



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DESCOLORAÇÃO DE CORANTE INDUSTRIAL TÊXTIL POR
***Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703**

MARCELLA CARDOSO LEMOS DE OLIVEIRA

RECIFE
MARÇO / 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARCELLA CARDOSO LEMOS DE OLIVEIRA

**DESCOLORAÇÃO DE CORANTE INDUSTRIAL TÊXTIL POR *Pseudomonas*
oleovorans CBMAI 0703**

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, na área de Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Lúcia Figueiredo Porto

Co-Orientadora: Dr^a Tatiana Souza Porto

RECIFE
MARÇO / 2010

Oliveira, Marcella Cardoso Lemos de
Descoloração de corante industrial têxtil por *Pseudomonas*
***oleovorans* CBMAI 0703 / Marcella Cardoso Lemos de Oliveira. – Recife: O**
Autor, 2010.

60 folhas : fig., tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCB. Pós-Graduação em Ciências Biológicas,
2010.

Inclui bibliografia e anexos.

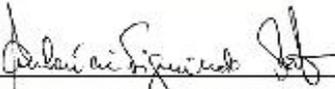
1. Biodegradação 2. Bactérias 3. Indústria têxtil 4. Corantes I.
Título.

620.11223

CDD (22.ed.)

UFPE/ CCB – 2010- 104

TITULARES



Profª Drª Ana Lúcia Figueiredo Porto (Orientadora)
UFRPE / LIKA

Profª Drª Leonie Asforra Sarubbo
Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), Recife, PE



Profª Drª Maria Taciana Cavalcanti Vieira Soares
UFRPE, Recife, PE

SUPLENTE

Profª Drª Kella Aparecida Moreira
UFRPE / Unidade Acadêmica de Garanhuns, Garanhuns, PE

As minhas sempre amadas avós Maria José

Monteiro e Edite Tavares (in memoriam).

A vovô Amaro e vovó Eulália!

Santa Rita, valioso auxílio em todas as necessidades, rogai por nós!
(Ladainha à Santa Rita – Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu força, coragem e fé para enfrentar todos os obstáculos que encontrei ao longo destes anos.

Aos meus pais Walter e Rozenita e minhas irmãs Gabriela e Daniella, por toda paciência, paciência, paciência e amor dedicado a mim.

À toda a minha família, em especial meus tios Jairo e Rozita, e minha tia Maria Helena Lemos. Todos os meus primos e primas, representados por Wagner Lemos, que mesmo longe, sempre me incentiva a seguir em frente.

À Prof^a Dr^a Ana Lúcia Figueiredo Porto, pela oportunidade e incentivo dados para o ingresso na pesquisa científica e pelas orientações durante o curso. Também pelo carinho, amizade, pelas palavras amigas que orientaram muito mais além que questões científicas.

Ao Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho, Diretor do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA, por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho com a infra-estrutura deste laboratório.

À Dr^a Tatiana Souza Porto, pela atenção, paciência e orientação com os planejamentos e as análises estatísticas.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (PPGCB), pela amizade e conhecimentos transmitidos durante o curso, em especial a coordenadora Prof^a Dr^a Maria Tereza dos Santos Correia.

A todos os amigos do PPGCB, em especial, Nina Mota, Carol Wanderley, Daniel Amaral, Marília Coriolano, Manuela Souza, Jailson Oliveira, Lidiane Feitosa, Isabel Renata, Artur Felipe, Virgínia Svedese e todos os demais da turma de 2008. Obrigada pela amizade e pela possibilidade de aprender um pouco mais com cada um de vocês.

A Adenilda Eugênia, secretária do PPGCB, por todo carinho e atenção, e pela ajuda em todas as horas.

Aos amigos do LIKA, Germana Silva, Carolina Albuquerque, Petrus Marques, Danielle Padilha, Pabyton Cadena, Roberto Afonso, Elaine Virgínia pelo carinho, atenção e pelos momentos divertidos no Laboratório de Biotecnologia.

Agradeço especialmente minha amiga Giselle Dias, que foi muitas vezes meu anjo da guarda, e esteve sempre comigo nos momentos mais duros dessa fase.

Ao colega Edgar Silveira, pelo valioso auxílio na realização deste trabalho. E a todos os colegas do Grupo Ana Porto.

Agradeço a Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida que permitiu a realização desse trabalho.

E por fim, a todos aqueles que não acreditaram no meu potencial, pois estes, direta ou indiretamente contribuíram para que eu viesse conquistar mais essa etapa, meus sinceros agradecimentos.

OBRIGADA!

SUMARIO

| | |
|--|-----|
| LISTA DE FIGURAS | i |
| LISTA DE TABELAS | ii |
| LISTA DE ABREVIATURAS | iii |
| RESUMO | iv |
| ABSTRACT | v |
| INTRODUÇÃO | 1 |
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 2 |
| 1. Corantes | 2 |
| 1.1. Considerações Gerais..... | 2 |
| 1.2. Estrutura e Classificação..... | 3 |
| 2. Indústria Têxtil | 5 |
| 2.1. O Processo Industrial..... | 5 |
| 2.2. Efluentes têxteis..... | 7 |
| 3. Tratamento dos Efluentes | 8 |
| 3.1. Métodos Químicos | 9 |
| 3.1.1. Processos Oxidativos..... | 9 |
| 3.1.2. Eletrólise | 10 |
| 3.2 Métodos Físicos..... | 11 |
| 3.2.1 Coagulação e Floculação..... | 11 |
| 3.2.2. Tecnologia de Membranas | 11 |
| 3.2.3. Adsorção..... | 12 |
| 3.3 Métodos Biológicos | 12 |
| 4. <i>Pseudomonas oleovorans</i> | 13 |
| REFERÊNCIAS | 15 |
| OBJETIVOS | 23 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 | 24 |
| DESCOLORAÇÃO DE CORANTE INDUSTRIAL TÊXTIL POR <i>Pseudomonas oleovorans</i> CBMAI 0703 | |
| Resumo | 25 |
| Abstract | 26 |
| 1. Introdução..... | 27 |
| 2. Materiais e Métodos..... | 28 |
| 2.1. Microrganismo | 28 |
| 2.2. Corantes e Reagentes | 29 |
| 2.3. Condições da Cultura para descoloração..... | 29 |
| 2.4. Efeito de altas concentrações de corante..... | 30 |
| 2.5. Determinação da descoloração..... | 30 |
| 3. Resultados e Discussão..... | 31 |
| Agradecimentos..... | 36 |
| Referências | 36 |
| Legenda de Figuras..... | 39 |
| Legenda de Tabelas | 40 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 47 |
| ANEXOS | 48 |
| Normas para publicação da <i>Journal Hazardous Materials</i> | |

LISTA DE FIGURAS**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Figura 1. Estrutura molecular dos principais grupos cromóforos..... 4

CAPÍTULO 1

Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos principais tendo como variável resposta a descoloração de corante têxtil por *P. oleovorans* após 48 horas ($p = 0,05$). (1) Inóculo; (2) Concentração de corante; (3) Temperatura. 41

Figura 2. Gráfico de cubo das variáveis (inóculo, concentração de corante e temperatura) tendo como variável resposta a descoloração. 42

Figura 3. Percentual de descoloração em diferentes concentrações de corante. 43

LISTA DE TABELAS**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Classificação dos corantes e pigmentos segundo a utilização por substrato (ABQUIM, 2009). | 4 |
| Tabela 2. Estimativa do grau de fixação para diferentes corantes nas fibras e sua perda para efluente (O'NEILL, 1999). | 6 |
| Tabela 3. Características de alguns processos de separação por membrana com aplicações industriais (KUNZ et al., 2002). | 12 |

CAPÍTULO 1

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Níveis das variáveis do planejamento fatorial 2^3 utilizadas na descoloração do corante B15 pela <i>P. oleovorans</i> | 44 |
| Tabela 2. Planejamento fatorial completo 2^3 e valores obtidos na descoloração (%) do corante têxtil por <i>P. oleovorans</i> após 48 horas de cultivo..... | 45 |
| Tabela 3. Descoloração de corantes têxteis utilizando bactérias..... | 46 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-------|-------------------------------|
| AOX | Haleto orgânicos absorvíveis |
| DBO | Demanda biológica de oxigênio |
| DQO | Demanda química de oxigênio |
| E_0 | Potencial de oxidação |

RESUMO

A indústria têxtil consome grande quantidade de água e produtos químicos, gerando efluentes, os quais são fortemente coloridos, devido à baixa eficiência de fixação dos corantes às fibras dos tecidos, gerando resíduos que contaminam diretamente a água e o solo. Devido ao fato dos métodos físico-químicos tradicionais para a eliminação dos corantes serem caros e às vezes causarem problemas de poluição secundária, a utilização de *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703 demonstrou ser uma alternativa promissora para utilização no processo de descoloração dos corantes têxteis. Para o estudo de descoloração do corante azo B15 foi utilizado um planejamento fatorial completo (2^3), onde foram avaliadas as variáveis, concentração do inóculo, temperatura e concentração do corante. Após 48 horas de cultivo, a eficiência máxima de descoloração do corante foi de 95,32% (60mg/L de corante, 34°C, 0,17g de inóculo). As águas residuais dos processamentos têxteis são altamente coloridas, possuindo uma concentração na faixa de 10-200 mg/L. Para avaliar o efeito de altas concentrações de corante na descoloração foi realizado um ensaio utilizando as condições ideais de temperatura e inóculo em diferentes concentrações de corante (60 a 200mg/L). Desta forma, *P. oleovorans* CBMAI 0703 demonstrou grande potencial para aplicação no processo de descoloração de efluentes têxteis contaminados, permitindo a recuperação de ambientes naturais degradados.

Palavras-chave: *Pseudomonas oleovorans*, corantes têxteis, descoloração, corante azo.

ABSTRACT

The textile industry consumes large quantities of water and chemicals, generating effluents, which are highly colored due to the low efficiency of attachment of dyes to the fibers of the fabric, directly generating wastes that contaminate water and soil. Because of the traditional physical-chemical methods for the dyes removal are expensive and sometimes cause problems of secondary pollution, the use of *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703 proves to be a promising alternative to using the process of decolorization of textile dyes. To study the decolorization of azo dye B15 was used a full factorial design (2^3), where parameters were considered, inoculum concentration, temperature and concentration of dye. After 48 hours of culture, maximum efficiency of discolouration of the dye was 95.32% (60mg/L of dye, 34°C, 0.17 g of inoculum). Wastewaters from textile processing are highly colored, having a concentration in the range of 10-200 mg / L. To evaluate the effect of high concentrations of dye decolorization was conducted in a test using the optimal conditions of temperature and inoculum and different dye concentrations (60 to 200 mg/L). Thus, *P. oleovorans* CBMAI 0703 showed great potential for application in the decolorization of textile effluents contaminated, allowing the recovery of degraded natural environments.

Key words: *Pseudomonas oleovorans*, textile dye, decolorization, azo dye.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os problemas ambientais têm se tornado cada vez mais críticos e freqüentes, principalmente devido ao desmedido crescimento populacional e ao aumento da atividade industrial (KUNZ et al., 2002). A rápida industrialização e urbanização resultam em uma grande descarga de resíduos para o meio ambiente (SENAN & ABRAHAM, 2004).

Dentre os vários setores industriais responsáveis pela poluição, o setor de acabamento têxtil merece destaque devido ao grande consumo de água e produtos químicos usados durante o processo de tingimento de seus tecidos, produzindo desta maneira, efluentes altamente coloridos (BARRETO, 2006).

Desde 1856, quando o primeiro corante sintético foi descoberto, mais de 100.000 novos corantes foram produzidos. Estes são usados em diferentes indústrias, incluindo cosmética, papelaria, farmacêutica, alimentícia e têxtil, com consumo anual de cerca de 0,7 milhões de toneladas (ASAD et al, 2007).

