodegradation. Biotreatment. Phenoloxidases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Setores da Indústria Têxtil.....	15
Figura 2 – Mapa geográfico do estado de Pernambuco em destaque para a Mesorregião Agreste.....	17
Figura 3 – Fórmula estrutural química do corante Índigo Carmim.....	21
Figura 4 – Estrutura 3D de Lacase de <i>Trametes versicolor</i>	30
Figura 5 – Estrutura 3D de Lignina de <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	32
Figura 6 – Estrutura 3D de Manganês Peroxidase de <i>Phanerochaete Chrysosporium</i>	33
Figura 7 – Atividade enzimática específica do fungo F8 (<i>Scytinostroma duriusculum</i>).....	44
Figura 8 – Micrografias obtidas a partir de microscopia eletrônica de varredura.....	46
Figura 9 – Descoloração de corante índigo carmim e efluente por fungos imobilizados.....	49
Figura 10 – Enraizamento de <i>Cucumis sativus</i> por ensaio de fitotoxicidade de corante índigo carmim e efluente têxtil antes e depois de tratamento com Fungo F8 imobilizado em EPO.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das principais categorias de corantes com base em sua estrutura química seguida de suas numerações no Color Index.....	20
Tabela 2 – Fungos filamentosos selecionados para ensaios de descoloração por células livres.....	35
Tabela 3 – Características físico-químicas do efluente industrial têxtil bruto.....	40
Tabela 4 – Enzimas ligninolíticas secretadas em ensaio primário de descoloração de corante índigo carmim por células livres livres (50 mg/L).....	43
Tabela 5 – Fungos imobilizados em suportes sintético e biológico.....	44
Tabela 6 – Produção de enzimas ligninolíticas em ensaio de descoloração de corante índigo carmim (50 mg/L) por fungos imobilizados em suportes sintético e biológico..	48
Tabela 7 – Produção de enzimas ligninolíticas em ensaio de descoloração de efluente industrial têxtil por fungo F8 (<i>Scytinostroma duriusculum</i>) imobilizado em EPO.....	48
Tabela 8 – Ensaio de fitotoxicidade de corante índigo carmim e efluente têxtil antes e depois de tratamento com Fungo F8 imobilizado em EPO.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	2,2'- <i>azino</i> -bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
BOD	Estufa incubadora para demanda bioquímica de oxigênio
CPRH	Agência Estadual do Meio Ambiente
cm	Centímetro
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EPO	Espuma de Poliuretano
Hab	Habitante
g	Grama
IEM	Inteligência de Mercado
Kg	Quilograma
L	Litro
LAMAI	Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial
LiP	Lignina Peroxidase
µL	Microlitro
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligrama
mM	Milimolar
MnP	Manganês Peroxidase
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
SST	Sólidos Suspensos Totais
U	Unidade enzimática

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.2 OBJETIVOS	14
1.2.1 Objetivo Geral	14
1.2.2 Objetivos Específicos	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 INDÚSTRIAS TÊXTEIS	15
2.2 Polo Industrial Têxtil do Agreste Pernambucano	16
2.3 Corantes Têxteis.....	18
2.3.1 Índigo Carmim.....	21
2.3.2 Aspectos Ecológicos e Toxicológicos Associados aos Corantes	21
2.4 TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS	23
2.4.1 Tratamento Físico-Químico	24
2.4.2 Tratamento Biológico	26
2.5 FUNGOS EM BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES E EFLUENTES TÊXTEIS	27
2.6 IMOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS.....	28
2.7 ENZIMAS LIGNOLÍTICAS.....	29
2.7.1 Lacases.....	29
2.7.2 Lignina Peroxidase.....	31
2.7.3 Manganês Peroxidase	32
3 MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 COLETA DE EFLUENTE TÊXTIL	34
3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE	34
3.3 FUNGOS FILAMENTOSOS.....	34

3.4 DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES	35
3.5 DOSAGEM ENZIMÁTICA E DE PROTEÍNAS TOTAIS.....	36
3.6 IMOBILIZAÇÃO DE MICÉLIO EM SUPORTES SINTÉTICO E BIOLÓGICO..	37
3.6.1 Inóculo em Espuma de Poliuretano (EPO) e Bucha Vegetal (<i>Luffa cylindrica</i>)	37
3.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	37
3.8 DESCOLORAÇÃO DE CORANTE ÍNDIGO CARMIM E DO EFLUENTE POR FUNGOS IMOBILIZADOS.....	38
3.9 FITOTOXICIDADE DE SUBPRODUTOS FORMADOS.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE TÊXTIL	39
4.2 DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES	41
4.3 FITOTOXICIDADE DE SUBPRODUTOS FORMADOS.....	49
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICE A – RESUMO EXPANDIDO SUBMETIDO AO XXI SINAFERM/XXI SHEB.....	65

1 INTRODUÇÃO

O setor industrial teve sua maior expansão no século XX, tais como indústrias de bebidas, automobilística, siderúrgicas, farmacêuticas, petroquímicas e têxteis, entretanto esse desenvolvimento também tem causado maiores desastres ecológico ao ambiente. O aumento populacional afeta diretamente o despejo de diversos poluentes químicos ao meio ambiente já que para atender um maior número de pessoas é necessário aumentar a produção, gerando assim maior quantidade de efluentes (DADI et al., 2017).

Esses efluentes contêm subprodutos que são gerados a partir do processamento de várias matérias primas, que utilizam grandes quantidades de água e causam impactos de diferentes naturezas quando lançados ao ambiente, pois são considerados nocivos à fauna, flora e microbiota. Quanto à indústria têxtil essa problemática é ainda maior devido à expansão desse setor no mundo e a variabilidade de corantes e pigmentos sintéticos utilizados, sendo muitos destes carcinogênicos e mutagênicos e de difícil degradação (ITO et al., 2016).

Nesse contexto, na mesorregião do Agreste pernambucano, principalmente, nos municípios de Santa Cruz do Capibaribe, Toritama, Riacho das Almas e Caruaru, onde possuem grande importância para a economia estadual, a criação do polo de confecções foi responsável por alta empregabilidade de moradores dessa área iniciada a partir da década de 60 (LUCENA, 2004). Entretanto, os efluentes produzidos por lavanderias do polo industrial têxtil dessa região acarretam o impacto pelo despejo nos canais das cidades e consequente poluição dos rios. Segundo o relatório de atividades da Agência Estadual do Meio Ambiente a qualidade da água dos rios Capibaribe e Ipojuca está comprometida devido a poluição principalmente pela introdução de corantes de indústrias têxteis (CPRH, 2013).

Contudo, a facilidade em se analisar as características físico-químicas dos efluentes lançados no meio ambiente possibilitou maior monitoramento quanto ao impacto destes, assim como a fiscalização da vazão de resíduos tóxicos em corpos d'água que é imprescindível no ponto de vista legislativo, contribuindo para um menor impacto (DHANJAL et al., 2013). O método de tratamento de efluentes industriais têxteis pode mudar conforme vários fatores, mas é levado em consideração, principalmente, a natureza química do corante presente. A partir disso podem ser

escolhidos métodos químicos, físicos e biológicos ou a união destes para o tratamento mais eficaz (GUPTA et al., 2015).

Devido à falta de consolidação de tratamento de efluentes têxteis das lavanderias do agreste pernambucano, o acúmulo de efluentes tem se tornado uma realidade para essa região de Pernambuco, em que o despejo irresponsável de águas residuais não tratadas está acometendo a vida em torno dos principais rios que cortam os municípios do Polo industrial têxtil, numa região com falta de água. Este trabalho buscou realizar imobilizações de fungos com atividade ligninolíticas em suportes sintético e natural para descoloração de corante Índigo Carmim com objetivo de dar alicerce a um tratamento biológico eficiente.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Imobilizar fungos filamentosos em suportes sintético e biológico para o tratamento de efluente têxtil coletado em lavanderia industrial do município de Caruaru-PE.

1.2.2 Objetivos Específicos

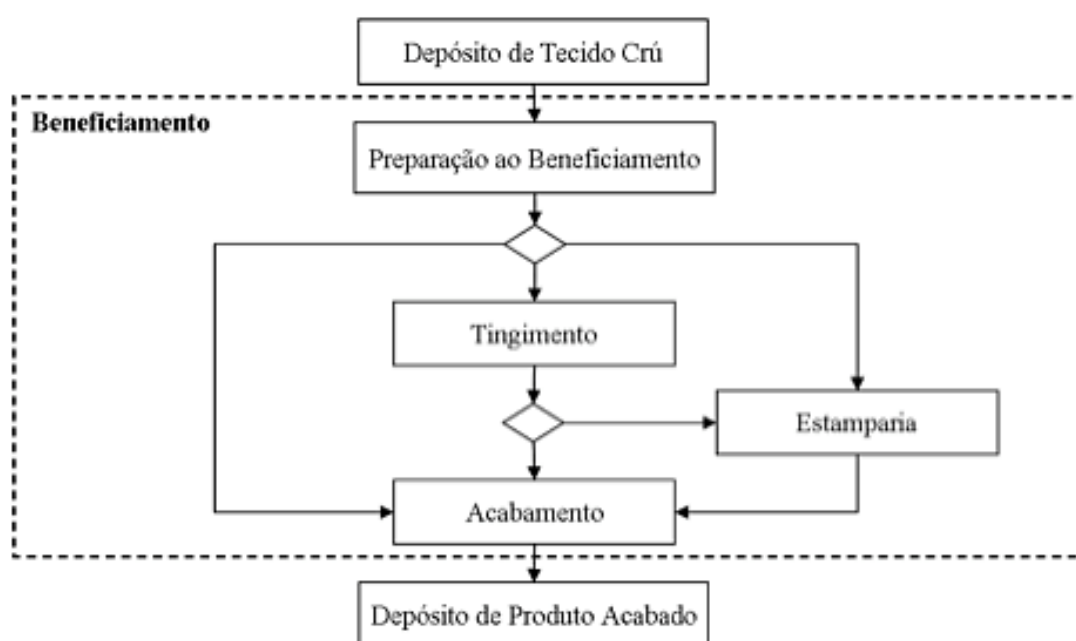
- a) Caracterizar físico-quimicamente o efluente têxtil;
- b) Selecionar espécies de fungos com capacidade em descolorir corante e efluente têxtil;
- c) Testar aderência dos micro-organismos aos suportes;
- d) Realizar ensaios de descoloração do efluente têxtil com os organismos imobilizados em suportes sintético e biológicos;
- e) Caracterizar os subprodutos resultantes da degradação do efluente têxtil;
- f) Testar toxicidade do produto residual;
- g) Validar estatisticamente os resultados obtidos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INDÚSTRIAS TÊXTEIS

A indústria têxtil é considerada um dos setores de maior importância em escala global, sendo responsável por alta produção e empregabilidade. As indústrias deste segmento possuem setores específicos que em conjunto transformam grandes quantidades de tecidos em peças têxteis e de vestuário para varejo, exportação e representação comercial. Os setores da indústria têxtil podem ser descritos de forma linear destacando fiação, tecelagem, malharia, acabamento e confecção. Uma das principais características a ser notada em torno do segmento têxtil é a geração e dispersão de rejeitos formados contendo grandes quantidades de água, químicos e corantes, fundamentais na criação dos produtos (CHATHA et al., 2017).

Figura 1 – Setores da Indústria Têxtil



Fonte: FALANI (2014)

O Brasil encontra-se entre as nações que se destacam pela produção de produtos têxteis, estando entre os 10 maiores produtores, mesmo em desvantagem quando se comparado a países do oriente médio tais como Índia, Paquistão e China. A China se tornou referência

como modelo de competência na indústria têxtil devido a fatores internos, por ser uma das primeiras indústrias a se estabelecer e criar empresas privadas deste setor visando estratégias de desenvolvimento (ZHANG et al., 2010; LOKHANDE et al., 2011). De acordo com o Relatório Setorial da Indústria têxtil brasileira (IEMI, 2013), o consumo mundial de fibras têxteis naturais e químicas (sintéticas) teve crescimento de aproximadamente 3,5% ao ano entre 1990 e 2011, houve passagem de 40,0 para 82,0 milhões de toneladas consumidas. Notou-se também que o uso das fibras químicas sobressaiu sobre as fibras naturais nesse mesmo intervalo de tempo, passando de 48% para 66%. É importante levar em consideração o aumento populacional mundial com taxa média anual de 1,3%.

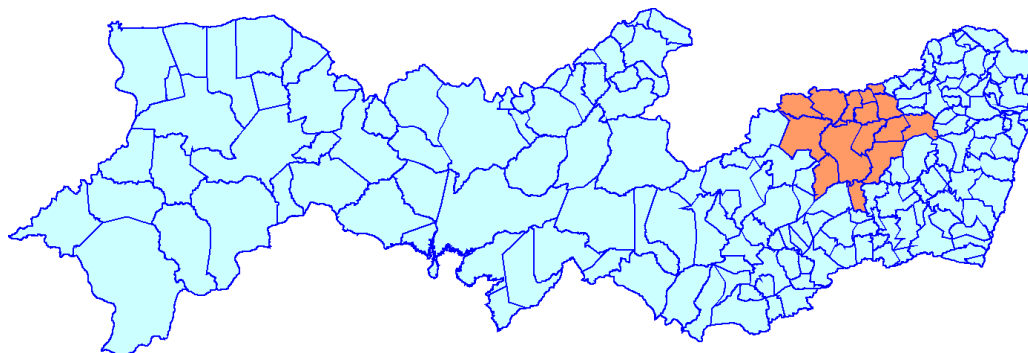
As regiões de maior importância do segmento têxtil no Brasil, compreendem as cidades da Região Metropolitana de São Paulo, Campinas-SP, Vale do Itajaí-SC, os fatores são baseados em número de estabelecimentos micro/pequeno e médio/grande, assim como a empregabilidade. Na região Nordeste, o principal centro têxtil está situado na Região Metropolitana de Fortaleza, tendo destaque ainda para as mesorregiões da Mata Paraibana (PB), Leste Potiguar (RN), Agreste Pernambucano (PE) e Região Metropolitana de Salvador (BA). (MTE/RAIS, 2012)

O segmento têxtil e de confecção do Brasil, destaca-se como moderna e competitiva ao estar entre grandes produtores mundiais. Porém, sua produção se tornou mais evidente para o mercado interno, tornando a participação do Brasil no comércio têxtil internacional ainda muito pequena. Segundo Rovere (2006) a quantidade de empresas em cada um dos elos da cadeia produtiva têxtil aumenta, todavia, o porte médio das empresas diminui à medida que se caminha na direção dos bens acabados.

2.2 Polo Industrial Têxtil do Agreste Pernambucano

Na mesorregião Agreste o Polo Têxtil deu início com desenvolvimento nas cidades de Santa Cruz do Capibaribe, Caruaru e Toritama. Mas as empresas do setor já se espalharam para outros municípios próximos como Surubim, Vertentes, Brejo da Madre de Deus, Agrestina e Taquaritinga do Norte demonstrados na Figura 2. Os produtos são distribuídos para todas as regiões do estado de Pernambuco e as demais regiões do Brasil.

Figura 2 – Mapa geográfico do estado de Pernambuco em destaque para a Mesorregião Agreste



Fonte: PEDesenvolvimento

Dentre as cidades que pertencem ao Polo, Toritama é considerada uma das cidades responsáveis pela produção de peças de vestuário no Brasil (ALMEIDA, 2016), a relação com a quantidade de vestuário produzido está intimamente ligada com os impactos ambientais encontrados nessa região (NOACK, 2011)

O problema ambiental na mesorregião Agreste de Pernambuco é caracterizado pela grande quantidade de água utilizada para lavagem. São utilizados aproximadamente 40 litros de água por cada peça lavada, gerando grande quantidade de efluente têxtil, consequentemente um maior estado crítico ambiental desta área (PAIVA, 2011). A falta de sistema de tratamento apropriado e a não reutilização da água somam aos problemas técnicos das próprias empresas.

Os efluentes das lavanderias das principais cidades do Polo têxtil do Agreste são dispensados nos diferentes corpos hídricos responsáveis pelo abastecimento de água dos municípios da região como os rios Ipojuca e Capibaribe, comprometendo a qualidade da água para os seres vivos e uso em suas variadas aplicações (VIANA et al., 2018). É de importante conhecimento o monitoramento das águas utilizadas em processos industriais têxteis, as características da água bruta e dos efluentes gerados pelas indústrias têxteis locais para que possam ser providenciadas medidas de reuso das águas e remediação (LU, 2010).