Estima-se que pelo menos 20% dos corantes têxteis sejam descartados em efluentes, devido a perdas durante o processo de fixação da tintura às fibras (ZANONI & CARNEIRO, 2001). A escala do problema é ressaltada pela observação da produção anual de corantes (PEARCE et al, 2003).

Tecnologias físico-químicas de remoção de corantes são caras e comercialmente pouco atraentes. Assim os processos biológicos proporcionam uma alternativa, por serem mais rentáveis e ambientalmente favoráveis (KALYANI et al., 2009).

Vários microrganismos incluindo, fungos, bactérias, leveduras e algas podem descolorir e até mineralizar completamente os corantes (VANDEVIVERE et al, 1998; PANDEY et al., 2007; McMULLAN et al, 2001). A descoloração de corantes usando espécies de *Pseudomonas* como biocatalisadores tem se mostrado um sistema efetivo para a eliminação de corantes como demonstrado por Silveira et al. (2009).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi descolorir corante têxtil por *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Corantes

1.1. Considerações Gerais

Corantes e pigmentos orgânicos podem ser definidos como substâncias intensamente coloridas que, quando aplicadas a um material, lhe conferem cor. Os corantes são retidos no material por adsorção, solução, retenção mecânica ou por ligações químicas iônicas ou covalentes; já os pigmentos, por serem geralmente insolúveis em água, são usualmente aplicados por meio de veículos (excipientes líquido) (ABIQUIM, 2009).

A importância dos corantes para a civilização humana é evidente e bem documentada (ULSON DE SOUZA et al., 2007). O homem utiliza as cores há mais de 20 mil anos, sendo o Negro-de-Fumo (Carbon Black), o primeiro corante a ser conhecido pela humanidade (ABIQUIM, 2009).

Até a metade do Século XIX, todos os corantes eram derivados de folhas, ramos, raízes, frutos ou flores de várias plantas e de substâncias extraídas de animais. Muitos corantes naturais utilizados na antiguidade ainda são empregados em larga escala, como é o caso do Índigo, pigmento azul extraído da *Indigofera tinctoria* L.; da Alizarina, extraída da raiz de *Rubia tinctorum* L. e da Henna, extraída de *Lawsonia inermis*, utilizada na indústria de cosméticos (GUARATINI & ZANONI, 2000; QMCWEB, 2009).

Em 1856, o químico William Henry Perkin descobriu acidentalmente o primeiro corante sintético comercialmente bem sucedido (WESENBERG et al, 2003). O corante chamado de Malva foi obtido como produto da reação da fenilamina (C_6H_7N) com o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), como um precipitado de coloração vermelha (ABIQUIM, 2009).

No fim do Século XIX, fabricantes de corantes se estabeleceram na Alemanha, Inglaterra, França e Suíça, suprimindo as necessidades das indústrias que, na época, fabricavam tecidos, couro e papel (ABIQUIM, 2009), tendo sido

mais de dez mil corantes desenvolvidos e fabricados sinteticamente (WESENBERG et al, 2003). Estima-se que cerca de 10^9 kg toneladas são produzidas anualmente em todo o mundo (ZOLLINGER, 1987, McMULLAN et al., 2001; DOS SANTOS et al., 2007). Desde 1995, a China tem sido o principal produtor de corantes, ultrapassando 200 mil toneladas por ano (ISHIKAWA et al., 2000), o Brasil aparece com uma produção de 54 mil toneladas por ano (BARRETO, 2006).

Os corantes podem ser classificados pelas suas estruturas químicas ou com o método de aplicação a que se destinam (ABIQUIM, 2009; O'NEILL et al.; 1999). Para identificá-los utiliza-se o Colour Index, um catálogo elaborado pela Sociedade de Corantes e Coloristas em 1924 (O'NEILL et al., 1999).

Os corantes sintéticos têm sido cada vez mais utilizados nas indústrias têxtil, papelreira, cosmética, farmacêutica e de alimentos, devido a sua facilidade de uso, custo-benefício na síntese, além da estabilidade e variedade de cor em comparação com corantes naturais (SARATALE, 2009c).

1.2. Estrutura e Classificação

Os corantes são classificados de acordo com a sua estrutura química e aplicação. A molécula do corante é dividida, estruturalmente, em duas partes: o grupo cromóforo, responsável pela cor, e grupos auxiliares, estrutura responsável pela fixação a fibra (KUNZ et al., 2002; ZANONI & CARNEIRO, 2001; CHRISTIE, 2001). As classes de grupos cromóforos mais importantes são os azo (-N=N-), carbonil (-C=O), metil (-CH=), nitro (-NO₂) e os grupos quinóides (Figura 1), enquanto que os grupos auxiliares mais comuns são amina (-NH₃), carboxila (-COOH), sulfonato (-SO₃H) e hidroxila (-OH) (DOS SANTOS, 2007).

A classificação de acordo com o uso ou aplicação é o principal sistema adotado pelo Colour Index (CI). O nome CI de um corante é derivado da classe de aplicação a que pertence o corante, a cor ou matiz do corante, e por um número seqüencial, como por exemplo, Ácido Amarelo 3, Ácido Vermelho 266

(HUNGER, 2003). Em sua última edição o Colour Index listou cerca de 13000 corantes diferentes (ZILLE, 2005).

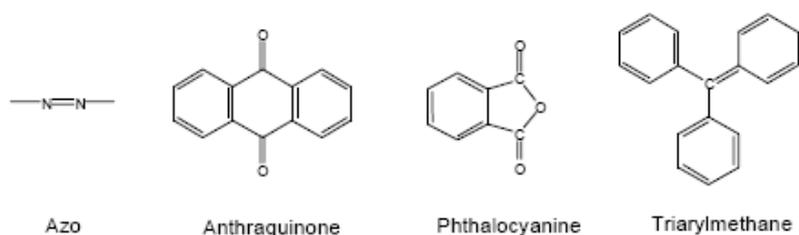


Figura 1. Estrutura molecular dos principais grupos cromóforos.

Segundo a ABIQUIM (2009), o Colour Index classifica os corantes e pigmentos em 26 tipos segundo as classes químicas e em 20 tipos, além de algumas subdivisões do ponto de vista das aplicações (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação dos corantes e pigmentos segundo a utilização por substrato (ABIQUIM, 2009).

| CLASSE | PRINCIPAIS CAMPOS DE APLICAÇÃO |
|-------------------|---|
| CORANTES | |
| À Cuba Sulfurados | Fibras naturais e fibras artificiais |
| À Tina | Fibras naturais |
| Ácidos | Alimentos, couro, fibras naturais, fibras sintéticas, lã e papel |
| Ao Enxofre | Fibras naturais |
| Azóicos | Fibras naturais, fibras sintéticas |
| Básicos | Couro, fibras sintéticas, lã, madeira e papel |
| Diretos | Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel |
| Dispersos | Fibras artificiais e fibras sintéticas |
| Mordentes | Alumínio anodizado, lã, fibras naturais e fibras sintéticas |
| Reativos | Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel |
| Solventes | Ceras, cosméticos, gasolina, madeira, plásticos, solventes orgânicos, tintas de escrever e vernizes |
| PIGMENTOS | |
| Orgânicos | Tintas gráficas, tintas e vernizes, estamperia têxtil, plásticos |
| Inorgânicos | Tintas gráficas, tintas e vernizes, estamperia têxtil, plásticos |

Os corantes azo formam a classe mais importante dos corantes sintéticos com aplicação industrial, devido a sua síntese relativamente simples e quase ilimitado número e tipos de substituintes, representando mais de 50% de todos os corantes comerciais. A produção mundial destes corantes é avaliada, atualmente, em 450.000 toneladas por ano (HUNGER, 2003; ZILLE, 2005).

2. Indústria Têxtil

2.1. O Processo Industrial

Um dos mercados mais significativos de consumos de produtos químicos é o setor têxtil, tanto para a fabricação das fibras, quanto na utilização de produtos auxiliares, indispensáveis para tornar eficientes as etapas de fabricação das fibras, fios e tecidos, bem como no acabamento destes materiais (ALCANTARA & DALTIM, 1996).

O processo industrial têxtil apresenta várias etapas desde a tecelagem das fibras têxteis até beneficiamento do tecido. O beneficiamento engloba todas as etapas de transformação do tecido quanto à aparência, capacidade de absorção de água, aumento de resistência, etc. (ALCANTARA & DALTIM, 1996). Os passos mais comuns consistem de desengomagem, limpeza, merceirização, alvejamento e tingimento (DOS SANTOS, 2007; ALCANTARA & DALTIM, 1996).

O tingimento é o processo de aplicação de corantes aos substratos têxteis objetivando a modificação de sua cor original (ALCANTARA & DALTIM, 1996). Este processo envolve três etapas: a montagem, a fixação e o tratamento final. A etapa de montagem é a fase na qual o corante é transferido da solução para a superfície da fibra. Já a segunda etapa, a fixação, é a reação entre o corante e o tecido, e por fim a última etapa, o tratamento final, consiste de lavagens em banhos correntes para a retirada do excesso de corante original ou corante hidrolisado não fixado a fibra (GUARATINI & ZANONI, 2000).

Durante o processo de tingimento, a água é utilizada em forma de vapor para aquecer os banhos de tratamento, e para permitir a transferência de corantes para as fibras. O algodão, a fibra mais usada no mundo, é também o substrato que requer a maior quantidade de água em seu processamento. O tingimento de um quilo de algodão com corantes reativos utiliza de 70 a 150 litros de água, 0,6 a 0,8 kg de NaCl e de 30 a 60 gramas de corante. (ALLÈGRE et al., 2006).

Mesmo quando a significativa evolução da tecnologia permite que a síntese de corantes seja feita à ordem, a indústria têxtil permanece como uma das maiores atividades poluentes, principalmente devido a dois problemas crônicos: (a) baixas taxas de fixação, geralmente inferior a 80% e (b) baixa eficiência do processo biológico tradicional utilizados na remediação das águas residuais provenientes do processo de tingimento (PERALTA-ZAMORA et al., 2003).

Cerca de 10% dos corantes são perdidos durante o processo de coloração dos tecidos (PEARCE et al., 2003). O grau de fixação dos corantes sobre a fibra é essencialmente dependente do tipo do corante (LIN et al.; 2010), como pode se observar na (Tabela 2).

Tabela 2. Estimativa do grau de fixação para diferentes corantes nas fibras e sua perda para efluente (O'NEILL et al, 1999).

| Classe de aplicação dos corantes | Fibra | Grau de fixação (%) | Perda para o efluente (%) |
|---|--------------|----------------------------|----------------------------------|
| Ácido | Poliamida | 89-95 | 5-20 |
| Básico | Acrílico | 95-100 | 0-5 |
| Direto | Celulose | 70-95 | 5-30 |
| Disperso | Poliéster | 90-100 | 0-10 |
| Complexados com metal | Lã | 90-98 | 2-10 |
| Reativo | Celulose | 50-90 | 10-50 |
| Sulfurados | Celulose | 60-90 | 10-40 |
| Vat | Celulose | 80-95 | 5-20 |

2.2. Efluentes têxteis

A moda dita um papel importante na determinação da natureza dos efluentes têxteis, ela afeta os tecidos e cores utilizadas e, conseqüentemente, os tipos de corantes. Fatores técnicos e econômicos também são relevantes na determinação do tipo de corante utilizado na indústria têxtil (O'NEILL et al., 1999).

Os corantes têxteis são projetados para resistir a avarias atribuíveis ao tempo, luz, suor, água, produtos químicos, incluindo muitos agentes oxidantes, além do ataque microbiano (WESENBERG, 2003; O'NEILL et al., 1999). Estes apresentam estruturas moleculares complexas que podem envolver, durante seu processo de síntese, até 500 reações intermediárias (ZANONI & CARNEIRO, 2001), pondo assim o ambiente em contato com vários tipos de poluentes (BALAN, 2005).

Do ponto de vista ambiental, as indústrias têxteis são caracterizadas não apenas pelo elevado consumo de água em seus processos de fabricação (em alguns casos tão alto quanto 3000 m³ por dia), mas também pela variedade e complexidade dos compostos químicos utilizados (ARSLAN-ALATON & ALATON, 2007). Estes efluentes são ricos em uma ampla variedade de corantes e de outros produtos como dispersantes, ácidos, bases, sais, detergentes, umectantes, oxidantes etc. (KALYANI et al., 2009). De tal modo, considerando o volume e a composição, os efluentes têxteis são classificados como o mais poluente entre todos os setores industriais (ARSLAN-ALATON & ALATON, 2007; KHELIFI et al., 2008).

As principais fontes de efluentes gerados pela indústria têxtil originam-se a partir das etapas de lavagem e branqueamento das fibras naturais e do tingimento e acabamento (VANDEVIVERE et al., 1998). Estes fluxos de resíduos industriais são muitas vezes misturados com efluentes de esgoto sanitário antes da sua chegada a uma estação de tratamento de esgoto, baseando-se a maioria dos municípios no processo de lodos ativados para desintoxicação e mineralização de efluentes antes de serem lançadas no meio ambiente (COUGHLIN et al, 2003).

A percepção pública da qualidade da água é fortemente influenciada pela cor. A presença de cor atípica é esteticamente desagradável e tende a ser associada à contaminação (PEARCE et al., 2003). O olho pode detectar concentrações de $0,005\text{mg/dm}^3$ de corantes reativos na água, por exemplo (O'NEILL et al., 1999).

A poluição dos corpos d'água por corantes sintéticos provoca além da poluição visual, a redução da penetração da luz solar, diminuindo a atividade fotossintética, deteriorando a qualidade da água, diminuindo a solubilidade causando efeitos tóxicos agudos na flora e fauna aquática (KUNZ et al. 2002, SARATALE et al., 2009a). Em adição ao seu efeito visual e os impactos adversos em termos como a demanda química de oxigênio (DQO), muitos corantes sintéticos são tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (WESENBERG et al., 2003; PANDEY et al., 2007).

3. Tratamento dos Efluentes

As operações de limpeza, tingimento e acabamento na indústria têxtil são grandes consumidores de água. O tratamento e a recirculação destes despejos e a recuperação de produtos e subprodutos constituem os maiores desafios enfrentados pela indústria têxtil hoje (BALAN, 2005). O desenvolvimento de tecnologia adequada para o tratamento de efluentes tem sido objeto de grande interesse nos últimos tempos, devido ao aumento da consciência e da rigidez das regras ambientais (GUARATINI & ZANONI, 2000). Atualmente, as principais técnicas disponíveis para o tratamento dos efluentes têxteis envolvem processos físicos, químicos e biológicos (ROBINSON et al., 2001; GUARATINI & ZANONI, 2000), como adsorção em matrizes orgânicas ou inorgânicas, descoloração por fotocatalise, oxidação, decomposição microbiológica ou enzimática, entre outros (FORGACS et al., 2004).

O tratamento de efluentes líquidos coloridos não se restringe apenas a redução dos parâmetros biológicos como Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Biológica de Oxigênio (DBO), Haletos Orgânicos Absorvíveis (AOX), temperatura e pH, mas também para a redução das concentrações dos

corantes nas águas residuais (SLOKAR & LE MARECHAL, 1997). A legislação vigente no Brasil embora não apresente restrição para a cor nos padrões de lançamento de efluentes, limita a cor nos corpos de água receptores de despejos, sendo que para a maioria deles, esse limite é de 75 mg-Pt/L (TUNUSSI & ALEM SOBRINHO, 2003).

3.1. Métodos Químicos

3.1.1. Processos Oxidativos

Oxidação é o método químico de descoloração comumente mais usado (SLOKAR & LE MARECHAL, 1997). Isto se deve principalmente devido a simplicidade de sua aplicação (ROBINSON et al., 2001). A oxidação química caracteristicamente envolve o uso de agentes oxidantes como o ozônio (O_3), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e permanganato (MnO_4) para a mudança química dos compostos ou grupos de corantes, como por exemplo, os corantes (DOS SANTOS et al., 2007).

O ozônio é um agente oxidante ($E_0 = 2,08$ V) poderoso e veloz, devido a sua alta instabilidade quando se compara a outros agentes como o peróxido de hidrogênio ($E_0 = 1,78$ V), permitindo que esta espécie reaja com uma numerosa classe de compostos. Pode reagir com várias espécies contendo múltiplas ligações (ZILLE, 2005), o que para o tratamento de efluentes têxteis se mostra muito atrativo. Geralmente, os grupos cromóforos dos corantes são compostos orgânicos com ligações duplas conjugadas que podem ser quebradas formando moléculas menores, resultando na redução da coloração (PERALTA-ZAMORA et al., 1999; KUNZ et al.; 2002).

Um dos processos de oxidação mais interessantes usa o Reagente Fenton (peróxido de hidrogênio ativado com sais de Ferro (II)). O sistema de oxidação baseado no Reagente Fenton tem sido usado para o tratamento de substâncias orgânicas e inorgânicas. Este é baseado na formação de compostos oxidantes reativas, capazes de degradar eficientemente os

poluentes das efluentes (ZILLE, 2005). O processo de oxidação Fenton pode descolorir uma ampla faixa de corantes quando comparado ao processo de ozonização. Este processo é relativamente mais barato e resulta geralmente numa larga redução da demanda química de oxigênio (DQO). Este método é limitado pelo fato dos efluentes têxteis usualmente possuírem pH elevado, enquanto que o processo de oxidação Fenton requer baixo pH. Em pH alto, grande volume de lodo são gerados pela precipitação dos sais de íon férrico, e o processo perde sua eficácia (ZILLE, 2005).

A degradação fotocatalítica é um método de degradação importante, pois resulta na completa mineralização dos poluentes. Este método degrada as moléculas de corantes a CO_2 e H_2O por tratamento ultravioleta na presença de H_2O_2 (ROBINSON et al., 2001). A degradação é causada pela produção de altas concentrações de hidroxila. A luz UV tem sido testada em combinação com H_2O_2 , TiO_2 , Reagente Fenton, O_3 e outros catalisadores sólidos para a descoloração de corantes. Embora UV/ H_2O_2 pareça mais lenta, cara e pouco eficaz, a combinação UV/ TiO_2 parecem mais promissora (VANDEVIVERE et al., 1998). Os fatores que influenciam o tratamento fotocatalítico são a concentração de peróxido de hidrogênio, a intensidade da radiação UV, o pH, a estrutura do corante e a composição dos efluentes (SLOKAR & LE MARECHAL, 1997). O melhor uso desta tecnologia é como um pós-tratamento após a ozonização (VANDEVIVERE et al., 1998).

3.1.2. Eletrólise

A eletrólise é baseada na aplicação de uma corrente através dos efluentes a ser tratado por meio de eletrodos, usualmente usando o ferro para produzir hidróxido ferroso nas soluções. Em vários estudos, métodos eletroquímicos têm sido aplicados eficientemente para descoloração de efluentes coloridos. No entanto, este processo é caro devido à grande demanda de energia e ao tempo de vida limitado dos eletrodos. Além disso, como reações radicais estão envolvidas, a formação descontrolada de produtos de decomposição pode ocorrer. (VAN DER ZEE, 2002).

A redução da demanda biológica de oxigênio, da demanda química de oxigênio, e coagulação dos sólidos totais suspensos nas águas residuais também são obtidos com esse método (ZILLE, 2005).

3.2 Métodos Físicos

3.2.1 Coagulação e Floculação

Este método é freqüentemente aplicado no tratamento dos efluentes têxteis, quer para remover a demanda química de oxigênio (DQO) e cor do efluente bruto antes de qualquer outro tratamento, ou mesmo como processo de tratamento principal (VAN DER ZEE, 2002). O principio deste processo baseia na adição de agentes coagulantes inorgânicos como sais de ferro, alumínio, magnésio, usados para formar flocos com os corantes que são então separados por filtração ou sedimentação (DOS SANTOS et al.; 2007). Coagulação-floculação sozinho ou em combinação com outros processos biológicos, pode ocasionalmente permitir a reutilização da água (VANDEVIVERE et al., 1998).

3.2.2. Tecnologia de Membranas

A utilização de tecnologias de membranas, como osmose reversa, microfiltração, nanofiltração e ultrafiltração (Tabela 3), tem se tornado muito atrativa devido ao fato de possibilitar a reutilização da água no processo industrial (KUNZ et al., 2002). A temperatura específica e a composição química do efluente determinam o tipo e a porosidade do filtro a ser aplicado (PORTER, 1997). Na osmose reversa, por exemplo, o efluente é forçado sobre uma pressão moderada através de uma membrana semipermeável para formar um filtrado purificado e concentrado e pode eliminar mais de 98% das impurezas de massa molar relativa maior que 100 (SOUTHERN, 1995).

Tabela 3. Características de alguns processos de separação por membrana com aplicações industriais (KUNZ et al., 2002).

| Processo de Separação | Pressão aplicada (atm) | Tamanho do poro (nm) | Material retido |
|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---|
| Microfiltração | 1 – 3 | 20 – 1000 | Material em suspensão, bactérias (m.m.>500.000) |
| Ultrafiltração | 2 – 7 | 5 – 20 | Colóides, macromoléculas (m.m. > 5000) |
| Nanofiltração | 5 – 20 | 2 – 5 | Macromoléculas |
| Osiose Reversa | 30 – 150 | Tamanho do poro não detectável | Todo material solúvel em suspensão |

3.2.3. Adsorção

O principal mecanismo abiótico de remoção física de corantes de efluentes é a adsorção. Esta técnica é reconhecida devido a sua eficiência e também pela estabilidade (SLOKAR & LE MARECHAL, 1997). Carbono ativado ou outros materiais como carvão ativado de coco, bambu, casca de eucalipto e quitosana podem ser usados para remover os corantes dos efluentes por adsorção (KUNZ et al., 2002). A técnica de adsorção produz uma lama, que deve ser descartada ou regenerada (VAN DER ZEE, 2002).

3.3 Métodos Biológicos

A aplicação de microrganismos para a biodegradação de corantes sintéticos é um método atraente e tem sido relatado em vários estudos como nos realizados por STOLZ (2001), NOVOTONÝ et al., (2001), TELKE et al. (2009), HSUEH & CHEN (2007), SEESURIYACHAN et al. (2009). Inúmeras espécies já fora testadas para a descoloração e mineralização de vários corantes (FORGACS et al., 2004).

Espécies de grupos taxonômicos diferentes são capazes de degradar corantes têxteis (BANAT et al., 1996), porém a eficácia da descoloração microbiana depende da adaptabilidade e da atividade do microrganismo selecionado (SARATALE et al., 2009b).

Os estudos de biodegradação dos corantes do tipo azo tem se concentrado em bactérias e fungos, principalmente aos fungos da podridão branca, para desenvolver bioprocessos de mineralização destes corantes (SARATALE, et al., 2009b). No entanto, o longo ciclo de crescimento, a exigência de condições limitantes de nitrogênio são fatores limitantes para o desempenho do sistema de descoloração fúngico (BANAT et al, 1996). Em contraste, a descoloração bacteriana é mais eficiente e rápida.

A habilidade de células bacterianas metabolizarem corantes azo tem sido extensivamente investigada. A clivagem das ligações $-N=N-$ dos corantes azo é a primeira etapa para a degradação bacteriana. A descoloração destes corantes pode ocorrer sob condições anaeróbicas, anóxicas e aeróbicas por diferentes grupos de bactérias (PANDEY et al., 2007).