O reuso da água é feito de forma indireta nessa região, pelo fato de ter o rio Capibaribe como única forma de corpo d'água receptor, a posterior captação de água para insumo no processamento de material têxtil justifica reutilização de água

anteriormente contaminada (XAVIER, 2012).

2.3 Corantes Têxteis

Os corantes têxteis são utilizados na etapa de coloração dos tecidos, responsáveis pelo tingimento. Os corantes são caracterizados por serem pequenas moléculas e são compostos por dois componentes importantes: O grupo cromóforo, que será responsável por atribuir cor ao produto têxtil e um grupo funcional, que tem como função ligar-se à fibra do tecido fazendo com que no processo de lavagem o produto permaneça com a cor escolhida (WARING, 2013). Antes da descoberta de corantes sintéticos, eram utilizados corantes naturais obtidos a partir de plantas, animais e minerais para tingimento de roupas e objetos variados. Ao desenvolverem corantes de origem sintética fez-se necessário classificá-los com base em sua fonte, estrutura química, solubilidade e aplicação devido ao surgimento de uma gama de corantes têxteis artificiais (YAGUB et al., 2014).

Segundo GUARATINI E ZANONI (2000) a classificação dos corantes pode ser dada a partir da sua natureza química ou ao modo de aplicação ao tipo de fibra, sendo esta última a maneira mais prática de se discernir podemos classificar os corantes em:

- Corantes reativos: Capacidade de formar ligação covalente com grupos hidroxila das fibras de celulose, com grupos amino, hidroxila e tióis das fibras proteicas e com grupos amino de poliamidas. A reação química deste corante é caracterizada pela substituição do grupo nucleofílico pelo grupo hidroxila da celulose. Possuem alta solubilidade em água e a formam ligação covalente entre o corante e a fibra.
- Corantes diretos: São formados principalmente por corantes contendo mais de um grupo de azo ou pré-transformados em complexos metálicos. Alta solubilidade em água, sendo capazes de interagir com as fibras celulósicas por interações de Van der Waals.
- Corantes azoicos: Uso de sistema de produção diretamente na fibra. Realiza a reação de acoplamento na fibra através da adição de um sal de diazônio, produzindo um corante insolúvel em água e de alta resistência contra umidade e luz.
- Corantes ácidos: São solúveis em água, com boa aderência em fibras proteicas e poliamida sintética. O corante previamente neutralizado faz ligação com a fibra por meio de trocas iônicas. Ampla coloração e grau de fixação.

- Corantes à cuba: São muito utilizados em fibras de algodão. Sua aplicação ocorre de forma praticamente insolúvel em água, porém no processo de coloração são transformados em solução alcalina, reduzindo em composto solúvel.
- Corantes de enxofre: Atribuição de tonalidades fortes como preta, verde-oliva, azul-marinho e marrom em fibras celulósicas. Apresentam compostos macromoleculares com pontes de polissulfetos, altamente insolúveis em água. Geralmente compostos de resíduos tóxicos
- Corantes dispersivos: São utilizados em tintura de fibras sintéticas. Formados por corantes insolúveis em água e aplicados por meio de suspensão. Sofrem hidrólise na coloração das fibras, ocorrendo lentamente uma precipitação da molécula original.
- Corantes pré-metabolizados: Possuem um grupo hidroxila ou carboxila na posição Ortho em relação ao cromóforo azo formando íons metálicos. Conferem desvantagem ecológica, uma vez que estes corantes estão associados ao alto conteúdo de metal no seu efluente.
- Corantes branqueadores: Corantes brancos que permitem diminuir a aparência amarelada das fibras têxteis bruta.

Diferentes tipos de têxteis são tingidos usando diferentes tipos de corantes. Os corantes podem ser classificados em diferentes tipos dependendo de composições e suas propriedades. Portanto, o uso de corantes passa por variações de indústria para a indústria, dependendo dos tecidos que as fabricam. Tecidos a base de celulose são tingidos principalmente por corantes reativos, mas também são utilizados outros tipos de corantes como corantes à cuba, sulfurosos e indigoides (GHALY, 2014).

As propriedades químicas dos corantes também podem ser utilizadas como critério de classificação em diferentes tipos como: Azos, Antraquinonas, Indigóides entre outros. Destes, os corantes azo formam o maior grupo de corantes sintéticos (60-70%) e possuem versatilidade onde são utilizados nas indústrias para aplicações em têxteis, papéis, couros, petroquímica, aditivos, produtos alimentares, cosméticos, entre outros. Os subprodutos resultantes em efluentes contêm tanto corantes quanto íons metálicos. Os corantes azoicos são caracterizados por ligações duplas de azoto a azoto ($-N = N-$) que são usualmente ligadas a duas porções das quais pelo menos um, mas normalmente ambos são grupos aromáticos.

Alguns exemplos de corantes azoicos são laranja de metila, laranja ácido 7, laranja ácido 20, laranja II, vermelho de metila, vermelho reativo 2, laranja reativo 16,

preto reativo 5, vermelho Congo, vermelho solvente 1, azul brilhante de remazol, entre outros. Devido à grande toxicidade e persistência dos corantes azo no meio ambiente, a sua remoção das águas residuais tornou-se uma questão importante de interesse social e ecológico durante os últimos anos (RAUL et al., 2011; ZHANG et al., 2016). A tabela 1 descreve as principais categorias de corantes levando em conta sua estrutura química.

Tabela 1 – Descrição das principais categorias de corantes com base em sua estrutura química seguida de suas numerações no Color Index.

Classe química	Nº de constituição	Classe química	Nº de constituição
Nitroso	10000 – 10299	Indamina	49400 – 49699
Nitro	10300 – 10999	Indofenol	49700 – 49999
Monoazo	11000 – 19999	Azina	50000 – 50999
Diazo	20000 – 29999	Oxazina	51000 – 51999
Triazo	30000 – 34999	Triazina	52000 – 52999
Pliazo	35000 - 36999	Sulfuroso	53000 – 54999
Azoico	37000 – 39999	Lactona	55000 – 55999
Estilbenno	40000 – 40799	Aminocetona	56000 – 56999
Carotenoide	40800 – 40999	Hidroxicetona	57000 – 57999
Difenilmetano	41000 – 41999	Antraquinona	58000 – 72999
Triarilmetano	42000 – 44999	Índigo	73000 – 73999
Xantenos	45000 – 45999	Ftalocianina	74000 – 74999
Acridina	46000 – 46999	Natural	75000 – 75999
Quinolina	47000 – 47999	Base de Oxidação	76000 – 76999
Metina	48000 – 48999	Pigmento inorgânico	77000 - 77999
Triazol	49000 – 49399		

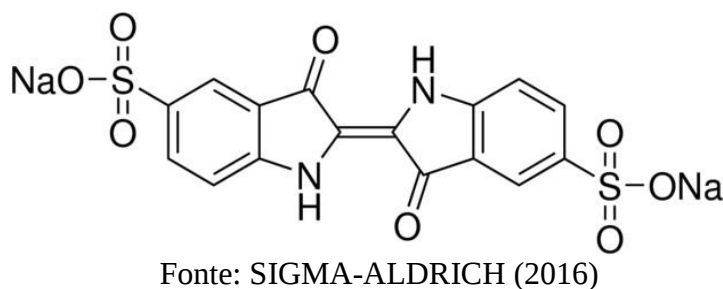
Fonte: Gurses (2016)

Os corantes sintéticos são utilizados amplamente no processamento de tecidos da indústria têxtil e o seu despejo por meio de efluente acarreta em verdadeiro desequilíbrio ambiental devido à alta concentração de diferentes corantes e a toxicidade de cada tipo (BEDOUI et al., 2015).

2.3.1 Índigo Carmim

O corante índigo carmim, conhecido também como Acid blue 74 ou sal sódico do ácido 5,5'- indigodisulfônico, é um corante historicamente utilizado na indústria alimentícia, fabricação de cápsulas como um pigmento solúvel, como corante de contraste para a mucosa colorretal para melhor visualização de lesões detectadas pela colonoscopia, e é também usado como agente complexante para a análise de cobre por espectrofotometria. No entanto, seu principal emprego ocorre nas indústrias têxteis, principalmente para coloração de vestes jeans (LOPES, 2008; CHANDEL et al., 2015).

Figura 3 – Fórmula estrutural química do corante Índigo Carmim.



O corante Índigo Carmim apresenta a coloração azul e é considerado como altamente tóxico para a classe de corantes indigoides. O contato com ele pode causar irritações na pele e nos olhos, assim como pode causar danos permanentes à córnea e conjuntiva. Além de provocar a longo prazo por ingestão toxicidade reprodutiva, de desenvolvimento e neuronal (NACIRI et al., 2016).

2.3.2 Aspectos Ecológicos e Toxicológicos Associados aos Corantes

Atualmente os problemas ambientais e ecológicos envolvendo a indústria de corante ou de fábricas têxteis vêm sendo os mesmos desde a introdução desse tipo de indústria na sociedade. Os efluentes produzidos, não tratados convenientemente, são lançados em águas naturais, capazes de atingir reservatórios e estações de tratamento de água e são a preocupação ecológica de maior preocupação (GUARATINI E ZANONI, 2000).

Deste modo, devido a existência de corantes altamente insolúveis que requerem uma baixa solubilidade no processo de aplicação e de corantes com alta solubilidade, é de grande importância a verificação da qualidade das águas residuais em que os efluentes têxteis contendo produtos nocivos são dispensados.

O trabalho de Sponza (2006) investigou a toxicidade aguda das águas residuais da indústria de produção de corantes químicos por testes de toxicidade tradicionais e utilizando diferentes organismos incluindo bactérias, algas, peixes e protozoários para representar quatro níveis trópicos. O teste de toxicidade demonstrou toxicidades existentes conforme níveis de enriquecimento de compostos nocivos demonstrando que os testes de toxicidade devem ser impostos aos regulamentos de descarga de efluentes. A avaliação da toxicidade ou persistência de águas residuais é essencial para o seu impacto perigoso e na avaliação de risco.

A inativação dos rejeitos tóxicos provenientes dos efluentes têxteis normalmente é realizada através de reações de hidrólise de seus grupos funcionais, tornando o corante quimicamente inerte. Alguns estudos demonstram que estes compostos tóxicos na forma não hidrolisada apresentam alta estabilidade hidrolítica em um meio neutro, permitindo um tempo de vida longo em ambientes aquáticos. Weber (1993) em seu trabalho com corante azul reativo 19 demonstrou por meio de cálculo de estimativa que o tempo de meia vida do corante azul reativo em pH 7 em águas naturais a 25°C é de 46 anos. Os problemas da permanência de corantes têxteis de diferentes tipos em corpos d'água têm causando expressiva preocupação quanto aos aspectos ecológicos visto que os corantes possuem suas próprias singularidades.

Segundo Leme et al. (2015) os riscos toxicológicos relacionados à saúde humana estão intrinsicamente ligados ao modo e tempo de exposição, principalmente com relação a ingestão oral e sensibilidade da pele. Dentre os resultados obtidos através de modelos de exposição oral usando o teste de Ames e ensaios com células hepáticas humanas (TSUBOY, 2007; AKHTAR, 2016; AKHTAR, 2018)

Há evidências de que corantes azo solúveis em água, se oralmente administrados são metabolizados pela microbiota intestinal e excretados mais rapidamente que os compostos menos solúveis, já os compostos insolúveis em água poderiam ser biodegradados no fígado formando conjugados solúveis em água que ao serem transportados para o intestino seriam reduzidas por bactérias do trato intestinal

(NGUYEN, 2016). Entretanto há consideração de exposição crônica de corantes carcinogênicos e mutagênicos.

De todo modo no contexto de poluição de águas por efluentes têxteis são considerados fatores de exposição como recreação, atividades esportivas, higiene pessoal e consumo de água para beber. Contudo grande parte das pesquisas sobre a saúde englobam as reações alérgicas na pele. Mistura de corantes são usados para a coloração de fibras sintéticas, sendo relatado causas frequentes de processos alérgicos, como dermatites de contato, um problema recorrente (RYBERG, 2009). Os micro-organismos do corpo humano agem numa maior proteção contra essas substancias. Entretanto, há que ser considerado o tempo de exposição de corantes e tornar-se uma doença crônica (SOWADA, 2014; FENG, 2012).

Regulamentações rígidas têm sido aplicadas em muitos países referente ao descarte de efluentes contendo corantes, onde a legislação governamental está cada vez mais rigorosa, em destaque para os países em desenvolvimento e desenvolvidos que abrigam a maior parcela de indústrias têxteis para fim de estabilização e remoção dos corantes (ANJANEYULU, 2005; IMMICH, 2009).

2.4 TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS

Segundo a Resolução nº 430 de maio/2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), os efluentes de qualquer fonte poluidora deverão ser lançados diretamente no corpo receptor se obedecerem às condições e padrões previstos por lei, como por exemplo, pH do efluente (5-9), temperatura acima de 3°C e abaixo de 40°C, ausência de material flutuante e remoção de no mínimo 60% da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

O tratamento de águas residuais do processamento de produtos têxteis é marcado pela necessidade de se desenvolver métodos na forma de pré-tratamento, pós-tratamento ou tratamento principal, os quais têm sido investigados por vários pesquisadores em todo o mundo. O efluente produzido a partir de uma fábrica têxtil contém um ou mais corantes misturados e possui vários constituintes orgânicos e inorgânicos como agentes de colagem, produtos químicos, corantes, pigmentos, surfactantes, óleos e outros aditivos que são adicionados nas diversas etapas do processo da técnica de tingimento utilizada. Devido à presença desses compostos os efluentes são caracterizados por terem pH

elevado, sólidos em suspensão, demanda química de oxigênio, cor e alcalinidade. Desta forma, o efluente formado tem como princípio a necessidade de tratamentos físicos, químicos e biológicos devido à sua cor e presença de compostos recalcitrantes (VERMA, 2012; YADAV, 2013).

Em geral os processos de tratamentos que são adotados pelas indústrias têxteis têm como operação as técnicas de sistemas físico-químicos, seguidos do tratamento biológico via lodo ativado, apesar de apresentem cerca de 80% de eficiência na remoção da cor. Em contrapartida, o problema relacionado com o acúmulo de lodo é bastante crítico, uma vez que o teor de corantes anteriormente adsorvido é bastante elevado, o que impede qualquer possibilidade de reaproveitamento (ROBINSON, 2001; KUNZ, 2002).

2.4.1 Tratamento Físico-Químico

Dentre os tratamentos de efluente têxtil existentes, a coagulação-floculação é o tipo de tratamento físico-químico mais utilizado sendo empregadas em estações de tratamento de águas residuais têxteis com intuito de descolorir efluentes e auxiliar na redução da carga total de poluentes. Essa técnica de descoloração tem alta eficiência na descoloração do efluente removendo moléculas do corante, entretanto, se torna bastante comum a produção de compostos aromáticos caracteristicamente nocivos e tóxicos sendo necessária a implementação de tratamentos subsequentes. Há vasto conhecimento sobre coagulantes inorgânicos como Alum, Cal, FeCl_3 , FeSO_3 , MgCl_2 e orgânicos como polieletrólitos (PAPIC, 2004; BIDHENDI, 2007)

O trabalho de Sabur (2012) demonstrou eficácia no tratamento de efluentes têxteis com base em coagulação química e precipitação utilizando coagulantes como Cloreto de Polialumínio (PAC) e SAFI individualmente ou em misturas onde foram capazes de promover a remoção de poluentes da água do lago em determinada faixa de pH. Os autores também indicaram o lodo obtido a partir deste procedimento como componente de fertilizante orgânico de liberação lenta, uma vez que tem capacidade de condicionamento do solo, ressaltando cuidado no uso extensivo de lodo em adubos no solo por ser motivo de preocupação para o risco de contaminação por metais pesados.

O método de floculação também pode ser realizado de maneira que a se utilize polímeros amplamente difundidos na natureza, como a quitosana, subproduto

desacetilado da quitina. Devido à facilidade em ser manipulado e ser solúvel em soluções ácidas, torna vasta sua aplicabilidade. A quitosana é um polímero catiônico linear biodegradável, não tóxico, de elevado peso molecular que ao ser aplicada em processos de coagulação na remediação de efluentes têxteis, produz floculação e sedimentação de resíduos eficientes (HASSAN, 2009).

A combinação de tratamentos químicos com tratamentos de natureza física é uma maneira de se complementar as forças de cada um e superar as limitações de cada técnica melhorando o desempenho geral para o tratamento de águas residuais de corantes. A nanofiltração é capaz de remover por completo a cor intensa deixada em soluções de corantes tratados com coagulação e floculação. A eficácia do tratamento químico é melhorada pelo tratamento físico de nanofiltração e subsequentemente resulta em menos lama composta por metais pesados. (AOUNI et al., 2012; LIANG et al., 2014; ONG et al., 2014).

A oxidação química é o processo de tratamento químico que utiliza agentes oxidantes fortes como o peróxido de hidrogênio, cloro e outras substâncias para forçar a degradação de produtos orgânicos da água residual. A oxidação química é o método mais utilizado para realizar a descoloração por produtos químicos por se tratar de uma técnica simples onde o principal agente oxidante é peróxido de hidrogênio (ARAVIND, 2016).

Além da oxidação química simples, o processo de Fenton é uma das mais avançadas técnicas de oxidação. O seu mecanismo de oxidação é baseado na produção de radicais hidroxila (ponto OH radical) como resultado da reação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com íons ferrosos (Fe^{2+}) sob condições ácidas. O ponto OH radical é conhecido como o segundo agente oxidante mais poderoso e sua capacidade de oxidação é ligeiramente menor que o flúor. O ponto radiométrico, que é um agente oxidante não seletivo, pode oxidar compostos orgânicos presentes no efluente (SAHINKAYA et al., 2013).

A utilização de membranas de filtração também pode ser incrementada com diferentes tratamentos físicos como osmose reversa. Esse tipo de procedimento tem como objetivo principal o tratamento de águas residuais altamente poluídas que ao serem tratadas por membranas podem produzir água para reuso de processo na lavagem de corantes, reaproveitando-a (KURT et al., 2012).

Outro método físico que ganhou notoriedade foi o processo de adsorção que é

definido pela interação de interfaces, onde ocorre a adesão de um adsorbato na superfície ou poros de um adsorvente. A capacidade de remoção do poluente está relacionada com as características do material adsorvente, como área superficial disponível, assim como, o tamanho da molécula ou íon adsorvido e outras peculiaridades morfológicas e estruturais do material. O adsorvente mais conhecido é carvão vegetal, onde é bastante empregado em tratamentos de efluentes têxteis (PATEL et al., 2010; BAZRAFSHAN et al., 2016).

2.4.2 Tratamento Biológico

Os métodos físicos e químicos são caracterizados por resultarem em degradação incompleta de corantes presentes em efluentes têxteis. O tratamento biológico engloba a participação de bactérias, fungos, plantas e algas na remoção da cor de corantes, sendo utilizado principalmente como método complementar aos tratamentos químicos e têm se mostrado eficiente. Geralmente, a degradação de poluentes é obtida através da escolha de uma espécie ou por consórcios de organismos, pois a aplicação efetiva de campo de uma única espécie tem capacidade limitada para apresentar o tratamento máximo realizado visto que há repressão da competição em populações nativas do poluente (CHEN et al., 2006; SANDHYA et al., 2008).

Os métodos biológicos de tratamento de efluentes são classificados usualmente em aeróbios e anaeróbios. Os micro-organismos como bactérias e fungos fazem parte dos principais organismos para tratamento biológico de efluentes. O tratamento aeróbio refere-se à degradação dos compostos existentes nos efluentes onde utilizam a molécula de oxigênio livre comoceptor final de hidrogênio. O tratamento anaeróbio utiliza a molécula de oxigênio ligado aos compostos químicos como receptor final de hidrogênio (BARRETO, 2011). Deste modo, para populações microbianas que fazem parte do sistema de tratamento devem ser capazes de trabalhar sob condições ideais de aerobiose ou anaerobiose para realizar a mineralização completa da molécula de corante.

A biorremediação de corantes azo por micro-organismos ocorre em um processo envolvendo duas etapas: A primeira etapa a redução anaeróbica da ligação azo formando duas aminas aromáticas, e a segunda etapa envolve a digestão aeróbica das aminas aromáticas por uma população bacteriana mista levando a sua mineralização completa. Normalmente as técnicas convencionais de tratamento de efluente em aerobiose não

podem remover eficientemente os corantes azo dispersos sendo necessárias técnicas aditivas (SEN et al., 2003).

A utilização biotecnológica de organismos vivos tais como os fungos para remover ou reduzir poluentes no ambiente é uma alternativa amigável, eficaz e adequada do ponto de vista ambiental, quando comparada aos processos químicos e físicos utilizados na recuperação de áreas contaminadas.

2.5 FUNGOS EM BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES E EFLUENTES TÊXTEIS

Os fungos desempenham papéis importantes como atuantes nos ciclos biogeoquímicos, na degradação, utilização e transformação de substratos orgânicos e inorgânicos. O metabolismo dos fungos é utilizado pelas aplicações em biotecnologia ambiental, degradação de poluentes orgânicos, bem como efeitos adversos quando esses mecanismos estão envolvidos enfatizando sua relevância biotecnológica (GADD, 2004).

A maior parte das transformações que caracterizam as ciclagens de matéria orgânica no ambiente são realizadas pelos fungos, que possuem rápida capacidade de adaptação do seu metabolismo a diferentes fontes de carbono e energia, fazendo com que sobrevivam a diferentes condições. Esta condição está diretamente ligada à produção de uma vasta quantidade de enzimas, não específicas, capazes de degradar polímeros de origem vegetal, assim como uma grande variedade de outras moléculas orgânicas (SAROJ, 2015).

Fungos basidiomicetos ou fungos da podridão branca são exemplos de micro-organismos com alta capacidade de degradação associada à produção de enzimas extracelulares. Essas enzimas possuem baixa especificidade para o substrato, podendo ser utilizadas para o tratamento de resíduos de características variadas como os resíduos têxteis. As principais enzimas envolvidas nos processos de degradação são lacases, lignina peroxidases e manganês peroxidases (WESENBERG et al., 2003). Diversos estudos demonstram resultados positivos com espécies fúngicas pertencentes a outras classes, confirmando a eficiência dos fungos em degradar corantes e efluentes têxteis. Alguns gêneros com comprovada eficácia para biorremediação são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Trichoderma*, entre outros (AYDOGAN et al., 2014; ADNAN et al., 2015; DURRUTY et al., 2015; MANAI et al., 2016).

2.6 IMOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS

A imobilização celular tem como definição o confinamento de células microbianas viáveis em determinada região do espaço, limitando a sua migração livre e apresentam características hidrodinâmicas que diferem do ambiente a ser inserido mantendo ao mesmo tempo suas atividades enzimáticas de forma repetida e contínua (MARTINS et al., 2013).

Para imobilização de micro-organismos, a aplicação se espalha em torno do ambiente industrial. Em comparação com a suspensão de células livres a imobilização de micro-organismos oferece uma multiplicidade de vantagens, como alta biomassa, alta atividade metabólica e maior resistência a produtos químicos tóxicos. Além disso, há rentabilidade dos suportes imobilizados por ser utilizados várias vezes sem perda significativa de atividade microbiana (ZHOU et al., 2008; LIU et al., 2012).

A escolha dos suportes a serem utilizados é uma das decisões mais importantes para uma melhor preparação dos micro-organismos na imobilização. Para tratamento de águas residuais, os suportes deverão apresentar algumas características como: ser um material insolúvel, não biodegradável, atóxico, não poluente, com peso leve. Também são levados em conta a flexibilidade, estabilidade mecânica e química, alta difusividade, apresentar alta retenção de biomassa de micro-organismos e ser preferencialmente de custo baixo (LEENEN et al., 1996).

A imobilização de células microbianas em processos biológicos pode ocorrer naturalmente ou artificialmente, e para os diferentes tipos de imobilização foram atribuídos aos seguintes nomes: Acoplamento covalente/reticulação, encapsulamento, aprisionamento e adsorção (MALLICK et al., 2002).

Várias matrizes sintéticas e naturais são utilizadas para imobilização de micro-organismos, e possuem viabilidade comprovada, é o exemplo da esponja de poliuretano, a bucha vegetal, a quitosana (imobilização de enzimas de interesse) e o alginato. Esses suportes são tecnicamente fáceis de manusear, não são tóxicos para o ambiente, seres vivos e conferem boa aderência aos micro-organismos imobilizados (SARATALE et al., 2011; CARVAJAL et al., 2012; DAASSI et al., 2013; KOYANI et al., 2016).

2.7 ENZIMAS LIGNOLÍTICAS

As enzimas lignolíticas, são oxidorreduções responsáveis pela degradação e mineralização da lignina, por apresentarem baixa especificidade, tem como aplicabilidade na degradação, além da lignina, de um amplo espectro de poluentes persistentes com similaridades estruturais à lignina, dentre eles os corantes têxteis (NIEBISCH et al., 2010).

Enquanto os processos de degradação de celulose e hemicelulose são de natureza hidrolítica e ocorrem com maior facilidade, a degradação da lignina representa um processo oxidativo complexo, não específico e estritamente dependente das condições do meio de cultivo do organismo, a lignina possui uma estrutura altamente complexa, necessitando de um sistema altamente diversificado de enzimas ligninolíticas, enzimas redutoras e enzimas produtoras de H_2O_2 (DASHTBAN et al., 2010),

2.7.1 Lacases

Lacases são enzimas que catalisam a oxidação de várias substâncias aromáticas e inorgânicas com a concomitante redução de oxigênio para água. Elas possuem uma gama de substratos, sendo de grande importância para fins industriais e/ou processos de biorremediação. Os requisitos simples de catálise da lacase (presença de substrato e O_2), a aparente estabilidade e falta de inibição tornam esta enzima adequada e atrativa para aplicações biotecnológicas na degradação de poluentes têxteis (RIVERA-ROYOS et al., 2013).

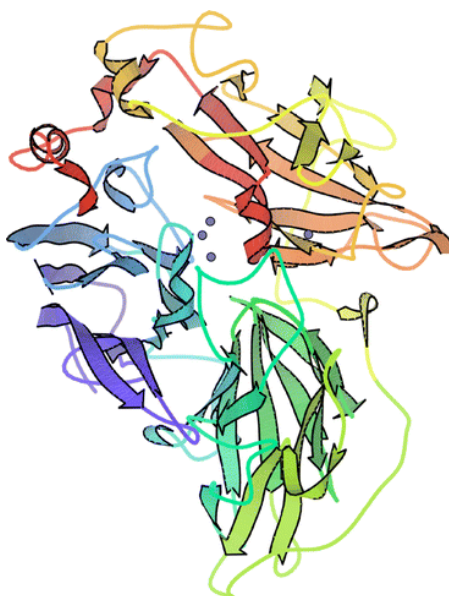
A ação das lacases é garantida pela presença de vários sítios de cobre presentes nas enzimas. Estas enzimas atuam pela abstração de um elétron de fenóis, em função da redução de Cu^{2+} a Cu^{1+} que, por sua vez, reduz O_2 a H_2O , fazendo com que a enzima atue de forma cíclica (Wong et al., 2009).

As lacases podem ser encontradas em plantas, bactérias, insetos e fungos. Sendo sua produção mais relacionada aos fungos, no entanto a função biológica dessa enzima é incerta sendo sugerida sua participação na resistência de esporos fúngicos, pigmentação, lignificação da parede celular de plantas, fatores de virulência entre outros (GIARDINA, 2010).

Lacases imobilizadas têm sido objeto de estudo quanto à degradação de vários compostos recalcitrantes, como os fenóis, clorofenóis, os compostos organofosforados e os corantes têxteis. Estas enzimas são capazes de descolorir alguns corantes azo sem clivagem direta das ligações azo através de um mecanismo de radical livre não específico, evitando assim a formação de aminas aromáticas tóxicas (KALME et al., 2009). A atividade de lacase para a descoloração de vários corantes sintéticos tem sido, principalmente, estudada em fungos basidiomicetos lignolíticos (KINNUNEN, 2017).

O fungo da podridão branca *Phanerochaete chrysosporium* tem sido utilizado como organismo modelo para produção de enzimas ligninolíticas em especial as lacases, entre outros fungos da podridão branca para esse destino pode-se destacar as espécies *Trametes pubescens*, *Pleurotus ostreatus*, *Schizophyllum commune* entre outros, assim como demais espécies de demais filos como *Aspergillus flavus* e *Pichia pastoris* (WONG, 2012; SI, 2013; ASGHER, 2013; SENTHILKUMAR, 2014; GOMAA, 2015). A produção de lacases utilizando biomassa fúngica em seu estado livre ou imobilizada em suportes constitui uma técnica eficaz, ainda pouco utilizada para se promover de forma biossustentável e econômica a remediação contínua de compostos aromáticos industriais (LI, 2015).

Figura 4 – Estrutura 3D de Lacase de *Trametes versicolor*.



Fonte: PIONTEK et al., (2002)

2.7.2 Lignina Peroxidase

De maneira correlata às lacases, a lignina peroxidase (LiP) constitui o grupo de enzimas que degradam lignina e moléculas de estrutura semelhantes, como por exemplo, as que constituem os corantes têxteis, assim como atuar no processo de descontaminação de clorofenóis, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e organofosforados (WESENBERG, 2003).

Lignina peroxidases são oxirredutases dependentes de peróxido de hidrogênio para realizar a catálise de diversos compostos fenólicos e não-fenólicos. Seu mecanismo de ação é iniciado pelo H_2O_2 oxidando primeiramente a enzima e o intermediário oxidado retirando um elétron de núcleos aromáticos, formando radicais que se decompõem espontaneamente a partir de reação de caráter radicalar (ASGHER et al., 2008).

Os metabólitos secundários naturais dos fungos como o álcool veratrílico atuam como mediadores para estimular a oxidação catalisada por LiP de uma vasta gama de substratos recalcitrantes (TEUNISSEN et al., 1998).

A atividade da Lignina Peroxidase é influenciada pela temperatura e pH, onde as melhores condições desta enzima para a descoloração de corantes está em torno de 34°C e pH 4,2, sendo esta enzima controlada preferencialmente pelo H_2O_2 (RODRÍGUEZ-COUTO, 2006).

A partir da descoberta da lignina peroxidase (LiP) foram sendo evidenciadas posteriormente isoenzimas de molécula de LiP com maior capacidade de remediação de compostos tóxicos, sendo possível manipular isoladamente e para estudos de descoloração de corantes (MOUBASHER, 2016).

Algumas características sobre o mecanismo de ação da lignina peroxidase incluem polimerização de contaminantes e/ou copolimerização com outros substratos não tóxicos para auxiliar a remoção dos contaminantes por outros métodos de purificação, como sedimentação, filtração e adsorção (GIANFREDA et al., 2006). Isto reitera o potencial da lignina peroxidase e outras enzimas oxidativas no tratamento de efluentes industriais têxteis.

Figura 5 – Estrutura 3D de Lignina de *Phanerochaete chrysosporium*.



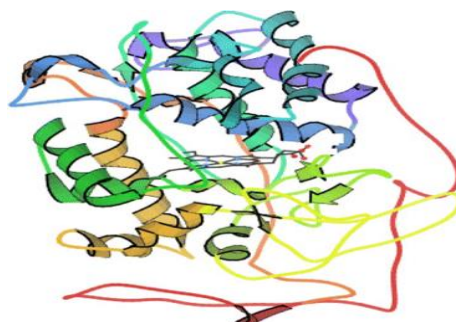
Fonte: POULOS et al., (19

2.7.3 Manganês Peroxidase

A enzima Manganês Peroxidase (MnP) é descrita como sendo uma isoenzima do tipo glicoproteína dependente de peróxidos de hidrogênio e íons manganês para poder descolorir eficientemente corantes têxteis. A MnP foi relatada pela primeira vez como a enzima principal envolvida na descoloração de corante por *Phanerochaete chrysosporium* (Chagas & Durrant et al., 2001).

O mecanismo de ação da Manganês Peroxidase envolve um ciclo catalítico através de uma oxidação inicial por H_2O_2 para um composto intermediário que por sua vez promove a oxidação de Mn^{2+} a Mn^{3+} . O íon Mn^{3+} é estabilizado por ácidos orgânicos tais como o ácido oxálico fazendo com que Mn^{3+} formado atue como um oxidante ativo. Desta maneira, a MnP é capaz de oxidar o seu substrato natural, isto é, lignina, bem como estruturas químicas semelhantes como os corantes têxteis (HOFRICHTER et al., 2002).

Figura 6. Estrutura 3D de Manganês Peroxidase de *Phanerochaete chrysosporium*.