Em condições aeróbicas, os corantes azóicos não são rapidamente metabolizados. Porém, em condições anaeróbicas, muitas bactérias reduzem os azo corantes pela atividade inespecífica das azoredutases citoplasmáticas. A redução anaeróbica degrada os corantes azo que são convertidos em aminas aromáticas, que podem ser tóxicas, carcinogênicas ou mutagênicas a animais (PEARCE et al, 2003; ZILLE, 2005).

4. *Pseudomonas oleovorans*

O gênero *Pseudomonas* é composto por bactérias ubíquas que ocupam inúmeros nichos ecológicos. São espécies metabolicamente versáteis, heterogêneas do ponto de vista nutricional e de grande importância para os ciclos do carbono e nitrogênio (MULET et al., 2009).

A taxonomia deste gênero é bastante complexa. Atualmente, modernas técnicas moleculares têm sido aplicadas na taxonomia de *Pseudomonas* compreendendo mais de 100 espécies (EUZÉBY, 2008). A análise da

seqüência do gene 16S rRNA caracteriza-se como uma boa ferramenta para a classificação do gênero *Pseudomonas*.

Muitas destas espécies são conhecidas por seu papel benéfico para as plantas e além de várias outras aplicações biotecnológicas, como na produção de antibióticos e como agentes de controle biológico e biorremediação (PEIX et al.; 2009; MULET et al., 2009).

Segundo a Coleção Brasileira de Microrganismos do Ambiente e Indústria (CBMAI) (CBMAI, 2010), *P. oleovorans* está classificada como um microrganismo do grupo de risco 1. Esta obedece à classificação do Conselho Europeu, através da Diretiva 93/88/EEC.

Pseudomonas oleovorans é conhecida por realizar uma grande variedade de atividades biológicas como produção de polihidroxicanoatos de cadeia média por *P. oleovorans*, sugerido por KIM et al. (2001) e ASHBY et al. (2002), produção de biosurfactantes (FREITAS et al., 2009) e descoloração de corantes têxteis como sugerem Zimmermann e colaboradores (1982).

Silveira e colaboradores (2009) ao selecionar espécies de *Pseudomonas*, revelaram que *P. oleovorans* possui uma ótima habilidade em descolorir corantes têxteis. Neste estudo *P. oleovorans* foi capaz de descolorir 12 diferentes corantes, enquanto *P. aeruginosa* e *P. cepacia* são capazes de descolorir apenas 10 diferentes corantes.

REFERÊNCIAS

ABIQUIM. Associação Brasileira da Indústria Química. **Corantes e Pigmentos**. 2009. Disponível em: <<http://www.abiquim.org.br/corantes/cor.asp>>. Acesso: 12 de Outubro de 2009.

ALCANTARA, M. R.; DALVIN, D. A química do processamento têxtil. **Química Nova**, 19, 320-330, 1996.

ALLÈGRE, C.; MOULLIN, P.; MAISSEU, M. CHARBIT, F. Treatment and reuse of reactive dyeing effluents. **Journal of Membrane Science**, 269, 15-34, 2006.

ARSLAN-ALATON, I. & ALATON, I. Degradation of xenobióticos originating from the textile preparation, dyeing and finishing industry using ozonation and advanced oxidation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 68, 98-107, 2007.

ASAD S.; AMOOZEGAR, M.A.; POURBABAEE, A.A.; SARBOLOUKI, M.N.; DASTGHEIB, S.M.M. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. **Bioresource Technology**, 98, 2082–2088, 2007.

ASHBY, R.D.; SOLAIMAN, D.K.Y; FOGLIA, T.A. The synthesis of short- and medium-chain-length poly(hydroxyalkanoate) mixtures from glucose- or alkanolic acid-grown *Pseudomonas oleovorans*. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, 28, 147-153, 2002.

BALAN, D.S.L. Biodegradação e toxicidade de efluentes têxteis. Revista Brasileira de Tecnicos Têxteis – ABTT. Disponível em: <<http://abtt.org.br/revistas/htm>>. Acesso em 12 de Outubro de 2009.

BANAT, I. M.; NIGAM, P.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review. **Bioresource Technology**, 58, 217-227, 1996.

BARRETO, N.S.E. 2006. 167f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco. Disponível em: < http://www.bdt.d.ufpe.br/tedeSimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=142 > Acesso em: 12 de Outubro de 2009.

CBMAI. Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria. 2010. Disponível em: < <http://webdrm.cpqba.unicamp.br/cbmai/index.php>>. Acesso: 20 de Fevereiro de 2010.

CHRISTIE, R. **Colour Chemistry**. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, 2001.

COUGHLIN, M.F.; KINKLE, B.; BISOP, P.L. High performance degradation of azo dye Acid Orange 7 and sulfanilic acid in a laboratory scale reactor after seeding with cultured bacterial strains. *Water Research*, 37, 2757-2763, 2003.

DOS SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J.B. Review paper on current Technologies for decolourisation of textile wastewater: Perspectives for anaerobic biotechnology. **Bioresource Technology**, 98, 2369-2385, 2007.

EUZÉBY, J.P. **List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature**. 2008. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/>>. Acesso em 27 de Outubro de 2009.

FORGACS, E.; CSERHÁTI, T.; OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewater: a review. **Environment International**, 30, 953-971, 2004.

FREITAS, F.; ALVES, V.D.; PAIS, J. COSTA, N.; OLIVEIRA, C.; MAFRA, L.; HILLIOU, L.; OLIVEIRA, R.; REIS, A.M. Characterization of an extracellular polysaccharide produced by a *Pseudomonas* strain grown on glycerol. **Bioresource Technology**, 100, 859-865, 2009.

GUARATINI, C.C.I. & ZANONI, M. V. Corantes têxteis. **Química Nova**, 23, 71-78, 2000.

HSUEH, C.C.; CHEN, B.Y. Comparative study on reaction selectivity of azo dye decolorization by *Pseudomonas luteola*. **Journal of Hazardous Materials**, 141, 842-849, 2007.

HUNGER, K. **Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications**. Germany: Wiley-VCH, 2003.

ISHIKAWA, Y.; ESKER, T.; LEDER, A. **Chemical Economics Handbook: Dyes**. Menlo SRI, Menlo Park, CA, 2000.

JADHAV, J.P.; KALYANI, D.C.; TELKE, A.A.; PHUGARE, S.S.; GOVINDWAR, S.P. Evaluation of the efficacy of a bacterial consortium for the removal of color, reduction of heavy metals, and toxicity from textile dye effluent. **Bioresource Technology**, 101, 165-173, 2010.

KALYANI, D.C.; TELKE, A.A.; DHANVE, R.S.; JADHAV, J.P. Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* sp. SUK1. **Journal of Hazardous Materials**, 163, 735-742, 2009.

KHELIFI, E.; GANNOUN, H.; TOUHAMI, Y.; BOUALLAGUI, H.; HAMDY, H. Aerobic decolourization of the indigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors. **Journal of Hazardous Materials**, 152, 683-689, 2008.

KIM, Do Y.; JUNG, S.B.; CHOI, G.G.; KIM, Y. B.; RHEE, Y.H. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate copolyester containing cyclohexyl groups by *Pseudomonas oleovorans*. **International Journal of Biological Macromolecules**, 29, 145-150, 2001.

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

LIN, J.; ZHANG, X.; LI, Z.; LEI, L.; Biodegradation of Reactive blue 13 in a two-stage anaerobic/aerobic fluidized beds system with a *Pseudomonas* sp isolate. **Bioresource Technology**, 101, 34-40, 2010.

LIN, J.; ZHANG, X.; LI, Z.; LEI, L.; Biodegradation of Reactive blue 13 a two-stage anaerobic/aerobic fluidized beds system with a *Pseudomonas* sp. Isolate. **Bioresource Technology**, 101, 34-40, 2010.

McMULLAN, G.; MEEHAN, C.; CONNEELY, A.; KIRBY, N.; ROBINSON, T.; NIGAM, P.; BANAT, I.M.; MARCHANT, R.; SYMTH, W.F. Microbial decolourisation and degradation of textile dyes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 56, 81-87, 2001.

MULET, M.; BENNASAR, A.; LALUCAT, J.; GARCÍA-VALDÉS, E. An rpoD-based PCR procedure for the identification of *Pseudomonas* species and for their detection in environmental samples. **Molecular and Cellular Probes**, 23, 140-147, 2009.

NOVOTONÝ, C.; RAWAL, B.; BHATT, M.; PATEL, M.; ŠAŠEK, V.; MOLITORIS, H. P. Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. **Journal of Biotechnology**, 89, 113-122, 2001.

O'NEILL, C.; HAWKES, F.R.; HAWKES, D.L.; LOURENÇO, N.D.; PINHEIRO, H.M.; DELÉE, W. Colour in textile effluents – sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 74, 1009-1018, 1999.

PANDEY, A.; SINGH, P.; IYENGAR, L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 59, 73-84, 2007.

PEARCE, C.I.; LLOYD, J.R.; GUTHRIE, J. T. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. **Dyes and Pigments**, 58, 179-196, 2003.

PEIX, A., et al., Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. **Infection, Genetics and Evolution**, DOI:10.1016/J.MEEGID.2009.08.001

PERALTA-ZAMORA, P., KUNZ, A., GOMEZ DE MORALES, S., PELEGRINI, R., DE CAPOS MOLEIRO, P., REYES, J., DURAN, N. Degradation of reactive dyes I. A comparative study of ozonation, enzymatic and photochemical processes. **Chemosphere**, 38, 835-852, 1999.

PERALTA-ZAMORA, P.; PEREIRA, C.M.; TIBURTIUS, E.R.L.; MORAES, S.G.; ROSA, M.A.; MINUSSI, R.C., DURÁN, N. Decolorization of reactive dyes by immobilized laccase. **Applied Catalysis B: Environmental**, 42, 131-144, 2003.

PORTER, J.J. Filtration and recovery of dyes from textile wastewater. Treatment of Wastewaters from Textile Processing. **Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung**, Berlin, Germany, 1997.

QMCWEB. Corantes: A química nas cores. **Revista Eletrônica do Departamento de Química – UFSC**. Ano 4. Disponível em: <<http://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/dye/corantes.html>>. Acesso: 12 de Outubro de 2009.

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

SARATALE, R.G.; SARATALE, G.D.; CHANG, J.S.; GOVINDWAR, S.P. Decolorization and biodegradation of textile dye Navy blue by *Trichosporon beigelii* NCIM-3326. **Journal of Hazardous Materials**, 166. 1421-1428, 2009c.

SARATALE, R.G.; SARATALE, G.D.; CHANG, J.S.; GOVINDWAR, S.P. Ecofriendly degradation of sulfonated diazo dye C.I. Reactive Green 19A using *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168. **Bioresource Technology**, 100, 3897-3905, 2009a.

SARATALE, R.G.; SARATALE, G.D.; KALYANI, D.C.; CHANG, J.S.; GOVINDWAR, S.P. Enhanced decolorization and biodegradation of textile azo dye Scarlet R by using developed microbial consortium-GR. **Bioresource Technology**, 100, 2493-2500, 2009b.

SEESURIYACHAN, P.; KUNTIYA, A.; SASAKI, K.; TECHAPUN, C. Comparative study on methyl orange removal by growing cells and washed cell suspensions of *Lactobacillus casei* TISTR 1500. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 25, 973-979, 2009.

SENAN, R. C. & ABRAHAM, E. Bioremediation of textile azo dye by aerobic bacterial consortium. **Biodegradation**, 15, 275-280, 2004.

SILVEIRA, E.; MARQUES, P.P.; SILVA, S.S.; LIMA-FILHO, J.L.; PORTO, A.L.F.; TAMBOURGI, E.B. Selection of *Pseudomonas* for industrial textile dye decolourization. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 63, 230-235, 2009.

SLOKAR, Y.M.; LE MARECHAL, M. Methods of Decolorization of Textile Wastewater. **Dyes and Pigments**, 37, 335-356, 1998.

SOUTHERN, T. G. Technical solutions to the colour problem: a critical review, in Colour in dyehouse effluent. **Society of Dyers and Colourists**, P. Cooper Editor, Bradford, England, 73-91, 1995.

STOLZ, A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 56, 69-80, 2001.

TELKE, A.A.; JOSHI, S. M.; JADHAV, S.U.; TAMBOLI, D. P.; GOVINDWAR, S. P. Decolorization and detoxification of Congo red and textile industry effluent by an isolated bacterium *Pseudomonas sp.* SU-EBT. **Biodegradation**, 2009.

TUNUSSI, J.L.; ALEM SOBRINHO, P. Remoção de cor e nitrificação de efluentes de tinturaria têxtil através de processos biológicos anaeróbio-aeróbio. In: XXIII Congresso Iberoamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental da AIDIS, **Anais...** Cancún: México, 2002.

ULSON DE SOUZA, S.M.A.G.; FORGIARINI, E.; ULSON DE SOUZA, A.A. Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP). **Journal of Hazardous Materials**, 147, 107-1078, 2007.

VAN DER ZEE, F.P. 2002. **Anaerobic azo dye reduction**. Tese de Doutorado, Wageningen University. Wageningen, The Netherlands, 142f. Disponível em: <<http://library.wur.nl/wda/dissertations/dis3202.pdf>> Acesso em: 20 de Outubro 2009.

VANDEVIVERE, P. C.; BIANCHI, R.; VERSTRAETE, W. Treatment and Reuse of Wastewater from the textile Wet-Processing Industry: Review of Emerging Technologies. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, 72, 289-302, 1998.

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S.N. White-rot fungi and their enzymes for treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, 22, 161-187, 2003.

WU, J.; JUNG, B.G.; KIM, K.S.; LEE, Y.C.; SUNG, N.C. Isolation and characterization of *Pseudomonas otitidis* WL-13 and its capacity to decolorize triphenylmethane dyes. **Journal of Environmental Sciences**, 21, 960-964, 2009.

ZANONI, M.V.B. & CARNEIRO, P.A. O descarte dos corantes têxteis. **Ciência Hoje**. V. 29. N. 174, 61-64, 2001.

ZHOU, J.; XU, Y.; QU, Y.; TAN, L. Decolorization of Brilliant Scarlet GR enhanced by bioaugmentation and redox mediators under high-salt conditions. **Bioresource Technology**, 101,586-591, 2010.

ZILLE, A. **Laccase Reactions for Textile Applications**. 2005. 168f. Tese (Doutorado em Engenharia Têxtil) – Universidade do Minho, Portugal, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1822/4899>> Acesso em: 12 de Outubro de 2009.

ZIMMERMANN, T.; KULLA, H.G.; LEISINGER, T. Properties of Purified Orange II Azoreductase, the Enzyme Initiating Azo Dye Degradation by Pseudomonas KF46. *Eur. J. Biochem.* 129, 197-203, 1982.

ZOLLINGER, H. **Color Chemistry – Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes Pigments**. VCH, New York, NY. 1987.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Descolorir corante industrial têxtil por *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do inóculo, concentração do azo corante B15 e temperatura sobre o potencial de descoloração do corante têxtil por *P. oleovorans* utilizando planejamento fatorial;
- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de corante utilizando as condições ideais de inóculo e temperatura
- Determinar o máximo percentual de descoloração do corante B15 por *P. oelovorans*.

DESCOLORAÇÃO DE CORANTE INDUSTRIAL TÊXTIL POR *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703

Marcella Cardoso Lemos de Oliveira^{a,b}, Edgar Silveira Campos^c, Elias Basile Tambourgi^d, José Luiz Lima-Filho^b, Tatiana Souza Porto^{b,d}, Ana Lúcia Figueiredo Porto^{b,d*}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Cidade Universitária, 50.670-420, Recife-PE, Brasil

^b Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Cidade Universitária, 50670-901, Recife-PE, Brasil

^c Faculdade de Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, CP 6066, 13083-970, Campinas-SP, Brasil

^d Laboratório Tecnologia de Produtos Bioativos – LABTECBIO, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Dois Irmãos, 52171-900, Recife-PE, Brasil

* **Correspondência ao autor:** Ana Lúcia Figueiredo Porto. Laboratório de Tecnologia de Produtos Bioativos (LABTECBIO). Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, CEP: 52171-900, Recife – PE. Telefone: + 55 81 33206345. Email: analuporto@yahoo.com.br

Artigo a ser submetido à *Journal of Hazardous Materials*

Parte dos resultados foi apresentada na forma de resumo no “II Simpósio Nacional em Diagnóstico e Terapêutica Experimental, V Jornada Científica do Lika e II Fórum Brasileiro de Genética em Neuropsiquiatria” (2009).

Resumo

O crescimento da indústria têxtil tem causado sérios problemas ambientais, devido ao grande volume de efluentes gerados nas suas atividades. Uma das principais características destes efluentes é que eles são altamente coloridos, devido primariamente a cor que foi utilizada nas operações de tingimento com os corantes da classe azo. Todavia, recentemente grande progresso tem sido obtido no campo da biotecnologia ambiental, aplicada na descoloração de corantes, nos quais diferentes organismos foram capazes de realizar o processo de descoloração. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi o uso de *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703 para promover a descoloração do corante têxtil azo B15. Para este estudo foi utilizado um planejamento fatorial completo (2³), avaliando a concentração de inóculo, temperatura e concentração de corante. As culturas foram avaliadas quanto ao percentual de descoloração por 48 horas. Os resultados mostraram que as três variáveis influenciaram o processo de descoloração do corante têxtil por *P. oleovorans*. As condições ideais para a descoloração foram obtidas a temperatura e concentração do corante nos maiores níveis estudados (34°C e 60g/L, respectivamente), e 95,32% de descoloração foi obtida. A *P. oleovorans* CBMAI 0703 mostrou grande potencial para aplicação no processo de descoloração de efluentes têxteis contaminados, permitindo a recuperação de ambientes naturais degradados.

Palavras-chave: *Pseudomonas oleovorans*, corantes têxteis, descoloração, corante azo.

Abstract

The growth of the textile industry has caused a serious environmental problem, due to the large volume of effluent generated in their activities. One of the main characteristics of these effluents is that they are highly colored, due primarily to the colors that are used in dyeing operations, especially the class azo dyes. However in recent years, great progress has been achieved in the environmental biotechnology field, applied to the dyes discoloration, in which different organisms were found to be able to perform the discoloration process. Therefore, the objective of this study was to use the *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703 to promote the discoloration of a B15 textile azo dye. For this study was used a full factorial design (2^3), evaluating the inoculum concentration, temperature and dye concentration. The cultures were evaluated for the percentage of discoloration for 48 hours. The results showed that three variables influenced the textile dye decolorization process by *P. oleovorans*. The ideal conditions for the decolorization were obtained at temperature and dye concentration at the highest levels studied (34°C and 60g/L, respectively), and 95,32% decolorization was obtained. The *P. oleovorans* CBMAI 0703 showed great potential for application in the decolorization process of contaminated textile effluents, allowing the recovery of degraded natural environments.

Key words: *Pseudomonas oleovorans*, textile dye, decolorization, azo dye.

1. Introdução

Com o aumento na demanda por produtos têxteis, o número de indústrias têxteis e a quantidade dos seus efluentes têm aumentado proporcionalmente, tornando-se uma das principais fontes de poluição mundial [1]. Os efluentes destas indústrias são complexos e caracterizam-se por possuir uma larga variedade de corantes além de outros produtos como dispersantes, ácidos, bases, sais, detergentes, umectantes, oxidantes etc. [2].

Os corantes sintéticos são extensivamente utilizados na indústria têxtil. Mais de 100.000 corantes são disponíveis comercialmente, com mais de 7×10^7 toneladas de corantes produzidos anualmente em todo o mundo [3-4]. No Brasil, apenas 26500 toneladas são produzidos [5]. Estima-se que pelo menos 20% dos corantes têxteis sejam descartados em efluentes, devido a perdas ocorridas durante o processo de fixação da tintura as fibras [6].

A cor é um dos indicadores mais evidentes de poluição da água [7]. A presença de corantes em ecossistemas aquosos reduz a penetração de luz solar nas camadas mais profundas, deteriorando a qualidade da água, diminuindo a solubilidade gasosa causando efeitos tóxicos agudos na flora e fauna aquática [8]. Em adição ao seu efeito visual e os impactos adversos em termos como a demanda química de oxigênio, muitos corantes sintéticos são tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos [9-10].

Vários métodos têm sido usados no tratamento de efluentes coloridos. Métodos físicos e químicos como adsorção, coagulação, floculação, oxidação e métodos eletroquímicos são sugeridos para a remoção da cor [11]. Estes métodos não são amplamente usados devido ao alto custo e a capacidade de

gerar uma poluição secundária pelo uso excessivo de compostos químicos [12-13]. O tratamento biológico de corantes é considerado mais favorável para o ambiente e com melhor custo-benefício quando se comparado aos métodos físicos e químicos de decomposição [13,14].

No meio ambiente, muitos microrganismos, de diferentes grupos taxonômicos de bactérias, fungos, actinomicetos e algas tem sido relatados por sua habilidade em descolorir corantes via biotransformação, biodegradação ou até mesmo mineralização [15]. Espécies do gênero *Pseudomonas* são bactérias metabolicamente versáteis, heterogêneas quanto à necessidade nutricional e importante nos ciclos do carbono e do nitrogênio, assim sendo usadas em estudos de descoloração [16-20].

O objetivo do presente estudo foi verificar capacidade da *Pseudomonas oleovorans* em atuar no processo de descoloração de corante industrial têxtil.

2. Materiais e Métodos

2.1. Microrganismo

Pseudomonas oleovorans CBMAI 0703 (LEE & CHANDLER, 1941), foi obtida da Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria (CBMAI) da Universidade Estadual de Campinas (São Paulo, Brasil). O microrganismo foi preservado em criotubos contendo glicerol 10% (v/v) e miçangas de vidro. Cada criotubo foi preenchido com a mesma cultura inicial e

com aproximadamente 50 miçangas, o que permitiu utilizar células da mesma geração em todos os experimentos.

2.2. Corantes e Reagentes

O corante têxtil utilizado foi doado pela Clariant do Brasil (São Paulo, Brasil), tendo seu nome comercial omitido neste estudo, ficando apenas denominado por B15 (CI 13390), sendo classificado como corante AZO, de cor azul. Todos os demais reagentes são de grau analítico.

2.3. Condições da Cultura para descoloração

Para o experimento, um Erlenmeyer (250mL) contendo 160mL de meio caldo nutriente (extrato de carne 3g/L e peptona 5g/L), foi inoculado com 50 miçangas de vidro do mesmo criotubo e incubado por 48 horas a 28°C. A cultura foi transferida para Erlenmeyer (500mL) contendo 160 mL do meio caldo nutriente e o corante B15, obedecendo às condições determinadas no planejamento fatorial. Os frascos inoculados foram incubados por 48 horas em condições estática, segundo Silveira et al [27].

O planejamento fatorial completo 2^3 , acrescido de 4 experimentos no ponto central, foi realizado para observar os efeitos das variáveis dependentes na descoloração do corante B15 pela *P. oleovorans*. As variáveis estudadas e o percentual de descoloração avaliado como variável resposta estão apresentadas na Tabela 1. Os parâmetros analisados no planejamento fatorial

foram selecionados segundo Silveira et al [27]. Após a realização dos experimentos a análise estatística dos resultados foi realizada com o auxílio do software *Statística 8* (STATSOFT, 2008).