Fonte: SUNDARAMOORTHY et al., (2005)

A MnP é uma enzima caracteristicamente bem produzida pelos fungos lignolíticos, agindo em conjunto com lignina e lacase na biodegradação da lignina ou de compostos relacionados. Dentre os fungos produtores de MnP pode-se citar: *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, (YAO et al., 2013; ARUNKUMAR et al., 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DE EFLUENTE TÊXTIL

Para a realização do trabalho foi realizada uma coleta de 100 (L) de efluente em uma estação de tratamento gerado por uma lavanderia pertencente ao Pólo Têxtil no município de Caruaru-PE. A coleta foi do tipo composta, de vários pontos e de diferentes profundidades do 1º tanque de recepção de água. O material coletado foi homogeneizado e mantido em câmara fria até o uso em cada ensaio.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE

O efluente têxtil foi caracterizado mediante análise de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), DQO (Demanda Química de Oxigênio) e pH a partir de metodologia recomendada pelo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 20th edition, 1998. A análise foi realizada pelo Instituto de Tecnologia de Pernambuco – ITEP.

3.3 FUNGOS FILAMENTOSOS

Na tabela 2 estão listados os dez fungos filamentosos de diferentes gêneros, todo material biológico foi mantido no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial – LAMAI pertencente ao Departamento de Antibióticos na Universidade Federal de Pernambuco. Os fungos foram isolados de diferentes fontes como água mineral e madeira sendo selecionados com base em ensaios anteriores de descoloração (dados não publicados). Os fungos filamentosos foram estocados na Micoteca URM e LAMAI, ambos localizados na Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Dois fungos filamentosos são provenientes da Micoteca URM (6974 e 6181). Os isolados preservados sob óleo mineral foram reativados através da transferência de fragmentos de micélio para caldo Sabouraud e mantidos a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Após observação de crescimento em caldo foram transferidos para novos meios de cultura (Agar Sabouraud) para verificação da viabilidade e pureza.

Tabela 2. Fungos filamentosos selecionados para ensaios de descoloração por células livres.

Identificação	Isolados	Local de Isolamento
F1	<i>Penicillium</i> sp.	Água de Reservatório
F2	<i>Penicillium citrinum</i> .	Água Mineral
F3	<i>Aspergillus niger</i>	Água Mineral
F4	<i>Aspergillus niger</i>	Água Mineral
F5	<i>Penicillium waksmani</i>	Água Mineral
F6	<i>Aspergillus</i> sp.	Água de Reservatório
F7	<i>Aspergillus</i> sp.	Água de Reservatório
F8 (URM – 6974)	<i>Scytinostroma duriusculum</i>	Madeira
F9	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Água Mineral
F10 (URM – 6181)	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Madeira

Fonte: o Autor (2017)

3.4 DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES

O corante utilizado foi o Índigo Carmim obtido comercialmente da empresa Sigma (Sigma- Aldrich Corporation, St. Louis, Missouri, USA Aldrich). Foram atribuídas identificações provisórias para cada um dos dez isolados fúngicos: 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09 e 10. Os fungos selecionados foram cultivados em placa com Ágar Sabouraud e submetidos a um ensaio de descoloração em frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 50 mL do caldo Kirk (Extrato de levedura 0,1 g/L; KH_2PO_4 0,2 g/L; MgSO_4 0,05 g/L; MnSO_4 0,016 g/L; CuSO_4 0,049 g/L; água destilada 1000 mL) previamente esterilizado, três blocos de gelose do fungo e 50 mg/L do corante Índigo Carmim (0,3%). O controle negativo consistiu do caldo Kirk com o corante (50 mg/L) sem os fungos. Todos os frascos foram incubados em estufa incubadora BOD a $30^\circ\text{C} \pm 2$ durante sete dias. Alíquotas foram retiradas no 1º, 4º e 7º dias para os ensaios de descoloração e foram realizadas leituras em espectrofotômetro com comprimentos de onda de 610 nm, para a dosagem enzimática e de proteínas totais. Todo o experimento foi realizado em triplicata para cada um dos dias de leitura, onde foram obtidas médias das triplicatas de cada e o percentual de descoloração. Os fungos filamentosos que apresentaram os percentuais de descoloração acima de 80% (valores de descoloração entre $60 \geq 70\%$ média; $71 \geq 80\%$ boa e acima de 80% ótima) foram utilizados para os ensaios de imobilização em suporte sintético e biológico. O percentual de descoloração foi calculado de acordo com a fórmula: $\%D =$

$$\text{AbsT0} - \text{AbsTx} \times 100 / \text{AbsT0}.$$

%D = Percentual de descoloração

AbsT0 = Absorbância inicial

AbsTx = Absorbância em cada tempo

3.5 DOSAGEM ENZIMÁTICA E DE PROTEÍNAS TOTAIS

A dosagem enzimática de Lacase foi medida em 420 nm em três tempos (0, 5 e 10 minutos). Consistiu numa reação contendo: 100 µL de tampão Acetado de Sódio a 100 mM (Temperatura 30°C e pH 5,0); 100 µL de extrato enzimático; 800 µL de ABTS 0,03% (v/v) de acordo com o método de BUSWELL et al. (1995).

A dosagem de Lignina foi realizada a 310 nm seguindo a metodologia de BUSWELL et al. (1995) com uma reação de: 1000 µL de tampão Tartarato de Sódio pH 3,0; 500 µL de Álcool Veratrílico 10 mM; 500 µL de H₂O₂ 2 mM e 500 µL de extrato enzimático. A dosagem foi realizada em até 5 minutos.

A dosagem enzimática de Manganês Peroxidase foi realizada a 610 nm pelo método de KUWAHARA et al. (1984) e consistiu de uma reação contendo: 250 µL de extrato enzimático; 100 µL de Vermelho de Fenol a 10 mM; 50 µL de Sulfato Manganês a 0,001 M; 50 µL de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) a 2 mM. A reação foi incubada por 10 minutos a 30°C e interrompida com 100 µL de NaOH 2M.

Para a determinação de proteínas foi realizado o método de BRADFORD (1976) contendo na reação: 50 µL de extrato enzimático; 350 µL de água destilada; 100 µL de reativo de Bradford. As reações foram realizadas em duplicata e esperaram 5 minutos para serem lidas em espectrofotômetro a 595 nm.

Para as dosagens enzimáticas de Lacase, Lignina e Manganês foram atribuídas que uma unidade de enzima (U) é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 µmol de substrato por min. Onde as atividades foram expressas em U/L.

Em todas as dosagens o branco consistiu na substituição do extrato enzimático por água destilada. A dosagem de proteínas totais foi calculada com base na fórmula: C mg/mL = Abs - 0,0013/12,15 x 7.

3.6 IMOBILIZAÇÃO DE MICÉLIO EM SUPORTES SINTÉTICO E BIOLÓGICO

3.6.1 Inóculo em Espuma de Poliuretano (EPO) e Bucha Vegetal (*Luffa cylindrica*)

O pré-tratamento da espuma de poliuretano (EPO) e bucha vegetal foi realizado conforme o método de Rodriguez-Couto et al. (2004), inicialmente, a espuma e a bucha (Adquirido em feira livre-Recife-PE) foram cortadas em 1 cm³ e lavadas em metanol (P.A.) e água destilada esterilizada (2X), os suportes foram secos em temperatura ambiente por até 24 horas. Foram levados separadamente para o ensaio de imobilização em frascos de Erlenmeyer (capacidade de 250 mL) contendo um total de 50 mL de caldo Sabouraud mais três blocos de gelose de fungos filamentosos previamente selecionados para essa etapa. Os ensaios foram mantidos por até 5 dias em 30°C em triplicata sob agitação quando necessário. Os suportes usados para imobilização foram pesados com base no método de gravimetria para verificação de micélio fúngico aderido. Suportes sem fungos foram utilizados como branco.

3.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As fibras dos suportes de poliuretano e bucha vegetal foram lavadas em solução fosfato-salina e fixadas “overnight” em uma solução contendo 2,5% de glutaraldeído e 4% de formaldeído em tampão cacodilato de sódio 0,1M (pH 7,2) e processadas para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As amostras foram subsequente lavadas no mesmo tampão para retirada de células não aderidas e pós-fixada em uma solução contendo 1% de tetróxido de ósmio (OsO₄) em tampão cacodilato de sódio. Em seguida as amostras foram desidratadas em séries crescentes de etanol e submetidas à secagem através do ponto crítico no Critical Point Dryer HCP-2 (Hitachi, Tokyo, Japan), cobertas com 20 nm de ouro sob condições de alto vácuo no metalizador JFC-1100 (Jeol, Tokyo, Japan) e visualizadas através do microscópio eletrônico de varredura JEOL T-200 (Jeol, Tokyo, Japan). Cada amostra foi examinada em diferentes níveis de ampliação.

3.8 DESCOLORAÇÃO DE CORANTE ÍNDIGO CARMIM E DO EFLUENTE POR FUNGOS IMOBILIZADOS

Para a descoloração do corante foi realizada a metodologia descrita anteriormente no ensaio de descoloração por células livres. Na descoloração de efluente foi utilizada a metodologia de TIEN E KIRK (1988) modificada. A modificação consistiu na substituição da água destilada pelo efluente têxtil. Os frascos de Erlenmeyer (250 mL) continham 50 mL do corante ou efluente têxtil e foram mantidos em condições estáticas com três suportes imobilizados. A descoloração do corante foi avaliada durante 7 dias a 30°C em sistema estático, com retirada de 2 mL de material residual para a leitura da absorbância a 610 nm para corante índigo e 670 nm para efluente têxtil (dados não publicados). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e foram retiradas alíquotas para dosagem enzimática e de proteínas totais.

3.9 FITOTOXICIDADE DE SUBPRODUTOS FORMADOS

Para avaliação da toxicidade do material residual foram utilizadas as sementes de pepino (*Cucumis sativus*) de acordo com TIQUIA et. al., (1996). Após a desinfestação, dez sementes foram colocadas equidistantes em placas de Petri com papel filtro duplo, nos quais foram embebidos com 2 mL do material residual. Os testes foram realizados em triplicata com o auxílio de dois controles, um com água destilada como controle positivo e outro apenas com o efluente como o controle negativo. O período de incubação foi de 5 dias em ± 30 °C calculando-se o índice de germinação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE TÊXTIL

Os parâmetros físico-químicos do efluente industrial bruto coletado são apresentados na Tabela 1. Os valores encontrados revelaram um efluente têxtil com características impróprias para o despejo em corpos d'água com valores muito acima dos limites permitidos de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) de acordo com as normatizações existentes de descarga desse tipo de material. O efluente têxtil coletado em Caruaru-PE está em desacordo com os padrões de lançamento em corpos hídricos estipulados pela legislação brasileira. (BRASIL, 2011).

Os componentes orgânicos e recalcitrantes de modo geral são responsáveis pelos valores de DQO e DBO acima do determinado pela legislação encontrados nos efluentes. O presente trabalho determinou os valores de DQO e DBO em 1000 mg O₂/L e 208 mg O₂/L respectivamente. A relação da alta DQO sobre a quantidade de DBO indica sobre a não biodegradabilidade total do efluente têxtil, o que pode ser constatado pela maior concentração de compostos xenobióticos que não são degradados facilmente pela microbiota, resultando em uma DQO mais elevada (SINGH et al., 2015). O estudo de Garg et al (2013) corrobora com os resultados obtidos no presente estudo, em que se detectou pela caracterização de efluente têxtil bruto quantidades de DQO e DBO de 250 mg O₂/L e 30 mg O₂/L respectivamente, o que confirma a relação de alta DQO/DBO. A resolução do CONAMA N° 430 regulamenta a necessidade da redução mínima de 60% de DBO para se adequar nos valores de condições e padrões de lançamento impostos.

Outro ponto negativo que deve ser avaliado é a presença de óleos e graxas totais que no presente trabalho também está acima dos valores definidos pelo CONAMA (BRASIL., 2011). No efluente têxtil bruto do presente estudo foi detectado 113 mg/L de óleos e graxas, esse parâmetro tem como principal função em estudos de biotratamento de efluentes têxteis direcionar a melhor forma de remediação, visto que quanto maior a quantidade desses compostos maior a interferência em processos biológicos. (GARG et al., 2013; BILAL et al., 2016).

Tabela 3 – Características físico-químicas do efluente industrial têxtil bruto

Parâmetros	Resultados	Valores de referência	
		CONAMA (Art. 21 Res. 20)	CPRH/PE (Art. 29 Dec. N o 7.269)
Temperatura	28 °C	<40	<40
pH	6,5	5,0 -9,0	5,0 -9,0
Condutividade Elétrica a 25° C	2.830 μ S/cm	-	-
Cor aparente	>500 uH	75	-
DQO	1.000 mg O ₂ /L	-	-
DBO	208 mg O ₂ /L	-	-
Carga Orgânica DBO	0,83 kgDBO/m ³	-	-
Dureza Total	135,7 Mg CaCO ₃ /L	-	-
Fenóis Totais	0,09 mg/L	0,5	-
Nitrogênio Total	8,2 mg/L	-	-
Sólidos Dissolvidos Totais	2.121 mg/L	-	-
Sólidos Suspensos Totais	2.028 mg/L	-	-
Óleos e Graxas Totais	113 mg/L	-	-
Cromo Total	<0,03 mg /L Cr	-	-
Fósforo Total	4,79 mg/L P	-	-

(-) valores não existentes.

Fonte: ITEP (2016)

Foram observadas quantidades excedentes de Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) e Sólidos Suspensos Totais (SST). A presença de SDT pode ser atribuída ao processamento têxtil onde um grande número de sais são dissolvidos na água, dentre eles os carbonatos, bicarbonatos, cloretos, sulfatos, fosfatos, nitratos de cálcio, entre outros. Os sólidos dissolvidos são responsáveis por uma menor penetração da luz na água, impedindo processos naturais como a fotossíntese. Uma maior quantidade de sólidos suspensos pode

estar associada à mistura de corantes com natureza distinta presentes no efluente, influenciando assim a turbidez da água (IQBAL et al., 2015; MANIKANDAN et al., 2015). O presente estudo detectou a presença de 2.121 mg/L e 2.028 mg/L de SDT e SST respectivamente. O trabalho de Joshi (2012) aponta semelhança com os resultados obtidos na quantidade de SDT onde amostras de efluente têxtil indicaram até 2.458 mg/L.

Parâmetros como temperatura, pH (6,5), fenóis totais, nitrogênio total, cromo total estão em concordância com as condições e padrões de lançamento de efluentes no Brasil (BRASIL, 2011). O pH encontrado em efluentes têxteis comumente é alcalino devido ao processamento têxtil na etapa de fixação do corante às malhas de tecido onde se usam compostos alcalinizantes e sais (ALLEGRE et al., 2006). Apesar do pH encontrado no efluente estudado estar próximo a acidez/neutralidade, este está de acordo com os limites de pH (5-9) implementados pela legislação brasileira. Em relação aos demais parâmetros avaliados, apesar da legislação vigente não estipular valores limites para o lançamento, os dados obtidos fornecem informações importantes para a avaliação do potencial poluidor do efluente.

4.2 DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES

Todos os fungos testados foram capazes de degradar o corante índigo carmim durante os sete dias de tratamento. Isolados de fungos de diferentes ambientes podem contribuir na biorremediação de corantes por terem a capacidade de secretar enzimas extracelulares não específicas atuando na reciclagem de carbono em ambientes líquidos. Os isolados F1, F2, F5 e F7 realizaram descoloração final de 56,74%, 42,66%, 51,79%, 49,33% respectivamente, caracterizando uma descoloração baixa. Houve no sétimo dia uma variação entre 29,80% até 89,49% como mostrado na Tabela 4. Yang et al. (2016) realizou em seu trabalho a descoloração de corantes têxteis de diferentes classes por fungos isolados de água doce tendo obtido resultados de descoloração semelhantes ao do presente estudo, em sete dias as taxas de descoloração foram analisadas para alguns corantes como Acid Red 73. A razão da descoloração baixa/média de ambos os trabalhos pode ter sido causada pela origem dos fungos que foram isolados da água doce não impactada e água mineral.

A necessidade de se buscar fungos filamentosos na biodegradação de compostos recalcitrantes como os corantes têxteis está relacionada a investigação do potencial que cada micro-organismo possui, sendo ampliada pela facilidade de isolamento e manejo. O uso de fungos isolados em diferentes habitats pode propiciar o tratamento biológico de efluentes têxteis. É o que acontece com fungos aclimatados que sobrevivem a pressão de um ambiente (PRABHA et al., 2017; STELLA et al., 2017; MOHAMMADIAN et al., 2017).

O isolado basidiomiceto F8 alcançou uma descoloração considerada ótima ($\geq 80\%$) de 86,50% como mostrado na Tabela 4. Diwaniyan (2010) em seu trabalho obteve descoloração entre 81,3% e 99,2% de índigo carmim em meio líquido por fungos de podridão branca corroborando com o resultado encontrados nessa etapa. Muitos fungos da podridão branca, como são conhecidos, possuem o maquinário ideal para a degradação de corantes têxteis por serem capazes de produzir enzimas fenoloxidasas que degradam em seu ambiente natural a lignina, que possui semelhança molecular com as moléculas de corante (TUOR et al., 1995).

O mecanismo de remoção da cor de corantes têxteis por fungos pode ser efetuado por diferentes modos sendo eles bioacumulação, biosorção e biodegradação. A bioacumulação é baseada no processo de absorção celular em que as moléculas de corante ficam retidas no interior e parte da superfície celular, a biosorção é o processo de adsorção das moléculas de corantes que ficam aderidas à superfície celular exclusivamente, a biodegradação consiste na quebra de moléculas de corante por enzimas extracelulares (CHOJNACKA et al., 2010). O isolado F3 (*Aspergillus niger*) obteve a maior taxa de descoloração de corante índigo sem a produção de enzimas fenoloxidasas (Tabela 4), devido à presença de pigmento azul no micélio foi sugerindo que o isolado utilizou uma via de sorção para descolorir o corante têxtil.

O fungo F8 foi o único a secretar enzimas fenoloxidasas durante o período de descoloração do corante, tendo atividades de Lacase e MnP de 19,20 U/L e 106,79 U/L respectivamente, em um período de sete dias, assim como demonstrou elevada atividade específica das enzimas Lacase e MnP por mg de proteína mostrado na Figura 7. Akdogan et al. (2014) relataram produção de 25 U/L de Lacase no ensaio de descoloração de corante Reactive Blue 19 numa concentração a 50 mg/L pelo fungo basidiomiceto *Coprinus plicatilis*.

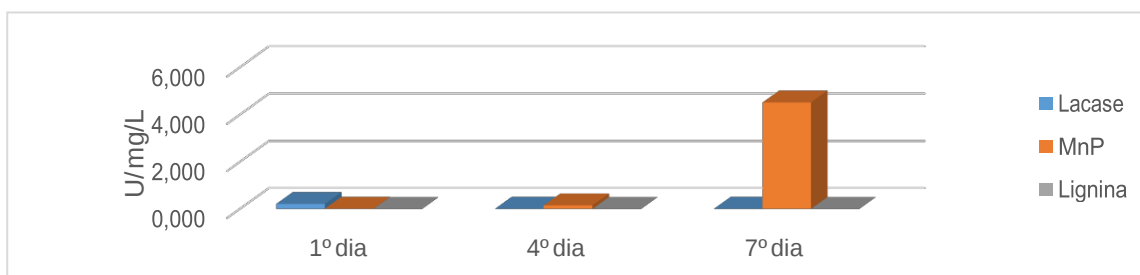
Nenhum dos isolados testados nessa etapa do estudo produziram a enzima Lignina Peroxidase. Por apresentarem taxas de descoloração do corante acima de 80% os fungos F3 e F8 foram submetidos a subseqüentes testes de imobilização celular em esponja de poliuretano (EPO) e Bucha vegetal (*Cucumis sativus*).

Tabela 4

Enzimas ligninolíticas secretadas em ensaio primário de descoloração de corante índigo carmim por células livres (50 mg/L).

Fungos	Dias	Produção enzimática (U/L)		Descoloração (%)
		Lacase	MnP	
F1	1	0,04 ± 0,00	7,00 ± 0,05	3,57 ± 0,09
	4	0,05 ± 0,00	25,38 ± 0,08	28,03 ± 0,13
	7	0,01 ± 0,00	2,39 ± 0,01	56,74 ± 0,09
F2	1	0,02 ± 0,00	9,36 ± 0,00	0,16 ± 0,05
	4	0,07 ± 0,00	25,26 ± 0,37	24,28 ± 0,13
	7	0,03 ± 0,00	2,75 ± 0,04	42,66 ± 0,20
F3	1	0,05 ± 0,00	10,34 ± 0,01	0,11 ± 0,07
	4	0,02 ± 0,00	35,72 ± 0,16	53,19 ± 0,03
	7	0,02 ± 0,00	5,65 ± 0,01	89,49 ± 0,05
F4	1	0,01 ± 0,00	3,44 ± 0,01	0,98 ± 0,07
	4	0,01 ± 0,00	29,42 ± 0,13	24,10 ± 0,12
	7	0,01 ± 0,00	24,81 ± 0,21	59,02 ± 0,15
F5	1	0,02 ± 0,00	0,96 ± 0,01	3,50 ± 0,10
	4	0,02 ± 0,00	34,11 ± 0,00	27,71 ± 0,02
	7	0,00 ± 0,00	31,66 ± 0,27	51,79 ± 0,06
F6	1	0,06 ± 0,00	2,09 ± 0,00	1,09 ± 0,12
	4	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	15,87 ± 0,06
	7	0,00 ± 0,00	8,64 ± 0,03	32,48 ± 0,03
F7	1	0,06 ± 0,00	1,43 ± 0,00	1,35 ± 0,10
	4	0,00 ± 0,00	4,51 ± 0,08	24,97 ± 0,09
	7	0,01 ± 0,00	37,94 ± 0,38	49,33 ± 0,18
F8	1	19,20 ± 0,30	0,90 ± 0,00	15,28 ± 0,08
	4	0,82 ± 0,03	12,38 ± 0,01	50,29 ± 0,53
	7	0,21 ± 0,00	106,79 ± 0,15	86,50 ± 0,04
F9	1	0,03 ± 0,03	0,30 ± 0,00	5,83 ± 0,07
	4	0,00 ± 0,00	8,85 ± 0,05	16,43 ± 0,04
	7	0,01 ± 0,00	17,22 ± 0,33	29,80 ± 0,07
F10	1	0,64 ± 0,00	1,64 ± 0,01	2,98 ± 0,04
	4	0,00 ± 0,00	2,18 ± 0,00	23,47 ± 0,04
	7	0,00 ± 0,00	17,01 ± 0,32	38,36 ± 0,12

Fonte: o Autor (2017)

Figura 7 Atividade enzimática específica do fungo F8 (*Scytinostroma duriusculum*).

Fonte: o Autor (2017)

4.3. Imobilização e microscopia eletrônica de varredura

Existe várias opções de materiais de origem sintética que podem ser aplicadas em experimentos de imobilização celular, os principais incluem as fibras de poliuretano, esponja de aço inoxidável, fibras sintéticas como o nylon, pedra-pomes, espuma de vidro entre outros. A eficiência do suporte imobilizado depende de requisitos como a própria natureza do material e dos micro-organismos a serem testados em suportes de imobilização de células durante a fermentação (MUSSATO et al., 2009; MARTINS et al., 2013). A Tabela 5 demonstra o perfil de imobilização dos dois suportes: esponja de poliuretano e esponja natural.

Tabela 5 – Fungos imobilizados em suportes sintético e biológico. (+) Fungo imobilizado; (-) Fungo não imobilizado.

Isolados	EPO	Bucha
F3	+	+
F8	+	-

Fonte: o Autor (2017)

A figura 8A mostra as características da fibra de poliuretano utilizada no trabalho que é composto por fibras finas e resistentes com formações de espaços irregulares que ampliam o poder de imobilização dos fungos que aproveitam a grande área disponível para sua adesão. A figura 8B e 8D reforçam a imobilização dos fungos F3 e F8 não apenas por auto adesão na superfície como a utilização dos inter espaços da esponja de poliuretano.

O trabalho de Ansari et al. (2017) reforça a importância da utilização de fungos imobilizados em esponja de poliuretano no tratamento de corantes têxteis por fatores que

vão desde o custo baixo e alta porosidade até a oferta pelo mercado, sendo um suporte acessível e de possibilidade de reuso além de oferecer condições mais viáveis na capacidade biossintética e na estabilidade das células dos fungos subsequentemente levando a um melhor desempenho dos fungos nos processos de biodegradação.

Os ensaios de imobilização de F3 e F8 foram bem-sucedidos para o suporte sintético utilizado (EPO). No entanto o fungo F3 foi o único a ser imobilizado em Bucha vegetal como está descrito na Figura 1. Os principais suportes sintéticos utilizados para imobilização de células têm como principal característica uma maior produção de metabólitos em ensaios de produção enzimática dentre eles estão as espumas poliuretano utilizadas no estudo (RODRIGUEZ-COUTO et al., 2012).

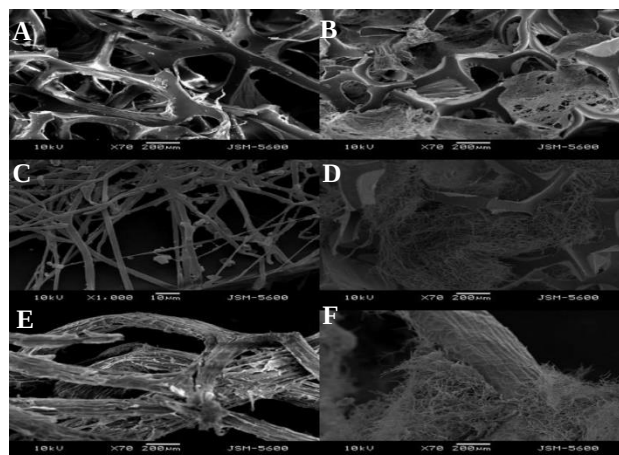
As fibras vegetais para imobilização de células fúngicas são uma alternativa viável para a imobilização de micro-organismos visto que possuem alta porosidade, baixa densidade e alta estabilidade (DZIOŃEK et al., 2016; ZAHMATKESH et al., 2017).

A Bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) é composta por aproximadamente 60% de celulose, 30% hemicelulose e 10% lignina (MAZALI et al., 2005). Estudos indicam a eficiência da bucha vegetal como material adsorvente, além da possibilidade de ser utilizada em outros fins como transporte de catalisadores de reações (ZHANG et al., 2017; NADAROGLU et al., 2017). A figura 8E demonstra as características da fibra vegetal antes do processo de imobilização. O fungo F3 imobilizado em bucha vegetal teve maior imobilização na superfície do material como mostrado em na figura 1F.

Mazmanci et al. (2005) relataram dificuldades no processo de imobilização celular de um fungo da podridão branca utilizando bucha vegetal por se tratar de um suporte rico em fontes de carbono e nitrogênio que são utilizadas pelo fungo, o que explicaria a não imobilização do Fungo F8 pelo cultivo em meio semi-sólido.

Figura 8

Micrografias obtidas a partir de microscopia eletrônica de varredura. A = Fibras de poliuretano ; B = Fungo F3 imobilizado em fibra de poliuretano; C = Hifas do fungo F8 (*Scytinostroma duriusculum*); D = Fungo F8 imobilizado em fibra de poliuretano; E = Fibras de bucha vegetal; F = Fungo F3 imobilizado em fibra de bucha vegetal. Fonte: o Autor (2017)



4.4. Descoloração do corante índigo carmim e efluente têxtil por fungos imobilizados

Os resultados apresentados na Tabela 6 demonstraram que a imobilização celular por *Scytinostroma duriusculum* (F8/EPO) foi mais eficiente na descoloração e produção de enzimas fenoloxidasas que no uso de células livres. Embora a utilização de células livres tenha removido a cor do corante índigo carmim, os isolado *S. duriusculum* imobilizado obteve maior rendimento na descoloração do índigo como pode ser apreciado na Figura 9. Os resultados mostraram que os diferentes isolados fúngicos influenciaram na descoloração do corante índigo carmim por vias diferentes, onde a não produção de enzimas fenoloxidasas pelo fungo *Aspergillus niger* (F3/EPO) aponta que a descoloração obtida no experimento pode ter sido provocada por absorção ou adsorção do corante pela célula fúngica ou pelo suporte. No entanto a eficiência de *S. duriusculum* na biodegradação do corante teve relação direta com produção de fenoloxidasas, em especial lacase e manganês.

Os fungos F3/EPO e F8/EPO imobilizados obtiveram descoloração máxima de corante de 54,47% e 89,88% respectivamente. A tabela 6 demonstra a eficácia do fungo F8/EPO aumentando o rendimento na degradação do corante (Lacase e MnP com picos MnP com picos 1089,5 U/L e 578,48 U/L respectivamente). Daassi et al. (2013) obtiveram em seu trabalho a eficiência da imobilização celular de fungos filamentosos

em suportes de alginato na biodegradação do corante Lanaset Grey G comparando o tratamento entre células livres e células imobilizadas na descoloração, onde atingiu por células imobilizadas até 89,3% e 13,552 U/L de Lacase na degradação do corante.

Dayi et al. (2017) em seu estudo na descoloração de corante Reactive Orange 16 (50 mg/L) pelo fungo *Morchella esculenta* obteve resultados semelhantes utilizando células livres e imobilizadas em esponja de poliuretano onde o fungo imobilizado reduziu seu poder de biosorção do corante, sendo a utilização de micélio livre mais eficiente na descoloração, entretanto a produção de fenoloxidasas aumentou utilizando o fungo imobilizado, o que corrobora com os valores encontrados no presente trabalho.

O isolado F3 imobilizado em EPO e em bucha vegetal reduziu seu percentual de descoloração em comparação ao resultado desse isolado quando utilizado sem imobilização, a explicação para o decaimento pode estar relacionada às mudanças fisiológicas sofridas pelo fungo ao se aderir à esponja de poliuretano (VASSILEV et al., 2001). Deste modo, o fungo F3 não foi submetido a descoloração do efluente têxtil e o fungo F8 imobilizado em EPO passou a ser o conjunto micro-organismo/suporte adequado para descolorir efluente têxtil. A tabela 7 mostra a eficiência do tratamento de efluente têxtil pelo fungo F8 (Lacase e MnP com picos 400,81 U/L e 92,68 U/L respectivamente)

O trabalho de Ottoni et al. (2013) demonstrou a eficiência de fungos imobilizados em EPO para o tratamento de corante reactive black 5 efluente industrial têxtil em que o fungo basidiomiceto *Trametes versicolor* imobilizado descoloriu o efluente em 85% onde foi detectada a produção de lacases. Barapatre et al. (2017) em seu trabalho de descoloração de corante Malachite Green utilizou o micro-organismo *Aspergillus flavus* imobilizado em esponja de poliuretano e conseguiu a descoloração e, torno de 99%, o que viabiliza a utilização de micro-organismos nesse tipo de suporte.

Tabela 6

Produção de enzimas ligninolíticas em ensaio de descoloração de corante índigo carmim (50 mg/L) por fungos imobilizados em suportes sintético e biológico. F3EPO = Fungo F3 imobilizado em EPO; F3B = Fungo F3 imobilizado em Bucha vegetal; F8EPO = Fungo F8 imobilizado em EPO

Fungos/Suporte	Dias	Produção enzimática (U/L)		Descoloração (%)
		Lacase	MnP	
F3/EPO	1	0,02 ± 0,01	26,76 ± 0,17	15,68 ± 0,09
	4	0,20 ± 0,19	41,61 ± 0,23	26,81 ± 0,11
	7	0,35 ± 0,12	27,53 ± 0,05	54,47 ± 0,23
F3/B	1	0,01 ± 0,06	4,87 ± 0,00	11,99 ± 0,07
	4	0,00 ± 0,00	15,28 ± 0,15	29,78 ± 0,09
	7	0,45 ± 0,01	6,43 ± 0,06	30,28 ± 0,26
F8/EPO	1	79,70 ± 0,03	22,96 ± 0,26	22,14 ± 0,05
	4	309,17 ± 0,01	136,44 ± 0,40	75,89 ± 0,08
	7	1089,5 ± 0,08	578,48 ± 0,09	89,88 ± 0,01

Fonte: o Autor (2017)

Tabela 7

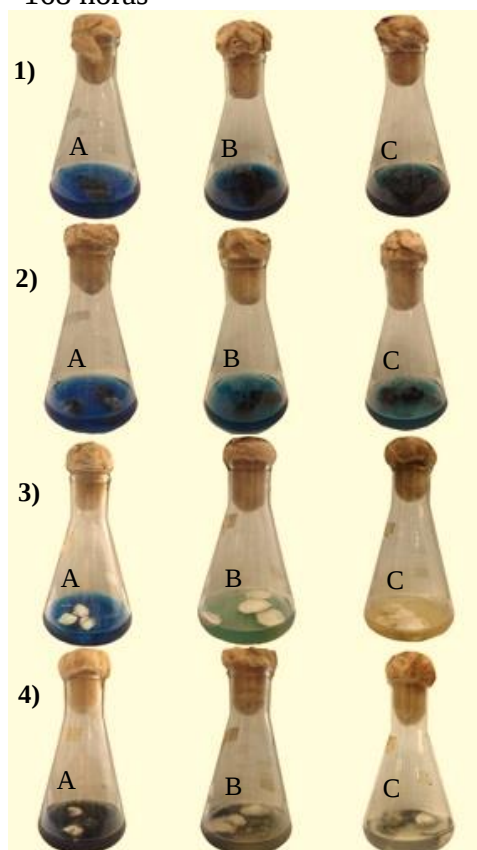
Produção de enzimas ligninolíticas em ensaio de descoloração de efluente industrial têxtil por fungo F8 (*Scytinostroma duriusculum*) imobilizado em EPO.