Tabela 1

2.4. Efeito de altas concentrações de corante

Após os resultados obtidos no planejamento fatorial, foi realizado um novo ensaio de descoloração utilizando as melhores condições de temperatura e inóculo, variando a concentração de corante de 60 a 200mg/L.

2.5. Determinação da descoloração

Para a determinação do percentual de descoloração, as amostras das culturas foram coletadas e analisadas seguindo a metodologia descrita por CHEN et al. [21]. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 x g. O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro UV-VIS (Ultrospec 2000 - Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ) a 600nm. A eficiência da descoloração foi expressa pela equação:

$$\text{Descoloração (\%)} = \left(\frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \right) \times 100$$

Onde a $A\lambda_{inicial}$ é a absorvância obtida antes do processo de descoloração e a $A\lambda_{final}$ é a absorvância final do sobrenadante livre de células.

$A\lambda_{inicial}$. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3. Resultados e Discussão

A descoloração do corante industrial têxtil usando *P. oleovorans* foi realizada usando diferentes condições de cultura de acordo com as combinações determinadas pelo planejamento fatorial (2^3) apresentado na Tabela 2. O planejamento foi usado para avaliar os principais efeitos e interações dos três fatores selecionados (inóculo, concentração de corante e temperatura) agindo sob o fator resposta, a taxa de descoloração.

Tabela 2

O gráfico de Pareto apresenta os efeitos estimados das variáveis (efeito principal ou de primeira ordem) e das interações entre as variáveis (efeito de segunda ordem) sobre a variável resposta (descoloração) em ordem de magnitude.

Observam-se na Figura 1, os efeitos significativos das variáveis estudadas, assim como as interações entre elas. A interação entre as três variáveis ($1*2*3$), ou seja, inóculo (1), concentração do corante (2) e temperatura (3) também apresentaram efeitos significativos.

Figura 1

A variável temperatura (3) se destacou como o mais significativo entre os efeitos principais. O seu efeito positivo indicou que quanto maior a temperatura maior a descoloração. Além desta, a variável inóculo (1) também apresentou efeito significativo positivo, ou seja, uma maior concentração do inóculo favorece a descoloração.

Avaliando os efeitos de segunda ordem, foram significativas as interações (2*3) entre a temperatura e a concentração do corante, (1*2) entre o inóculo e a concentração do corante e (1*3) entre a temperatura e o inóculo, bem como a interação entre as três variáveis.

Figura 2

A Figura 2 representa um cubo, no qual estão as variáveis principais que apresentaram interações significativas. O maior efeito de interação, entre as três variáveis, determina que a melhor condição para a descoloração foi obtida quando as variáveis estão nos níveis: temperatura (34°C), concentração de corante (60mg/L) e inóculo (0,17g/L).

A capacidade de bactérias em metabolizar corantes tem sido investigada por vários grupos de pesquisa [7, 24, 25]. Várias espécies de *Pseudomonas* têm sido utilizadas em estudos para degradação de corantes como os realizados por Kalyani et al. (2009), Kalme et al. (2009), Silveira et al. (2009) e Lin et al. (2010).

Para verificar a habilidade de descoloração por *P. oleovorans*, esta foi testada contra diferentes concentrações do corante. Neste estudo, quando se usou a concentração de 60mg/L, a descoloração alcançou um percentual de

95,3%. Resultados semelhantes foram obtidos por Silveira e colaboradores [27] onde *P. oleovorans* foi capaz de remover mais que 90% da cor em concentrações menores ou iguais a 60mg/L.

Os resultados obtidos são similares aos descritos por Bhatt et al. [29] em seu estudo com *Pseudomonas aeruginosa* NBAR12. Esta foi capaz de descolorir 12 diferentes corantes com a eficiência de descoloração variando entre 80 a 95%. Telke et al. [30] verificou que *Pseudomonas* sp. SU-EBT remove 97% do corante vermelho Congo em caldo nutriente em 12 horas em condição estática.

O percentual de descoloração obtido neste estudo é semelhante ao obtidos em estudos descritos na literatura (Tabela 3).

Tabela 3

Nos sistemas biológicos de tratamento, a temperatura figura entre um dos fatores que influenciam a taxa de descoloração. A taxa de descoloração aumenta com o acréscimo da temperatura [34]. Os resultados obtidos mostram que a maior taxa de descoloração foi obtida quando o cultivo foi realizado na temperatura de 34°C (Figura 3). Esta observação pode ser atribuída ao aumento do crescimento e da atividade enzimática aumentarem com o aumento da temperatura como observado por Asad et al [35].

O desenvolvimento industrial têxtil tem aumentado a utilização de uma ampla variedade de corantes sintéticos e a poluição dos efluentes por esses corantes tem se tornado cada vez mais alarmante em todo o mundo [8]. A descoloração e degradação microbiana de corantes têm sido consideradas

interessante devido ao seu baixo custo e por ser ecologicamente mais favorável [23].

A descoloração de soluções de corante por bactérias é conhecida por ocorrer várias formas; por adsorção à biomassa microbiana, por biodegradação dos corantes pela célula [22] ou ainda por bioacumulação, que pode ser definida como a adsorção de substâncias tóxicas por células vivas [37].

A literatura aborda amplamente a bioacumulação de corantes por microrganismos, visto que a remoção de cor de efluentes é de particular importância uma vez que a atividade fotossintética é inibida em águas coloridas [41]. Aksu (2003) estudou a bioacumulação de corantes têxteis reativos por *Saccharomyces cerevisiae* em sistema descontínuo. O efeito do tipo de corante e as suas concentrações, juntamente com pH foram testados, sendo a melhor performance alcançada a baixas concentrações de corante.

Dönmez (2002) descreveu o processo de bioacumulação de vários corantes têxteis (Remazol Azul, Reactive Preto e Reactive Vermelho) por *Candida tropicalis*, onde verificou que o crescimento das leveduras foi inibido a maior concentração de corante.

Segundo Silveira et al (2009), a bioacumulação é um processo diretamente relacionado à produção de biomassa. Para se promover uma melhor descoloração há a necessidade de uma maior produção de biomassa. No entanto, neste estudo o efeito do inóculo indicou que uma menor quantidade de células promoveu uma maior descoloração, ou seja, o maior potencial de descoloração ocorreu quando se utilizou o menor inóculo (0,17g/L). Embora o aumento na concentração de corante diminua a taxa de descoloração como descrito na literatura [8, 13, 28], este efeito não foi

verificado na faixa de concentração (40 a 60 mg/L) de corante utilizada neste estudo.

Muitos corantes são visíveis na água em concentrações tão baixas quanto 1mg/L. As águas residuais dos processamentos têxteis são altamente coloridas, possuindo uma concentração na faixa de 10-200 mg/L [10]. Desta forma, para avaliar a máxima capacidade do gênero *Pseudomonas* na remoção de corantes têxteis em altas concentrações, foi realizado um ensaio utilizando as melhores condições de temperatura e inóculo obtidos no planejamento, variando apenas a concentração do corante de 60 a 200mg/L.

Figura 3

O aumento na concentração do corante diminuiu o percentual de descoloração do corante pela *P. oleovorans*, como demonstra a Figura 3. O mesmo efeito foi verificado por Saratale et al. [8], quando estudou a descoloração do corante reativo Verde 19A por *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168. Nas concentrações de corante de 50, 100 e 150mg/L foi observada a completa descoloração (100%) enquanto que nas concentrações mais elevadas de 200 e 250mg/L apresentaram um percentual de descoloração inferior, alcançando, 66% e 50%, respectivamente.

4. Conclusões

A *P. oleovorans* demonstrou grande potencial para aplicação no processo de descoloração de efluentes têxteis contaminados, permitindo a recuperação de ambientes naturais degradados.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pelo apoio financeiro e Clariant do Brasil pelos corantes fornecidos.

Referências

- [1] Dos Santos, A. B.; Cervantes, F. J.; Van Lier, J.B. Review paper on current Technologies for decolourization of textile wastewater: Perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresour. Technol.* 98 (2007) 2369-2385.
- [2] Kalyani, D.C.; Telke, A.A.; Dhanve, R.S.; Jadhav, J.P. Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* sp. SUK1. *Journal of Hazardous Materials*, 163 (2009) 735-742.
- [3] Robinson, T.; McMullan, G.; Marchant, R.; Nigam, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresour. Technol.* 77 (2001) 247-255.
- [4] Kunz, A.; Peralta-Zamora, P.; Moraes, S.G. E Duran, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Quím. Nova*, 25 (2002) 78-82.
- [5] Ulson De Souza, S. M. A. G.; Forgiarini, E.; Ulson De Souza, A. A. Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP). *Journal of Hazardous Materials*, 147 (2007) 1073-1078.
- [6] Zanoni, M.V.B. & Carneiro, P.A. O descarte dos corantes têxteis. *Ciência Hoje*. V. 29. N. 174 (2001) 61-64.
- [7] Banat, I. M.; Nigam, P.; Singh, D.; Marchant, R. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review. *Bioresour. Technol.* 58 (1996) 217-227.
- [8] Saratale, R.G.; Saratale, G.D.; Chang, J.S.; Govindwar, S.P. Ecofriendly degradation of sulfonated diazo dye C.I. Reactive Green 19A using *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168. *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 3897-3905.
- [9] Wesenberg, D.; Kyriakides, I.; Agathos, S.N. White-rot fungi and their enzymes for treatment of industrial dye effluents. *Biotechnol. Advances*, 22 (2003) 161-187.
- [10] Pandey, A.; Singh, P.; Iyengar, L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 59 (2007) 73-84.
- [11] Khelifi, E.; Gannoun, H.; Touhami, Y.; Bouallagui, H.; Hamdi, H. Aerobic decolourization of the indigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors. *Journal of Hazardous Materials*, 152 (2008) 683-689.

- [12] Jadhav, J.P., Parshetti, G.K., Kalme, S.D., Govindwar, S.P. Decolourization of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463. *Chemosphere* 68 (2007) 394–400.
- [13] Saratale, R.G.; Saratale, G.D.; Kalyani, D.C.; Chang, J.S.; Govindwar, S.P. Enhanced decolorization and biodegradation of textile azo dye Scarlet R by using developed microbial consortium-GR. *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 2493-2500.
- [14] Zhou, J.; Xu, Y.; Qu, Y.; Tan, L. Decolorization of Brilliant Scarlet GR enhanced by bioaugmentation and redox mediators under high-salt conditions. *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 586-591.
- [15] Chang, J.-S.; Chou, C.; Chen, S.-Y. Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola*. *Process Biochem.* 36 (2001) 757-763.
- [16] Zimmermann, T.; Kulla, H.G.; Leisinger, T. Properties of Purified Orange II Azoreductase, the Enzyme Initiating Azo Dye Degradation by *Pseudomonas* KF46. *Eur. J. Biochem.* 129 (1982) 197-203.
- [17] Chang, J.-S., Chou, C., Lin, Y.-C., Lin, P.-J., Ho, J.-Y., Hu, T.L., Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola*. *Water Res.* 35 (2001) 2841–2850.
- [18] El-Naggar, M.A., El-Aasar, S.A., Barakat, K.I. Bioremediation of crystal violet using air bubble bioreactor packed with *Pseudomonas aeruginosa*. *Water Res.* 38 (2004) 4313–4322.
- [19] Ben Mansour, H., Corroler, D., Barillier, D., Ghedira, K., Chekir, L., Mosrati, R. Evaluation of genotoxicity and pro-oxidant effect of the azo dyes: acids yellow 17, violet 7 and orange 52, and of their degradation products by *Pseudomonas putida* mt-2. *Food and Chemical Toxicology.* 45 (2007) 1670–1677.
- [20] Kalme, S.D., Parshetti, G.K., Jadhav, S.U., Govindwar, S.P., 2007. Biodegradation of benzidine based dye Direct Blue-6 by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. *Bioresour. Technol.* 98 (2007) 1405–1410.
- [21] Chen, B.Y. Understanding decolorization characteristics of reactive azo dye by *Pseudomonas luteola*: toxicity and kinetics. *Process Biochemistry*, 38 (2002) 437-446.
- [22] Wu, J.; Jung, B.G.; Kim, K.S.; Lee, Y.C.; Sung, N.C. Isolation and characterization of *Pseudomonas otitidis* WL-13 and its capacity to decolorize triphenylmethane dyes. *J. Environ. Sciences*, 21 (2009) 960-964.
- [23] Verma, P. & Madamwar, D. Decolorization of synthetic dyes by a newly isolated strain of *Serratia maerascens*, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19 (2003) 615–618.
- [24] Stolz, A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Appl. Microbiol. Biotech.* 56 (2001) 69-80.
- [25] McMullan, G.; Meehan, C.; Conneely, A.; Kirby, N.; Robinson, T.; Nigam, P.; Banat, I.M.; Marchant, R.; Symth, W.F. Microbial decolourization and degradation of textile dyes. *Appl. Microbiol. Biotech.* 56 (2001) 81-87
- [26] Kalme, S.; Jadhav, S.; Jadhav, M.; Govindwar, S. Textile dye degrading laccase from *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. *Enzyme and Microbial Technology*, 44 (2009) 65-71.
- [27] Silveira, E.; Marques, P.P.; Silva, S.S.; Lima-Filho, J.L.; Porto, A.L.F.; Tambourgi, E.B. Selection of *Pseudomonas* for industrial textile dye decolourization. *Inter. Biodeter. Biodegrad.* 63 (2009) 230-235.