Fungo/Suporte	Dias	Produção enzimática (U/L)		Descoloração (%)
		Lacase	MnP	
F8/EPO	1	98,31 ± 0,22	8,01 ± 0,10	62,47 ± 0,06
	4	400,81 ± 0,09	49,39 ± 0,27	95,12 ± 0,11
	7	128,67 ± 0,01	92,68 ± 0,09	94,85 ± 0,05

Fonte: o Autor (2017)

Figura 9

Descoloração de corante índigo carmim e efluente por fungos imobilizados. 1 = Tratamento de corante com fungo F3 imobilizado em EPO; 2 = Tratamento de corante com fungo F3 imobilizado em Bucha vegetal; 3 = Tratamento de corante com fungo F8 imobilizado em EPO; 4 = Tratamento de efluente com fungo F8 imobilizado em EPO; A = 24 horas, B = 96 horas, C = 168 horas



Fonte: o Autor (2017)

4.3 FITOTOXICIDADE DE SUBPRODUTOS FORMADOS

Os efluentes de indústrias de beneficiamento de tecidos não tratados podem causar danos severos para o meio ambiente e a saúde. Deste modo se faz importante o monitoramento acerca da toxicidade dos corantes e efluentes têxteis tratados com micro-organismos para assegurar que os produtos degradados sejam menos tóxicos antes de serem descartados em águas residuais (ADNAN et al., 2015). Os corantes tratados são avaliados em determinados tipos de toxicidade, tais como toxicidade microbiana, genotoxicidade, citotoxicidade e fitotoxicidade (JADHAV et al., 2011). No entanto, a fitotoxicidade é a toxicidade mais comumente avaliada porque é uma medida simples no que se refere à estabilidade do crescimento das plantas.

O efluente têxtil ao ser descartado em corpos d'água afetam o crescimento de plantas. Deste modo, é importante avaliar a fitotoxicidade do corante antes e depois da degradação (BARAPATRE et al., 2017). Sementes de *Cucumis sativus* foram usadas neste estudo como modelo para avaliar os compostos residuais antes e depois do tratamento de corante índigo carmim e efluente por fungo F8 imobilizado. O índice foi calculado com base em uma combinação de medidas de germinação relativa das sementes e alongamento relativo da raiz. O percentual de germinação, o Crescimento Médio da Raiz (CMR) e o Índice de Germinação (IG) estão apresentados na Tabela 8.

Verificou-se que houve a germinação de 100% das sementes com o controle (Água) e os percentuais de germinação do corante e efluente sem tratamento eram de 90% e 90%, respectivamente. Pode se inferir que os compostos desses dois resíduos não estavam em altas concentrações para impedir o enraizamento.

Quanto ao CMR foi possível notar a formação de raízes pequenas pelos resíduos sem tratamento em comparação com os resíduos tratados que tinham excelente enraizamento, o que provavelmente está relacionado ao sucesso do biotratamento (Figura 10). O índice de Germinação para o material residual tratado foi maior do que o material sem tratamento. Bedoui et al. (2015) avaliaram a fitotoxicidade de efluentes têxteis em sementes de *Cucumis sativus* revelando sensibilidade no percentual de germinação e crescimento da raiz frente a efluente têxtil não tratado assim como o presente estudo.

Durruty et al. (2015) em seu estudo promoveram o tratamento de corantes e efluente têxtil pelo fungo filamentoso *Penicillium chrysogenum* e realizaram a fitotoxicidade dos subprodutos no final do experimento e obtiveram redução da toxicidade na germinação das sementes e no crescimento radicular de sementes de trigo assim como os dados deste trabalho.

De acordo com Nouren et al., (2015) valores do Índice de Germinação inferiores a 50% indicam alta fitotoxicidade, valores entre 50 e 80% indicam fitotoxicidade média, e acima de 80% indicam baixa ou nenhuma fitotoxicidade. Como resultado esse estudo demonstra que os subprodutos produzidos a partir da degradação de corante e efluente têxtil não são fitotóxicos, sendo considerado seguro para liberação em águas residuais e/ou utilização para fins agrícolas.

Tabela 8

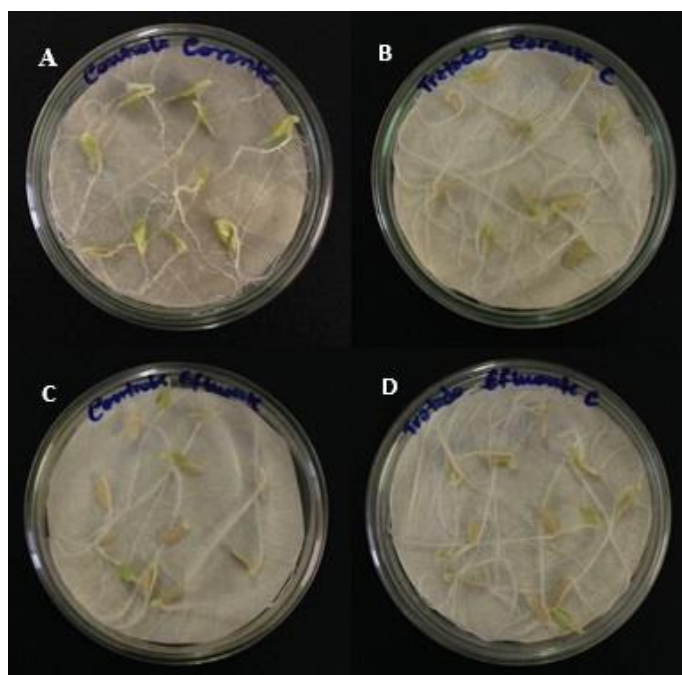
Ensaio de fitotoxicidade de corante índigo carmim e efluente têxtil antes e depois de tratamento com Fungo F8 imobilizado em EPO; CST = Corante Sem Tratamento; EST = Efluente Sem Tratamento; CT = Corante tratado; ET = Efluente Tratado; CMR = Crescimento Médio da Raiz; IG = Índice de Germinação

Observação	<i>Cucumis sativus</i>			
	CST	EST	CT	ET
Germinação (%)	90	90	98,8	97,7
CMR (%)	78,1	70,4	94,6	93,5
IG (%)	86,3±4,3	71,6±4,7	93,5±4	91,5±0,3

Fonte: o Autor (2017)

Figura 10

Enraizamento de *Cucumis sativus* por ensaio de fitotoxicidade de corante índigo carmim e efluente têxtil antes e depois de tratamento com Fungo F8 imobilizado em EPO; A = Corante sem tratamento; B = Corante tratado; C = Efluente sem tratamento; D = Efluente tratado



Fonte: o Autor (2017)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fungo da podridão branca *Scytinostroma duriusculum* possui a habilidade de degradar corante da classe indigoide e efluente têxtil bruto contendo mistura de corantes em condições não estéreis. A utilização deste fungo imobilizado em esponja de poliuretano promoveu alta descoloração em sete dias de tratamento sendo mediado por enzimas fenoloxidasas como lacase e manganês peroxidase. Ensaio de fitotoxicidade confirmou a redução da toxicidade de metabólitos gerados no tratamento. Este é o primeiro relato da utilização do fungo *Scytinostroma duriusculum* imobilizado para o tratamento de efluente têxtil. Assim sendo, o fungo *S. duriusculum* pode ser um candidato promissor de estudos posteriores em escala industrial para eficiente biodegradação de efluente têxtil da região de Caruaru, Pernambuco/Brasil.

REFERÊNCIAS

Artigos:

- ADNAN, L. A., et al. (2015). Metabolites characterization of laccase mediated Reactive Black 5 biodegradation by fast growing ascomycete fungus *Trichoderma atroviride* F03. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 274-282.
- AKDOGAN, H. A., TOPUZ, M. C., & URHAN, A. A. (2014). Studies on decolorization of reactive blue 19 textile dye by *Coprinus plicatilis*. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 12(1), 49.
- AKHTAR, M. F., et al. (2016). Textile industrial effluent induces mutagenicity and oxidative DNA damage and exploits oxidative stress biomarkers in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 41, 180-186.
- AKHTAR, M. F., et al. (2018). Association of textile industry effluent with mutagenicity and its toxic health implications upon acute and sub-chronic exposure. *Environmental monitoring and assessment*, 190(3), 179.
- ALLEGRE, C., MOULIN, P., MAISSEU, M., & CHARBIT, F. (2006). Treatment and reuse of reactive dyeing effluents. *Journal of Membrane Science*, 269(1), 15-34.
- ANSARI, Z., KARIMI, A., SEDGHI, S., RAZZAGHI, M., EBRAHIMI, S. 2017. Glucose oxidase effect on treatment of textile effluent containing reactive azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*.
- ANJANEYULU, Y., CHARY, N. S., RAJ, D. S. S. 2005. Decolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 4:245–273.
- AOUNI, A., et al. 2012. Reactive dyes rejection and textile effluent treatment study using ultrafiltration and nanofiltration processes. *Desalination*. 87-96.
- ARAVIND, P., SELVARAJ, H., FERRO, S., & SUNDARAM, M. (2016). An integrated (electro- and bio-oxidation) approach for remediation of industrial wastewater containing azo-dyes: understanding the degradation mechanism and toxicity assessment. *Journal of hazardous materials*, 318, 203-215.
- ARUNKUMAR, M., ABDULLA, S. H. S. 2014. Hyper-production of manganese peroxidase by mutant *Pleurotus ostreatus* MTCC 142 and its applications in biodegradation of textile azo dyes. *Desalination and Water treatment*. 1-12.
- ASGHER, M., et al. 2008. Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white-rot fungi and their enzyme system. *Biodegradation*. 19: 771-783.

- ASGHER, M., YASMEEN, Q., & IQBAL, H. M. N. (2013). Enhanced decolorization of Solar brilliant red 80 textile dye by an indigenous white rot fungus *Schizophyllum commune* IBL-06. *Saudi journal of biological sciences*, 20(4), 347-352.
- AYDOGAN, M. N., ARSLAN, N. P. 2014. Removal of textile dye reactive dye black 5 by the cold- adapted, alkali- and halotolerant fungus *Aspergillus flavipes* MA-25 under non-sterile conditions. *Desalination and Water Treatment*. 1-9.
- BARAPATRE, A., AADIL, K. R., & JHA, H. (2017). Biodegradation of malachite green by the ligninolytic fungus *Aspergillus flavus*. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 45(4).
- BARRETO, W. J., BERNARDINO, N. D., AFONSO, R., DOI, S. M. O. 2011. Biodegradação de uma mistura de corantes têxteis usando o fungo *Ganoderma* sp: um estudo cinético. *Quimica Nova* 34: 568-572.
- BAZRAFSHAN, E., ALIPOUR, M. R., & MAHVI, A. H. (2016). Textile wastewater treatment by application of combined chemical coagulation, electrocoagulation, and adsorption processes. *Desalination and Water Treatment*, 57(20), 9203-9215.
- BEDOUI, A., et al. 2015. Evaluation of an eventual ecotoxicity induced by effluents using a battery of biotests. *Environ Sci Pollut Res*. 22: 16700-16708.
- BIDHENDI, G. R. N., et al. 2007. Evaluation of industrial dyeing wastewater treatment with coagulants and polyelectrolyte as a coagulant aid. *Iran J Environ Health Sci Eng*. 29-36.
- BILAL, M., IQBAL, M., HU, H., ZHANG, X. 2016. Mutagenicity, cytotoxicity and phytotoxicity evaluation of biodegraded textile effluent by fungal ligninolytic enzymes. *Water Science and Technology*, 73(10), 2332-2344.
- BRADFORD, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- BUSWELL, J.A., MOLLET, B., ODIER, E. (1984), Ligninolytic enzyme production on by *Phanerochaete chrysosporium* under conditions of nitrogen sufficiency. *FEMS Microbiol. Lett.*, 25, 295-299.
- CARVAJAL, L. C., et al. 2012. Evaluation of three immobilization supports and two nutritional conditions for reactive black 5 removal with *Trametes versicolor* in air bubble reactor. *African Journal of Biotechnology*. 3310-3320.
- CHAGAS, E. P., DURRANT, L. R. 2001. Decolorization of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajorcaju*. *Enzyme and Microbial Technology*. 473-477.
- CHANDEL, S., et al. 2015. Status of Colorectal Cancer Devices: Present Scenario. *J. Gastrointest Canc*. 46: 91-103.

- CHATHA, S. A. S., ASGHER, M., & IQBAL, H. M. (2017). Enzyme-based solutions for textile processing and dye contaminant biodegradation—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(16), 14005-14018.
- CHEN, B. Y., et al. (2006). Exploring bioaugmentation strategies for azo-dyes decolorization using a mixed consortium of *Pseudomonas luteola* and *Escherichia coli*. *Process Biochemistry*. 1574-1581.
- CHOJNACKA, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation—the prospects for practical applications. *Environment international*, 36(3), 299-307.
- DAASSI, D., et al. 2013. Decolorization of the metal textile dye lanaset grey G by immobilized white- rot fungi. *Journal of Environmental Management*. 324-332.
- DADI, D., STELLMACHER, T., SENBETA, F., VAN PASSEL, S., & AZADI, H. (2017). Environmental and health impacts of effluents from textile industries in Ethiopia: the case of Gelan and Dukem, Oromia Regional State. *Environmental monitoring and assessment*, 189(1), 11.
- DASHTBAN, M., et al. 2010. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *Int J Biochem Mol Biol*. 36-50.
- DAYI, B., KYZY, A. D., ABDULOGLU, Y., CIKRIKCI, K., AKDOGAN, H. A. 2017. Investigation of the ability of immobilized cells to different carriers in removal of selected dye and characterization of environmentally friendly laccase of *Morchella esculenta*. *Dyes and Pigments*.
- DIWANIYAN, S., KHARB, D., RAGHUKUMAR, C., & KUHAD, R. C. (2010). Decolorization of synthetic dyes and textile effluents by basidiomycetous fungi. *Water, Air, & Soil Pollution*, 210(1-4), 409-419.
- DHANJAL, N. I. K., MITTU, B., CHAUHAN, A., GUPTA, S. 2013. Biodegradation of Textile Dyes Using Fungal Isolates. *Journal of Environmental Science and Technology*. 6(2): 99-105.
- DURRUTY, I., et al. 2015. A kinetic study of textile dyeing wastewater degradation by *Penicillium chrysogenum*. *Bioprocess Biosyst Eng*. 1019-1031.
- DZIOŃEK, A., WOJCIESZYŃSKA, D., & GUZIK, U. (2016). Natural carriers in bioremediation: A review. *Electronic Journal of Biotechnology*, 23, 28-36.
- FALANI, S. Y. A., ALMEIDA, M. R., GONZÁLEZ, M. O. A., CAMPOS, M. C.,
- ROCHA, F. B. A., & DA SILVA SILVEIRA, M. L. S. (2014). Mapeamento do fluxo de valor para melhoria de processo de uma indústria têxtil. *Espacios*, 35(9).
- FENG, J., CERNIGLIA, C. E., & CHEN, H. (2012). Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 4, 568.

GADD, G. M. 2004. Mycotransformation of organic and inorganic substrates. *Mycologist*. 60-70.

GARG, S. K., & TRIPATHI, M. (2013). Process parameters for decolorization and biodegradation of orange II (Acid Orange 7) in dye-simulated minimal salt medium and subsequent textile effluent treatment by *Bacillus cereus* (MTCC 9777) RMLAU1. *Environmental monitoring and assessment*, 185(11), 8909-8923.

GHALY, A. E., et al. 2014. Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. *Chem Eng Process Technol*. 5:1.

GIARDINA, P., FARACO, V., PEZZELLA, C., PISCITELLI, A., VANHULLE, S., &

SANNIA, G. (2010). Laccases: a never-ending story. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(3), 369-385.

GOMAA, O. M., & MOMTAZ, O. A. (2015). Copper induction and differential expression of laccase in *Aspergillus flavus*. *Brazilian journal of microbiology*, 46(1), 285- 292.

GUARATINI, C. C. I, ZANONI, M. V. B. (2000). CORANTES TÊXTEIS. *Química Nova*. 23(1).

GUPTA, V. K., et al. 2015. Decolorization of mixture of dyes: A critical review. *Global Journal Environ Sci Manage*. 71-94.

HASSAN, M. A. A., LI, T. P., NOOR, Z. Z. (2009). Coagulation and flocculation treatment of wastewater in textile industry using chitosan. *Journal of chemical and Natural Resources Engineering*.43-53.

HOFRICHTER, M. 2002. Review: Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*. 454-466.

IQBAL, M., & NISAR, J. (2015). Cytotoxicity and mutagenicity evaluation of gamma radiation and hydrogen peroxide treated textile effluents using bioassays. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(3), 1912-1917.

IMMICH, A. P. S., DE SOUZA, A. A. U., & DE ARRUDA GUELLI ULSON DE

SOUZA, S. M. (2009). Adsorption of remazol blue RR from textile effluents using *Azadirachta indica* leaf powder as an alternative adsorbent. *Adsorption Science & Technology*, 27(5), 461-478.

ITO, T., et al. 2016. Long-term natural remediation process in textile dye-polluted river sediment driven by bacterial community changes. *Water Research*. 458-465.

JADHAV, S. B., PHUGARE, S. S., PATIL, P. S., JADHAV, J. P. 2011. Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol red and subsequent toxicological evaluation by

cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. *International biodeterioration & biodegradation*, 65(6), 733-743.

JOSHI, V. J., & SANTANI, D. D. (2012). Physicochemical Characterization and Heavy Metal Concentration in Effluent of Textile Industry. *Universal Journal of environmental research & technology*, 2(2).

KALME, S., ET al. (2009). Textile dye degrading laccase from *Pseudomonas desmolyticum*. NCIM 2112. *Enzyme and Microbial Technology*. 65-71.

KINNUNEN, A., MAIJALA, P., JARVINEN, P., & HATAKKA, A. (2017). Improved efficiency in screening for lignin-modifying peroxidases and laccases of basidiomycetes. *Current Biotechnology*, 6(2), 105-115.

KOYANI, R. D., DUHALT, R. V. (2016). Laccase encapsulation in chitosan nanoparticles enhances the protein stability against microbial degradation. *Environ Sci Pollut Res*.

KUNZ, A., PERALTA-ZAMORA, P., MORAES, S. G., DURÁN, N. (2002). Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Química Nova*, 25: 78-82.

KURT, E., et al. 2012. Pilot-scale evaluation of nanofiltration and reverse osmosis for process reuse of segregated textile dyewash wastewater. *Desalination*. 24-32.

KUWAHARA, M., GLENN, J.K., MORGAN, M.A., GOLD, M.H. (1984), Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS Lett.*, 169, 247– 250.

LEENEN, E. J. T. M., et al. 1996. Characteristics of and selection criteria for support materials for cell immobilization in wastewater treatment. *Water Resource*. 2985-2996.

LEME, D. M., OLIVEIRA, G. A. R. D., MEIRELES, G., BRITO, L. B., RODRIGUES, L. D. B., & PALMA DE OLIVEIRA, D. (2015). Eco-and genotoxicological assessments of two reactive textile dyes. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78(5), 287-300.

LI, Y., WANG, Z., XU, X., & JIN, L. (2015). A Ca-alginate particle co-immobilized with *Phanerochaete chrysosporium* cells and the combined cross-linked enzyme aggregates from *Trametes versicolor*. *Bioresource technology*, 198, 464-469.

LIANG, C. Z., et al. 2014. Treatment of highly concentrated wastewater containing multiple synthetic dyes by a combined process of coagulation/flocculation and nanofiltration. *Journal of Membrane Science*. 306-315.

LIU, H., et al. 2012. Reutilization of immobilized fungus *Rhizopus* sp. LG04 to reduce toxic chromate. *Journal of Applied Microbiology*. 651-659.

LOKHANDE, R. S., SINGARE, P. U., PIMPLE, D. S. 2011. Toxicity Study of Heavy Metals Pollutants in Waste Water Effluent Samples Collected from Talaja Industrial Estate of Mumbai, India. *Resources and Environment*. 1(1): 13-19.

LOPES, R. P., DE URZEDO, A. P., NASCENTES, C. C., & AUGUSTI, R. (2008). Degradation of the insecticides thiamethoxam and imidacloprid by zero-valent metals exposed to ultrasonic irradiation in water medium: electrospray ionization mass spectrometry monitoring. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22(22), 3472-3480.

LU, XUJIE et al. (2010). Textile wastewater reuse as an alternative water source for dyeing and finishing processes: A case study. *Desalination*, v. 258, n. 1-3, p. 229-232.

LUCENA, W. G. L. (2004). Uma contribuição ao estudo das informações contábeis geradas pelas micro e pequenas empresas localizadas na cidade de Toritama no agreste pernambucano. *João Pessoa*. Mallick, N. 2002. Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: A review. *BioMetals*. 377-390.

MANAI, I., et al. 2016. Industrial textile effluent decolourization in stirred and static batch cultures of a new fungal strain *Chaetomium globosum* IMA1 KJ472923. *Journal of Environmental Management*. 8-14.

MANIKANDAN, P., PALANISAMY, P. N., BASKAR, R., SIVAKUMAR, P., &

SAKTHISHARMILA, P. (2015). Physico chemical analysis of textile industrial effluents from Tirupur city, TN, India. *International Journal of advance research in Science and Engineering (IJARSE)*, 4(2), 93-104.

MARTINS, S. C. S., et al. Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater. *African Journal of Biotechnology*. 4412-4418.

MAZALI I. O., ALVES O. L. (2005). Morphosynthesis: high fidelity inorganic replica of the fibrous network of loofa sponge (*Luffa cylindrica*). *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 77:25-31.

MAZMANCI M. A., ÜNYAYAR A. (2005). Decolourisation of reactive black 5 by *Funalia troglodytes* immobilised on *Luffa cylindrica* sponge. *Process Biochem*. 40:337–42.

MOHAMMADIAN, E., AHARI, A. B., ARZANLOU, M., OUSTAN, S., KHAZAEI, S. H. 2017. Tolerance to heavy metals in filamentous fungi isolated from contaminated mining soils in the Zanzan Province, Iran. *Chemosphere*, 185, 290-296.

MOUBASHER, H., MOSTAFA, F. A., WAHSH, S., & HAROUN, O. (2017). Purification and Characterization of Lignin Peroxidase Isozymes from *Humicola grisea* (Traaen) and Its Application in Bioremediation of Textile Dyes. *Egyptian Journal of Botany*, 57(2), 335-343.

- MUSSATTO, S. I., AGUILAR, C. N., RODRIGUES, L. R., TEIXEIRA, J. A. 2009. Fructooligosaccharides and β -fructofuranosidase production by *Aspergillus japonicus* immobilized on lignocellulosic materials. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 59(1), 76-81.
- NACIRI, N., et al. (2016). Effective photocatalytic decolorization of indigo carmine dye in Moroccan natural phosphate-TiO₂ aqueous suspensions. *Optical Materials*. 38- 43.
- NADAROGLU, H., CICEK, S., GUNGOR, A. A. 2017. Removing Trypan blue dye using nano- Zn modified Luffa sponge. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 172, 2-8.
- NGUYEN, T., & SALEH, M. A. (2016). Detection of azo dyes and aromatic amines in women undergarment. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 51(9), 744-753.
- NIEBISH, C. H., et al. 2010. Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus*. Extracellular extract. *Journal of Hazardous Materials*. 316-322.
- NOUREN, S., BHATTI, H. N. 2015. Mechanistic study of degradation of basic violet 3 by Citrus limon peroxidase and phytotoxicity assessment of its degradation products. *Biochemical Engineering Journal*, 95, 9-19.
- ONG, Y. K., et al. 2014. Nanofiltration hollow fiber membranes for textile wastewater treatment: Lab-scale and pilot-scale studies. *Chemical Engineering Science*. 51- 57.
- OTTONI, C., LIMA, L., SANTOS, C., & LIMA, N. (2014). Effect of Different Carbon Sources on Decolourisation of an Industrial Textile Dye Under Alkaline–Saline Conditions. *Current microbiology*, 68(1), 53-58.
- PAIVA, T., SILVA, P., ANTERINO, S., ZOBY, L., FERREIRA, J., & MOTTA, M. (2014). Estudo comparativo de adsorção de corante têxtil utilizando carvão ativado e conchas de ostras *crassostrea rhizophorae*.
- PAPIC, S., et al. 2004. Removal of some reactive dyes from synthetic wastewater by combined Al(III) coagulation/carbon adsorption process. *Dyes and Pigments*. 291-298.
- PATEL, H., VASHI, R. T. 2010. Treatment of textile wastewater by adsorption and coagulation. *E- Journal of Chemistry*. 1468-1476.
- POULOS, T. L., et al. 1993. Crystallographic refinement of lignina peroxidase at 2 Å. *The Journal of Biological Chemistry*. 4429-4440.
- PIONTEK, K., ANTORINI, M., CHOINOWSKI, T. 2002. Crystal structure of a laccase from the fungus *Trametes versicolor* at 1.90Å resolution containing a full complement of coppers. *The Journal of Biological Chemistry*.

PRABHA, S., GOGOI, A., MAZUMDER, P., RAMANATHAN, A. L., & KUMAR, M. (2017). Assessment of the impact of textile effluents on microbial diversity in Tirupur district, Tamil Nadu. *Applied Water Science*, 7(5), 2267-2277.

RAUL, M. A., MEETANI, M. A., HISAINDEE, S. 2011. An overview on the photocatalytic degradation of azo dyes in the presence of TiO₂ doped with selective transition metals. *Desalination*. 276. 13-27.

RIVERA-HOYOS, C. M., et al. 2013. Fungal laccases. *British Mycological Society*. 67-82.

ROBINSON, T., MCMULLAN, G., MARCHANT, R., NIGAM, P. 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology* 77: 247-255.

RODRIGUEZ-COUTO, S., SANROMÁN, M. A., HOFER, D., GUBITZ, G. M. 2004. Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilization of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. *Bioresourch Technology*. 95: 67-72.

RODRIGUEZ-COUTO, S. (2012). A promising inert support for laccase production and decolouration of textile wastewater by the white-rot fungus *Trametes pubescens*. *Journal of hazardous materials*, 233, 158-162.

ROVERE, LA., ET AL. 2006. Quando o apito, na fábrica de tecidos, deixa de ferir nossos ouvidos: automação, desemprego e qualificação na indústria têxtil brasileira nos anos 90. *Revista Economia*, maio/ago.

RYBERG, K., GOOSSENS, A., ISAKSSON, M., GRUVBERGER, B., ZIMERSON, E.,

NILSSON, F., ... & BRUZE, M. (2009). Is contact allergy to disperse dyes and related substances associated with textile dermatitis?. *British Journal of Dermatology*, 160(1), 107-115.

SABUR, M. A., KHAN, A. A., SAFIULLAH, S. 2012. Treatment of textile wastewater by coagulation precipitation method. *Journal of Scientific Research*. 623-633.

SANDHYA, S., SARAYU, K., SWAMINATHAN, K. 2008. Determination of kinetic constants of hybrid textile wastewater treatment system. *Bioresource Technology*. 99: 5793- 5797.

SAHINKAYA, S. 2013. COD and color removal from synthetic textile wastewater by ultrasound assisted electro-Fenton oxidation process. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 601-605.

SARATALE, G. D., et al. 2011. Fixed-bed decolorization of Reactive Blue 172 by *Proteus vulgaris* NCIM-2027 immobilized of *Luffa cylindrica* sponge. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 494-503.

SAROJ, S., et al. 2015. Evaluation of the efficacy of a fungal consortium for degradation of azo dyes and simulated textile dye effluents. *Sustain Water Resour Manag.* 233-243.

SEN, S., DEMIRER, G. N. 2003. Anaerobic treatment of real textile wastewater with a fluidized bed reactor. *Water Research.* 1868-1878.

SENTHILKUMAR, S., PERUMALSAMY, M., & PRABHU, H. J. (2014). Decolourization potential of white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* on synthetic dye bath effluent containing Amido black 10B. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(6), 845-853.

SI, J., PENG, F., & CUI, B. (2013). Purification, biochemical characterization and dye decolorization capacity of an alkali-resistant and metal-tolerant laccase from *Trametes pubescens*. *Bioresource technology*, 128, 49-57.

SINGH, L., SHARMA, P., & PAVANKUMAR, A. R. (2015). Chemical Oxygen Demand Elimination and Decolorization of Textile Industrial Effluent by an Indigenous Fungal Species *Aspergillus foetidus*. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 43(3), 456-461.

SOWADA, J., SCHMALENBERGER, A., EBNER, I., LUCH, A., & TRALAU, T. (2014). Degradation of benzo [a] pyrene by bacterial isolates from human skin. *FEMS microbiology ecology*, 88(1), 129-139.

SPONZA, D. T. 2006. Toxicity studies in a chemical dye production industry in Turkey. *Journal of Hazardous Materials.* 438-447.

STELLA, T., COVINO, S., ČVANČAROVÁ, M., FILIPOVÁ, A., PETRUCCIOLI, M., D'ANNIBALE, A., CAJTHAML, T. 2017. Bioremediation of long-term PCB-contaminated soil by white-rot fungi. *Journal of hazardous materials*, 324, 701-710.

SUNDARAMOORTHY, M., et al. 2005. High-resolution crystal structure of manganese peroxidase: Substrate and inhibitor complexes. *Biochemistry.* 6463-6470.

TEUNISSEN, P. J. M., FIELD, J. A. 1998. 2-Chloro-1,4-dimethoxybenzene as a mediator of lignin peroxidase catalyzed oxidations. *FEBS.* 219-223.

TIEN M, KIRK TK. 1988 – Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods in Enzymology.* 161, 238–248.

TSUBOY, M. S., ANGELI, J. P. F., MANTOVANI, M. S., KNASMÜLLER, S.,

UMBUZEIRO, G. A., & RIBEIRO, L. R. (2007). Genotoxic, mutagenic and cytotoxic effects of the commercial dye CI Disperse Blue 291 in the human hepatic cell line HepG2. *Toxicology in vitro*, 21(8), 1650-1655.

TUOR, U., WINTERHALTER, K., & FIECHTER, A. (1995). Enzymes of white-rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. *Journal of Biotechnology*, 41(1), 1-17.

- TIQUIA, S. M., TAM, N. F. Y., HODGKISS, I. J. 1996. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. *Environmental Pollution*. V. 93, 3: 249-256.
- VASSILEV, N., VASSILEVA, M., FENICE, M., & FEDERICI, F. (2001). Immobilized cell technology applied in solubilization of insoluble inorganic (rock) phosphates and P plant acquisition. *Bioresource Technology*, 79(3), 263-271.
- VERMA, A. K., DASH, R. R., BHUNIA, P. 2012. A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of color from textile wastewater. *Journal of Environmental Management*. 154-168.
- VIANA, M. A., et al. (2018). Pegada hídrica em indústria de beneficiamento de jeans no Agreste Pernambucano. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 3(1), 061-068.
- WARING, D. R., & HALLAS, G. (Eds.). (2013). *The chemistry and application of dyes*. Springer Science & Business Media.
- WEBER, E. J., STICKNEY, V. C. 1993. Hydrolysis kinetics of reactive blue 19 – Vinyl Sulfone. *Water Research*. V 27. 63-67.
- WESENBERG, D., KYRIAKIDS, I., AGHATOS, S. N. 2003. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnology Advances*. 161-187.
- WONG, D. W. S. 2009. Structure and action mechanism of Ligninolytic enzymes. *Appl Biochem Biotechnol*. 174-209.
- WONG, K. S., HUANG, Q., AU, C. H., WANG, J., & KWAN, H. S. (2012). Biodegradation of dyes and polyaromatic hydrocarbons by two allelic forms of *Lentinula edodes* laccase expressed from *Pichia pastoris*. *Bioresource technology*, 104, 157-164.
- YADAV, A., MUKHERJI, S., GARG, A. 2013. Removal of chemical oxygen demand and color from simulated textile wastewater using a combination of chemical/physicochemical processes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*.
- YAGUB, M. T., SEN, T. K., AFROZE, S., ANG, H. M. 2014. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review. *Adv Colloid Interfac*. 209:172–184.
- YANG, P., SHI, W., WANG, H., & LIU, H. (2016). Screening of freshwater fungi for decolorizing multiple synthetic dyes. *brazilian journal of microbiology*, 47(4), 828-834.
- YAO, J., et al. 2013. Rapid decolorization of azo dyes by crude manganese peroxidase from *Schizophyllum* sp. F17 in solid-state fermentation. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 868-877.
- ZAHMATKESH, M., SPANJERS, H., VAN LIER, J. B. 2017. A novel approach for application of white rot fungi in wastewater treatment under non-sterile conditions: immobilization of fungi on sorghum. *Environmental technology*, 1-11.