- [28] Lin, J.; Zhang, X.; Li, Z.; Lei, L.; Biodegradation of Reactive blue 13 a two-stage anaerobic/aerobic fluidized beds system with a *Pseudomonas* sp. Isolate. *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 34-40.
- [29] Bhatt, N., Patel, K.C., Keharia, H., Madamwar, D., Decolorization of diazo dye Reactive Blue 172 by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Basic Microbiol.* 45 (2005) 407–418.
- [30] Telke, A.A.; Joshi, S.M.; Jadhav, S.U.; Tamboli, D.P.; Govindwar, S.P. Decolorization and detoxification of Congo red and textile industry effluent by an isolated bacterium *Pseudomonas* sp. SU-EBT. *Biodegradation*. DOI 10.1007/s10532-009-9300-0, 2009
- [31] Kalyani, D.C.; Patil, P.S.; Jadhav, J.P.; Govindwar, S.P. Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas* sp SUK1. *Bioresour. Technol.* 99 (2008) 4635-4641.
- [32] Sarayu, K.; Sandhya, S. Aerobic Biodegradation Pathway for Remazol Orange by *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Biochem Biotechnol*, (2009) DOI 10.1007/s12010-009-8592-1.
- [33] Gomare, S.S.; Tamboli, D.P.; Kagalkar, A.N.; Govindwar, S.P. Eco-friendly biodegradation of a reactive textile dye Golden Yellow HER by *Brevibacillus leterosporus* MTCC2298. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 63 (2009) 582-586.
- [34] Pearce, C.I.; Lloyd, J.R.; Guthrie, J. T. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. *Dyes Pigments*, 58 (2003) 179-196.
- [35] Asad S.; Amoozegar, M.A.; Pourbabae, A.A.; Sarbolouki, M.N.; Dastgheib, S.M.M. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *Bioresour. Technol.* 98 (2007) 2082–2088.
- [36] Chen, K.-C.; Wu, J.-Y.; Liou, D.-J.; Hwang, S.-C.J. Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *Journal Biotech.* 101 (2003) 57–68.
- [37] Vijayaraghavan, K.; Yun, Y.-S. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotech. Advances.* 26 (2008) 266-291.
- [38] Jadhav, J.P.; Phugare, S.S.; Dhanve, R.S.; Jadhav, S.B. Rapid biodegradation and decolorization of Direct Orange 39 (Orange TGLL) by an isolated bacterium *Pseudomonas aeruginosa* strain BCH. *Biodegradation*, (2009) DOI 10.1007/S10532-009-9315-6.
- [39] Kalme, S.D.; Parshetti, G.K.; Jadhav, S. U.; Govindwar, S.P. Biodegradation of benzidine based dye Direct Blue-6 by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. *Bioresour. Technol.* 98 (2007) 1405-1410.
- [40] Saratale, R.G.; Saratale, G.D.; Chang, J.S.; Govindwar, S.P. Decolorization and biodegradation of textile dye Navy blue HER by *Trichosporon beigelli* NCIM-3326. *Journal of Hazardous Materials.* 166 (2009) 1421-1428.
- [41] Dönmez G. Bioaccumulation of the reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium. *Enzyme Microb Technol.* 30 (2002) 363–366.
- [42] Aksu Z. Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochem* 38 (2003)1437–44.

Legenda de Figuras

Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos principais tendo como variável resposta a descoloração de corante têxtil por *P. oleovorans* após 48 horas ($p = 0,05$). (1) Inóculo; (2) Concentração de corante; (3) Temperatura

Figura 2. Gráfico de cubo das variáveis (inóculo, concentração de corante e temperatura) tendo como variável resposta a descoloração

Figura 3. Percentual de descoloração em diferentes concentrações de corante

Legenda de Tabelas

Tabela 1. Níveis das variáveis do planejamento fatorial 2^3 utilizadas na descoloração do corante B15 pela *P. oleovorans*.

Tabela 2. Planejamento fatorial completo 2^3 e valores obtidos na descoloração (%) do corante têxtil por *P. oleovorans* após 48 horas de cultivo.

Tabela 3. Descoloração de corantes têxteis utilizando bactérias

Figura 1

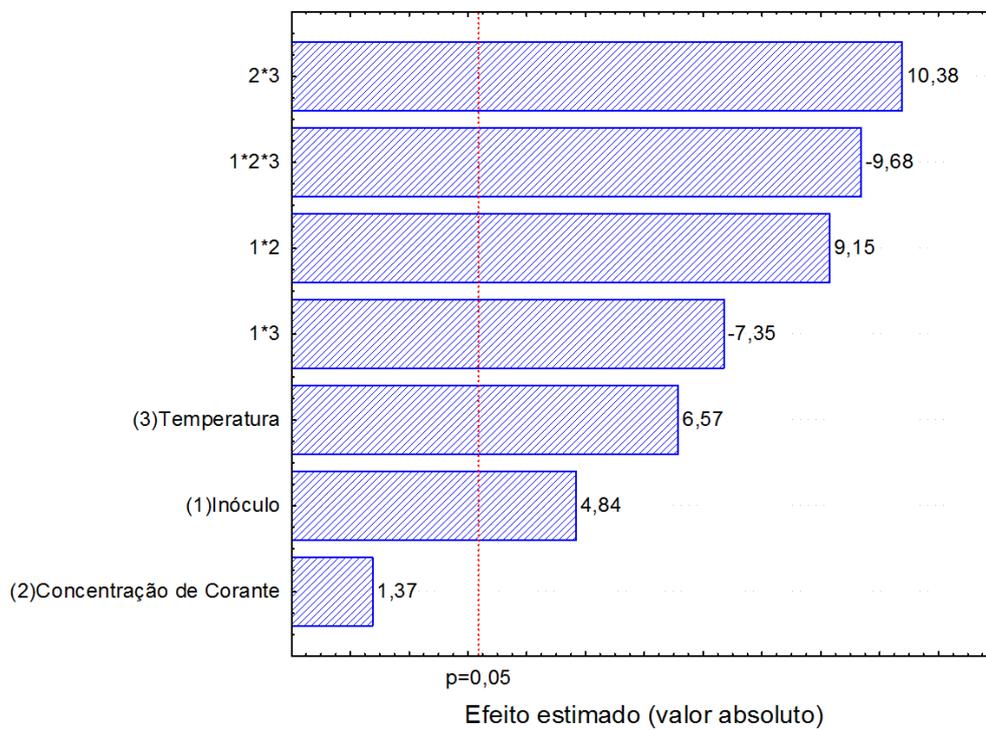


Figura 2

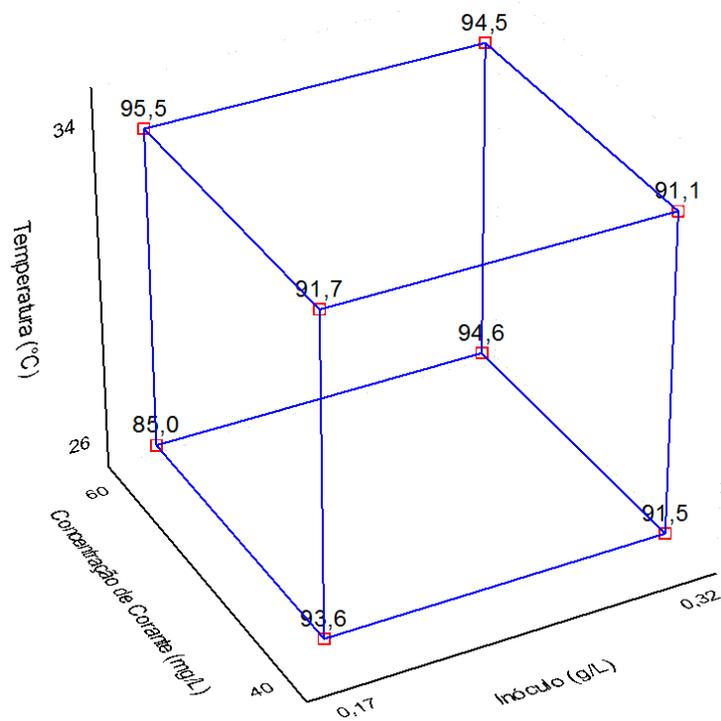


Figura 3

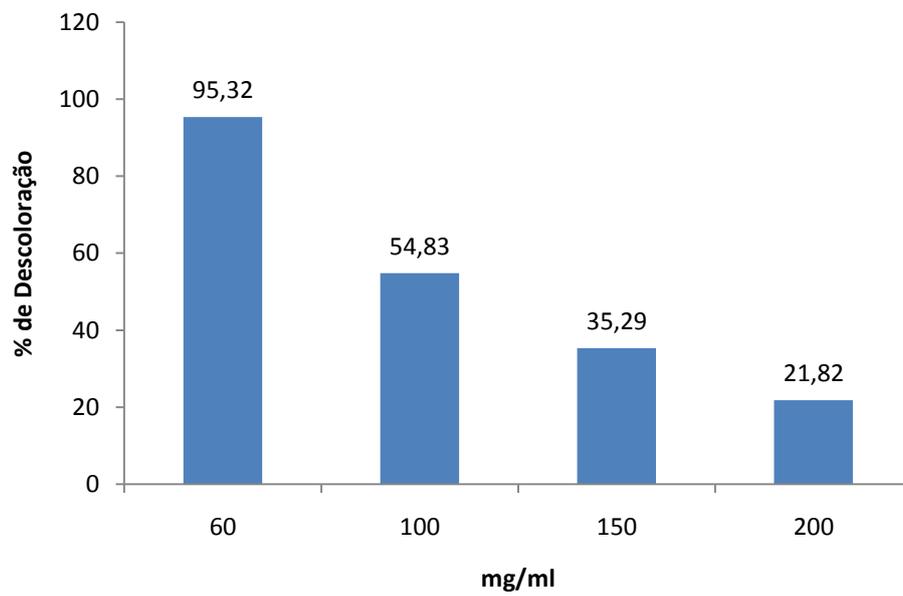


Tabela 1

| Variáveis | Níveis | | |
|--------------------------------|------------------|----------------|------------------|
| | Inferior (-1) | Central (0) | Superior (+1) |
| Inóculo (g/L) | 0,17 | 0,24 | 0,32 |
| Concentração do corante (mg/L) | 40 | 50 | 60 |
| Temperatura (°C) | 26 | 30 | 34 |