ZHANG, Y., WANG, T. 2010. Profitability and Productivity of the Chinese Textile industry. *China & World Economy*. 1 – 21, Vol. 18, No. 5.

ZHANG, H., et al. 2016. Characterization of a manganese peroxidase from white-rot fungus *Trametes* sp.48424 with strong ability of degrading different types of dyes and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Hazardous Materials*. (320). 265–277.

ZHANG, Y. H., LYU, S. S., LIU, S. T., CHEN, Y. X., QIN, W. L., YE, Y., CHEN, X. G. 2017. Thermal destruction of luffa sponge under air and nitrogen. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 128(1), 53-60.

ZHOU, L., et al. 2008. Recent patents on immobilized microorganism technology and its engineering application in wastewater treatment. *Recent Patents on Engineering*. 28-35.

Livros:

GURSES, A. et al. (2016). *Dyes and Pigments*. Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability. Pp 31-45.

HUNGER, K. (Ed.). (2007). *Industrial dyes: chemistry, properties, applications*. John Wiley & Sons.

Capítulos de livros:

ALMEIDA, M. (2016). Understanding incentives for clustered firms to control pollution: The case of the jeans laundries in Toritama, Pernambuco, Brazil. In *Upgrading Clusters and Small Enterprises in Developing Countries* (pp. 119-146). Routledge.

GIANFREDA, L., RAO, M. A., SCELZA, R., & DE LA LUZ MORA, M. (2016). Role of Enzymes in Environment Cleanup/Remediation. In *Agro-Industrial Wastes as Feedstock for Enzyme Production* (pp. 133-155).

NOACK, S. (2011). Cleaner production in jeans laundries in Northeast Brazil. In *Implementing Environmental and Resource Management* (pp. 79-89). Springer, Berlin, Heidelberg.

XAVIER, M. G. P. (2012) Technology, Innovation, and Environmental Preservation: Jeans Laundries in a Peripheral Region in Toritama City, Brazil. In: *IBEA Conference 2011 Proceedings: Innovation and Integration-Science, Technology and Policy in the Built Environment*. 2012. p. 36.

Documentos eletrônicos:

Brasil. CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2011. Resolução N° 430. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 10 outubro 2017.

CPRH. 2013. Disponível em [http://www.cprh.pe.gov.br/monitoramento/bacias_hidrograficas/39709%3B52 052%3B1702%3B0%3B0.asp](http://www.cprh.pe.gov.br/monitoramento/bacias_hidrograficas/39709%3B52%20052%3B1702%3B0%3B0.asp)>. Acesso em: 20/05/2016.

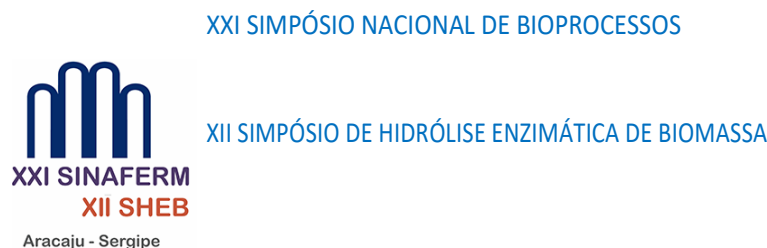
IEMI. 2013. Relatório Setorial da Indústria Têxtil Brasileira. Disponível em <http://www.iemi.com.br/press-release-iemi-lanca-relatorio-setorial-da-industria-textil-brasileira/>>. Acesso em: 20/11/2016.

MTE. Ministério do Trabalho e Emprego. Banco de dados Rais/Caged. Disponível em: <http://portal.mte.gov.br/portal-pdet>>. Acesso em 28 nov. 2016.

PEDESENVOLVIMENTO. Disponível em: <http://pedesenvolvimento.com/2010/10/10/polo-de-confeccoes-entra-na-web/>>. Acesso em: 01 dez. 2016.

Sigma–Aldrich. 2016. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/Lookup>>. Acesso em: 15 dezembro 2016.

APÊNDICE A – RESUMO EXPANDIDO SUBMETIDO AO XXI SINA Ferm/XXI SHEB



3 a 6 de setembro de 2017 Aracaju, Sergipe, Brasil

INDIGO CARMINE TREATMENT FOR INDIGENOUS FILAMENTAL FUNGI

Augusto Ferraz da Silva Rosa¹, Celso Henrique Jorge Costa², Norma Buarque de Gusmão¹, Rita de Cássia Mendonça de Miranda²

¹Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos.

²Universidade Ceuma, Mestrado em Meio Ambiente. Email: ritamend30@gmail.com

ABSTRACT

The textile industry contributes to environmental contamination by producing dyes that often have carcinogenic or mutagenic properties. In this way, studies using fungi for the degradation of dyes have advanced due to the ability to degrade different recalcitrant compounds. The present work evaluated the potential of ten isolates of filamentous fungi (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) for the treatment of Indigo carmine dye in static flasks aiming the removal of dye in Concentration of 5.0 mg/L. Discoloration tests were carried out in triplicate for seven days, with samples of the 1st, 4th and 7th days and their filtrate passed through enzymatic and protein analysis. The best means of dye removal belonged to fungi 3 and 8 that removed 89.4% and 86.5%, respectively. Lacase, Lignin and Manganese enzymes were quantified, resulting in peaks of 94912 U/L and 106786 U/L for laccase and manganese from the treatment of fungus 8. The enzyme/protein ratio of fungus 8 showed a good laccase production (1062,6 IU/mg/L) and Manganese Peroxidase (4517 IU/mg/L). Fungi 3 and 8 were considered viable for future experiments on dye biodegradation.

INTRODUCTION

Industrial effluents contain substances generated from the processing of raw materials that use a large amount of water where they cause damages when released to the environment because they are considered harmful. As for the textile industry, this problem is even greater due to the expansion of this sector in the world and the variability of dyes and pigments. Synthetic dyes are

widely used in tissue processing and their effluent disposal entails a true environmental imbalance due to high concentration and toxicity (Bedoui et al., 2015). Indigo Carmine dye is highly toxic to the class of indigo dyes. Contact with it may cause skin and eye irritation, as well as permanent damage to the cornea and conjunctiva, and may cause long-term reproductive, developmental and neuronal toxicity when ingested (Naciri et al., 2016). Because of this, the use of fungi in bioremediation is recommended because they have a rapid capacity to adapt their metabolism to different sources of carbon and energy, causing them to survive different conditions. This condition is directly linked to the production of a large number of non-specific enzymes capable of degrading polymers of plant origin as well as a wide variety of other similar organic molecules (Saroj et al., 2015).

MATERIAL EMETHODS

Fungi

Foram avaliados 10 fungos filamentosos de diferentes espécies e sua capacidade em descolorir corante Índigo Carmim, mantidos no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial – LAMAI. Os fungos foram isolados da água e estocados na Micoteca URM e LAMAI, localizados na Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Dye

O corante utilizado foi o Índigo Carmim (P.A.) de peso molecular: 466.36 g/mol. Obtido comercialmente da empresa Vetec (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Missouri, USA Aldrich).

Dye discoloration test by filamentous fungi

The fungi (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) were grown in Sabouraud agar and subjected to discoloration test in Erlenmeyer flasks (250 mL) containing 50 mL of Kirk's medium Yeast 0.1 g/L, KH₂PO₄ 0.2 g/L, MgSO₄ 0.05 g/L, MnSO₄ 0.016 g/L, CuSO₄ 0.049 g/L,

L, distilled water 1000 ml) at pH 7, each vial was inoculated with Three fungal agar blocks and Indigo Carmine dye (50 mg/L - 0.3%). Erlenmeyer flasks containing only medium with dye (negative control) were also included, all flasks were incubated in incubator type B.O.D. At 30 °C for seven days. The discoloration rate was monitored on the 1st, 4th and 7th days and was expressed by the formula: *Descoloração*

$$(\%) = (AbsT0 - AbsTx) / AbsT0 \times 100$$

Where (AbsT0) indicates the initial absorbance and (AbsTx) indicates the absorbance at each time. 610 nm wavelength readings were taken. The wavelength range was fixed by the maximum absorption of the dye in the visible region.

Enzyme and protein dosage of the dye

Aliquots of the filtrate were collected for enzymatic dosing and determination of enzymatic dosages by spectrophotometry of Lacase, Lignin Peroxidase (LiP) and Manganese Peroxidase (MnP). The enzymatic Laccase dosage of the textile dye discoloration was measured at 420 nm in three times (0, 5 and 10 minutes). It consisted of a reaction containing: 100 µl 100 mM Sodium Acetylated Buffer (Temperature 30°C and pH 5.0); 100 µl of enzyme extract; 800 µl of ABTS 0.03% (v / v). For LiP it was performed at 310 nm with a reaction of: 1000 µL Sodium Tartrate buffer pH 3.0; 500 µl of 10 mM Veratryl Alcohol; 500 µL of H₂O₂ at 2 mM and 500 µL of enzyme extract. Dosing was performed in two times (0 and 5 minutes). The enzymatic dosage of MnP was performed at 610 nm and consisted of a reaction containing: 250 µL of enzymatic extract; 100 µl of 10 mM Phenol Red; 50 µl of 0.001 M Manganese Sulfate; 50 µL of Hydrogen Peroxide (H₂O₂) at 2 mM. The reaction was incubated for 10 minutes at 30°C and quenched with 100 µL of 2 M NaOH. The protein dosage was performed by the method of Bradford (1976) containing in the reaction: 50 µL of enzymatic extract; 350 µL of distilled water; 100 µl of Bradford's reagent where the reactions were performed in duplicate and waited 5 minutes to be read in a spectrophotometer at 595 nm. Samples of the 1st, 4th and 7th days were dosed under aseptic conditions. At all dosages the blank consisted of the replacement of the enzymatic extract with distilled water.

RESULTS E DISCUSSION

Fungi 3 and 8 had the highest discoloration rates at day 7: 89.4% and 86.5%, respectively. Fungi 1, 4 and 5 discolored at the end of the experiment 56.7%, 59% and 51.7%, in that order. The others had no significant discoloration values because they presented a final discoloration rate <50% (Figure 1). Lu et al. (2016) obtained on the 4th day by the fungus *Ganoderma* sp. Discoloration above 90% of Indigo Carmine dye under agitation where the conditions used favored higher yield and high cost, while the present work aimed at the low cost biodegradation.

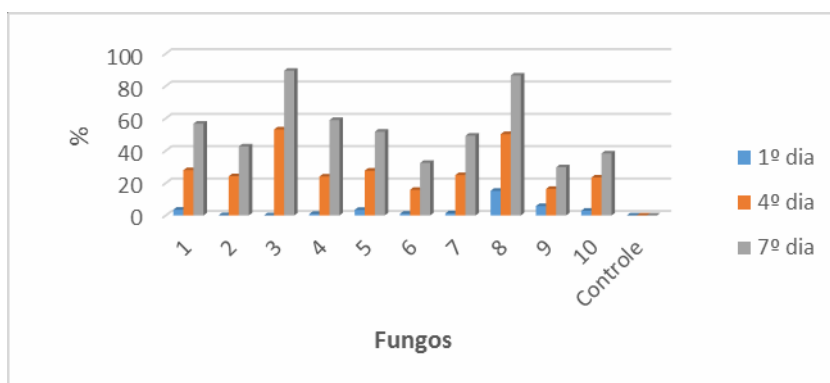


Figure 1. Graph of percent discoloration of the textile dye Indigo Carmine.

The fungus 8 obtained peaks of 9×10^5 u / L for Laccase and 10×10^5 u / L for MnP. Miranda et al. (2013) obtained from *C. lunata* and *P. chrysosporium* peaks of Lacase (max. 2100 U / L) and MnP (max. 474 U / L) in the treatment of effluent containing Indigo Carmine. The total protein dosage in this study showed peaks on the 1st day of fungus 3 discoloration (144.1 u / L) and 8 (89.3 u / L) fungi. The total enzyme / protein ratio of fungus 8 was laccase (1062.6 IU / mg / L) and MnP (4517 IU / mg / L) as shown in figure 2. The other fungi did not present results that corroborate with the literature. The values obtained in the quantification of lignin for all fungi were shown to be below the expected values. The difference between the values found in this work through the literature consulted can be explained by the nature of the effluent and the addition of salts that facilitate the process of degradation of the dye in the liquid medium.

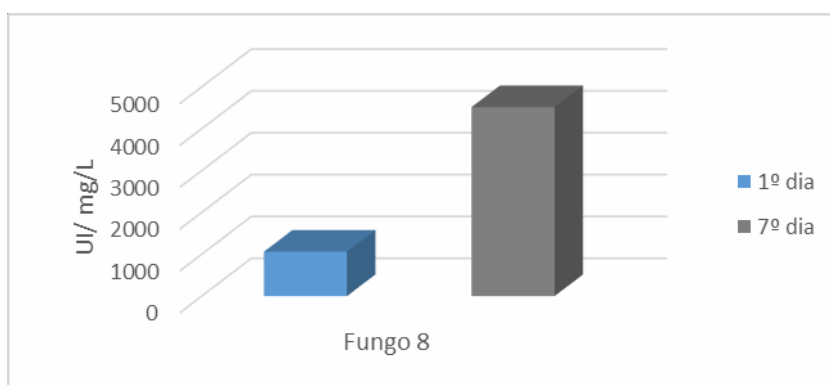


Figure 2. Laccase/Protein maximum production ratio in the first day of treatment and the maximum MnP/ Protein production on the seventh day by the fungus 8.

CONCLUSION

Fungi 3 and 8 were efficient in the discoloration of Indigo Carmine under the experimental conditions tested. The fungus 8 was identified as *Scytinostroma duriusculum* and obtained a high performance in the discoloration and high enzymatic production, being indicated in this work as a very promising species for later studies, due to the apparent absence of bioremediation works of this fungus.

REFERENCES

- Bedoui, A., Tigini, V., Ghedira, K., Varese, G.C., Ghedira, L.C., 2015. Evaluation of an eventual ecotoxicity induced by effluents using a battery of biotests. *Environ Sci Pollut Res.* 22, 16700- 16708.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 7, 248-254.
- Lu, R., Ma, L., He, F., Yu, D., Fan, R., Zhang, Y., Long, Z., Zhang, X., Yang, Y., 2016. White-rot fungus *Ganoderma* sp.En3 had a strong ability to decolorize and to let are the anthraquinone, indigo and triphenylmethane dye with high concentrations. *Bioprocess Biosyst Eng.* 39, 381- 390.
- Miranda, R.C.M., Gomes, E.B., Jr, N.P., Marin-Morales, M.A., Machado, K.M.G., Gusmão, N.B., 2013. Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by *Curvularia lunata* URM 6179 and *Phanerochaete chrysosporium* URM 6181. *Bioresour Technol.* 142, 361-367.
- Naciri, N., Farahi, A., Rafqah, S., Nasrellah, H., Abderrahim, M., Mhammedi, E., Lançar, I., Bakasse, M., 2016. Effective photocatalytic decolorization of indigo carmine dye in Moroccan natural phosphate-TiO₂ aqueous suspensions. *Opt Mater.* 52, 38-43.
- Saroj, S., Dubey, S., Agarwal, P., Singh, R.P.R.P., 2015. Evaluation of the efficacy of a fungal consortium for degradation of azo dyes and simulated textile dye effluents. *Sustain Water Resour Manag.* 1, 233-243.