Tabela 2

| Ensaio | Variáveis | | | Descoloração (%) |
|--------|------------------|-------------------|---------------------|------------------|
| | Inóculo (g/L) | Corante (mg/L) | Temperatura (°C) | |
| 1 | 0,17 | 40 | 26 | 93,42 |
| 2 | 0,32 | 40 | 26 | 91,37 |
| 3 | 0,17 | 60 | 26 | 84,82 |
| 4 | 0,32 | 60 | 26 | 94,41 |
| 5 | 0,17 | 40 | 34 | 91,52 |
| 6 | 0,32 | 40 | 34 | 90,91 |
| 7 | 0,17 | 60 | 34 | 95,32 |
| 8 | 0,32 | 60 | 34 | 94,38 |
| 9 (C) | 0,24 | 50 | 30 | 92,04 |
| 10 (C) | 0,24 | 50 | 30 | 92,77 |
| 11 (C) | 0,24 | 50 | 30 | 93,07 |
| 12 (C) | 0,24 | 50 | 30 | 92,48 |

(C) - Pontos centrais

Tabela 3

| Microrganismo | Corante | Concentração de Corante (mg/L) | % Descoloração | Referencia |
|---|--------------------|--------------------------------|----------------|-------------|
| <i>Pseudomonas</i> sp. SUK1 | Reativo Vermelho 2 | 1000 - 5000 | 80,0 – 95,0 | [2] |
| <i>Pseudomonas</i> sp | Reativo Azul 13 | 50 - 400 | 83,20 | [28] |
| <i>Pseudomonas</i> sp. SUK1 | Vermelho BLI | 50 | 99,28 | [31] |
| <i>P. aeruginosa</i> | Remazol Laranja | 50 | 82,40 | [32] |
| <i>P. desmolyticum</i> NCIM 2112 | Direto Azul 6 | 50 – 100 | 92,0 – 100,0 | [39] |
| <i>P. aeruginosa</i> BCH | Direto Laranja 39 | 50 | 93,06 | [38] |
| <i>Trichosporon beigeilii</i> NCIM-3326 | Reativo Azul 171 | 50 | 100 | [40] |
| <i>Brevibacillus laterosporus</i> MTCC 2298 | Amarelo Golden HER | 50 | 87,0 | [33] |
| <i>P. oleovorans</i> | Corante B15 | 60 | 95,3 | Este estudo |

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As variáveis inóculo, concentração de corante e temperatura influenciam o processo de descoloração de corantes têxteis por *Pseudomonas oleovorans* CBMAI 0703.

As condições ideais para a descoloração por *P. oleovorans* foram obtidas nos maiores níveis de temperatura e concentração de corante estudada.

A concentração de corante influencia a eficiência da descoloração. Após 48 horas de cultivo, a eficiência da descoloração de 60mg/L de corante foi de 95,32%, já 200mg/L foi de 21,82%.

P. oleovorans CBMAI 0703 demonstrou grande potencial para aplicação no processo de descoloração de efluentes têxteis contaminados, permitindo a recuperação de ambientes naturais degradados.

ANEXOS

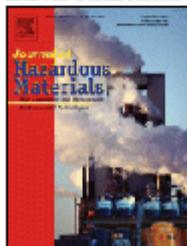


<http://www.elsevier.com>

[Browse Journals](#) > [Journal of Hazardous Materials](#) > Guide For Authors

Journal of Hazardous Materials

Environmental Control, Risk Assessment, Impact and Management



ISSN: 0304-3894

Imprint: ELSEVIER

Actions

-  [Submit Article](#)
-  [Order Journal](#)
-  [Free Sample Issue](#)
-  [Recommend to Friend](#)
-  [Bookmark this Page](#)

Statistics

[Impact Factor](#): 2.975

[5-Year Impact Factor](#): 3.212

[Issues per year](#): 33

Additional Information

- [Related Publications](#)
- [Editorial Board](#)
-  [Login to Editorial System](#)
- [Advertisers Media Information](#)
- [Request permissions](#)
- [Free Volume/Issue Alert with links to full-text articles](#)

Readers

- [Order Journal](#)
-  [Access Full-Text](#)
-  [Free Sample Issue](#)

- [Volume/Issue Alert](#)
- [Free Tables of contents and abstracts](#)

Authors

- [Authors Home](#)
- [Submit an Article](#)
- [Track Your Accepted Articles](#)
- [Guide for Authors](#)
- [Artwork instructions](#)
- [Authors Rights](#)
- [Funding Bodies Compliance](#)

Librarians

- [Librarians Home](#)
- [Ordering Information and Dispatch Dates](#)
- [Abstracting/Indexing](#)

Editors

- [Editors Home](#)
- [Article Tracking for Editors](#)
- [Ethics Questions \(PERK\)](#)

Reviewers

- [Reviewers Home](#)

Advertisers/Sponsors

- [Advertisers Home](#)
- [Reprints Information](#)

 [Printer-friendly](#)

Guide for Authors

Environmental Control, Risk Assessment, Impact and Management

INTRODUCTION

• [Types of Paper](#)

BEFORE YOU BEGIN

• [Ethics in Publishing](#)

• [Conflict of interest](#)

• [Submission declaration](#)

• [Copyright](#)

• [Retained author rights](#)

• [Role of the funding source](#)

• [Funding body agreements and](#)

• [Submission](#)

PREPARATION

• [Use of wordprocessing software](#)

• [Article structure](#)

• [Experimental](#)

• [Essential title page information](#)

• [Abstract](#)

• [Keywords](#)

• [Abbreviations](#)

• [Footnotes](#)

• [Artwork](#)

• [Tables](#)

• [References](#)

• [Video data](#)

• [Supplementary data](#)

• [Submission checklist](#)

AFTER ACCEPTANCE

• [Use of the Digital Object Identifier](#)

[policies](#)[• Language and language services](#)[• Acknowledgements](#)[• Nomenclature and units](#)[• Proofs](#)[• Offprints](#)[AUTHOR INQUIRIES](#)

Introduction

The Journal publishes full length research papers, reviews, case studies and short communications which improve our understanding of the hazards and risks certain materials pose to people and the environment or deal with ways of controlling these hazards and associated risks. The Editors particularly welcome proposals for review articles. Authors must clearly state what is novel about their research in the cover letter. Papers that lack novel results will be rejected.

The *Journal of Hazardous Materials* publishes high-impact contributions on:

- Characterization of the harmful effects of hazardous materials
- Impact assessment methods and models – acute and chronic effects of hazardous chemical releases
- Risk assessment and management
- Pollution control processes
- Inherently safer and cleaner technologies
- Treatment and disposal of solid, liquid and gaseous hazardous waste
- Remediation of contaminated soil and groundwater

Please note that the Journal does not accept self-nominations to the Editorial Board. Decisions regarding Board Member invitations are made only after careful consideration at the annual Journal Editors meeting.

Types of Paper

Research papers are not to be submitted in two parts (i.e. Part I and Part II) - these must be consolidated into one manuscript.

The Editors welcome proposals for review articles. Proposals must contain the following three components for consideration: (1) brief summary of the proposed review article content, (2) brief description of the author's academic background and research areas, and (3) a list of publications related with the proposed review article topic. Please send your proposals to one of the Editors directly using the e-mail addresses available on the Journal homepage: [✉](mailto:) <http://www.elsevier.com/locate/hazmat>. Note that submission of review articles is by invitation only, pending approval of the proposal by the Editors.

Short Communications report the results of preliminary studies, partial research results from an ongoing study, results from studies limited in scope, or raise a critical issue or question based on such results. Short communications should follow all the basic requirements of full paper manuscripts, but must not exceed 12 double-spaced manuscript pages including figures, tables, text and references. An abstract must be submitted with a Short Communication. Short Communications should be identified as such at the time of submission.

Letters to the Editor will undergo review. Any letters to the editors received will be circulated to

all editors before a decision is made whether to publish. Authors will also be given an opportunity to respond.

To ensure conciseness, follow these maximum word count guidelines: short communication: 3,000 words; regular paper: 5,000 words; review article: 15,000 words. Cover letters must state the manuscript word count, which includes text, figures, and table legends, but not references.



Before You Begin

Ethics in Publishing

For information on Ethics in Publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the paper for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Language and language services

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languageediting> or our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com> for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online. Use the following guidelines to prepare your article. Via the homepage of this journal (<http://ees.elsevier.com/hazmat/>) you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. The system automatically converts source files to a single Adobe Acrobat PDF version of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail and via the author's homepage, removing the need for a hard-copy paper trail.

Manuscripts must conform to the following guidelines for revised manuscripts or they will be rejected.

Should Authors be requested by the Editor to revise their submission, the revised version should be submitted within **two months**. Please note that revised manuscripts will be sent out for review because revising a manuscript does not automatically mean it will be accepted for publication.

In the revision letter, authors must transcribe each reviewer's comments into the letter, followed by the author's responses. Any associated changes in the manuscript (including page and line number) must be copied down in the revision letter. This will help the Editor compare the reviewer comments with both the replies and the changes made in the manuscript. The replies to the reviewers' comments must also be reflected in the revised manuscript wherever possible (not just in the revision letter). Authors must give clear reasons if they choose not to make changes according to the reviewer suggestions. In the revised manuscript, authors must indicate how the manuscript was changed according to the reviewer comments by highlighting the revisions (all new text/data/figures) with colour. Only one final revised version the manuscript must be uploaded.

Authors must provide the original manuscript number, the name of the original handling Editor, and state whether the revised manuscript is a resubmission of a rejected manuscript both in EES and in the cover letter in order to ensure that it is assigned to the original

handling Editor.

Upon resubmission of a rejected manuscript, Authors will be required to upload the decision letter from the Editor requesting submission of the rejected manuscript, the original Reviewer comments of the rejected manuscript, the responses to the Reviewer comments, and the original manuscript number. The resubmitted manuscript must indicate, in color, where the revisions were made in the paper in response to the Reviewer comments.

**Preparation****Use of wordprocessing software**

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

Article structure***Subdivision - numbered sections***

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text". Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Experimental

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on.

Essential title page information

Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name, and, if available, the e-mail address of each author.

Corresponding author. Clearly indicate who is willing to handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **The submitting author and the corresponding author must be the same person. Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required (100-200 words). The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 5 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here

those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) ¹⁴ <http://www.iupac.org/> for further information.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

□ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

DÓC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

Please do not:

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to "gray scale" (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Manuscripts must contain at least 10 references. The references must cite recent and relevant research only. At least half (50%) of the references should be published within the last 10 years.

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either "Unpublished results" or "Personal communication" Citation of a reference as "in press" implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Reference management software

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (□ <http://www.endnote.com>) and Reference Manager (□ <http://www.refman.com>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: "..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result"

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2000) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, third ed., Macmillan, New York, 1979.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 1999, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to

Index Medicus journal abbreviations: → <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>;

List of serial title word abbreviations: □ → <http://www.issn.org/2-22661-1-TWA-online.php>;

CAS (Chemical Abstracts Service): ⇨ <http://www.cas.org/sent.html>.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a maximum size of 30 MB and running time of 5 minutes. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: ⇨ <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at □ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: ⇨ <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at ⇨ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

It is hoped that this list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any

item.

Ensure that the following items are present:

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at

<http://epsupport.elsevier.com>.



After Acceptance

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):

doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the

typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.



Author Inquiries

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit this journal's homepage. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle> and set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed. Also accessible from here is information on copyright, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher.

[↑ Top of Page](#)