Tratamento de corantes do tipo azo utilizados na indústria têxtil com fungos *A. niger* e *P. ostreatus*.

Treatment of azo-types dyes used in the textile industry with the fungi *A. niger* and *P. ostreatus*.

Daniela Araujo Motohiro*, Regina Y. H. Miura**, Vera M. V. Vitali***.

Resumo

Os corantes possuem alta solubilidade em água e resistência a degradação microbiana, dificultando sua decomposição, portanto, prejudiciais ao ambiente se despejados sem tratamento. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a capacidade de descoloração por degradação e adsorção dos corantes têxteis laranja (Nylosan Laranja S-3R sgr) e azul (Lanaset Blue 2RA) pelos fungos *Aspergillus niger* CCIBt [1]931 e *Pleurotus ostreatus* CCIBt 2352. Para cada bioensaio, foram realizados repiques das linhagens em meios adequados para seu crescimento. Para avaliar a degradação, após obtenção da biomassa, estas foram introduzidas em meio contendo a concentração de 0,2 g/L de cada corante e incubadas a 25ºC por 15 dias, sob agitação. Na adsorção, a biomassa foi autoclavada e submetidas as mesmas condições. Após esse período foi avaliada a descoloração do meio líquido por espectrofotometria. A toxicidade foi avaliada em sementes de *Cucumis sativus* após 76 horas de semeadura em contato com meio pós-tratamento. *A. niger* foi capaz de degradar o corante azul e laranja em 62,64% e 95,39%, respectivamente, e *P. ostreatus* 97,70% e 99,99%, respectivamente. Os tratamentos diminuíram a toxicidade em relação aos controles. Já nos tratamentos com as biomassas autoclavadas, a adsorção dos corantes azul e laranja foram 88,08% e 73,96% para *A. niger*, e 15,46% e 1,91% para *P. ostreatus* respectivamente. Contudo, a solução tratada por *A. niger* se tornou tóxica igualando-se ao controle negativo. Já para *P. ostreatus* não ocorreu alteração na toxicidade. Desta forma, a utilização dos fungos vivos apresenta melhores resultados quanto a descoloração e toxicidade, destacando-se *P. ostreatus*.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, descoloração, *Pleurotus ostreatus.*

Abstract

Dyes have high solubility in water and resistance to microbial degradation, making it difficult to decompose, therefore, harmful to the environment if dumped without treatment. The objective was to evaluate the capacity of discoloration by degradation and adsorption of textile dyes orange (Nylosan Orange S-3R sgr) and blue (Lanaset Blue 2RA) by the fungi *Aspergillus niger* CCIBt 1931 and *Pleurotus ostreatus* CCIBt 2352. Strains in suitable media for their growth. To evaluate the degradation, after obtaining the biomass, these were introduced into a medium containing a concentration of 0.2 g/L of each dye and incubated at 25ºC for 15 days, under agitation. In the adsorption, the biomass was autoclaved and subjected to the same conditions. After this period, the discoloration of the liquid medium was evaluated by spectrophotometry. Toxicity was evaluated in *Cucumis sativus* seeds after 76 hours of sowing in contact with post-treatment medium. *A. niger* was able to degrade the blue and orange dye in 62.64% and 95.39%, respectively, and *P. ostreatus* 97.70% and 99.99%, respectively. Treatments decreased toxicity relative to controls. In the treatments with autoclaved biomass, the adsorption of blue and orange dyes were 88.08% and 73.96% for *A. niger*, and 15.46% and 1.91% for *P. ostreatus* respectively. However, the solution treated by *A. niger* became toxic equaling the negative control. As for *P. ostreatus*, there was no change in toxicity. In this way, the use of live fungi presents better results in terms of discoloration and toxicity, with emphasis on *P. ostreatus.*

Keys-words: *Aspergillus niger*, discoloration, *Pleurotus ostreatus.*

1. INTRODUÇÃO

Desde o início das ações antrópicas, o meio ambiente tem sido impactado negativamente, e após a Revolução Industrial em 1760, a geração e consumo de produtos industrializados ocasionaram o aumento na produção de resíduos, rejeitos e grandes volumes de efluentes que carregam consigo altas quantidades de compostos orgânicos que acarretam a contaminação do ambiente hídrico[1]. O setor têxtil é um dos maiores consumidores de água entre as indústrias, produzindo cerca de 50 a 100 litros de efluentes a cada quilo de tecido gerado[2]. Para a produção e coloração é necessário seguir algumas etapas, e dentre elas, a etapa de tingimento é a mais crítica em virtude da fixação incompleta dos corantes sintéticos no tecido[3]. O Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA com sua Resolução nº 357 de 2005, recentemente complementada pela Resolução 430 de 2011, estabelece parâmetros para que um efluente seja lançado em um corpo d'água, devendo ser tratado com as condições, padrões e exigências do órgão[4]. Entretanto, cerca de 2 a 50% dos corantes são perdidos durante o processo de lavagem dos tecidos nas indústrias têxteis[5]. Os organismos com potencial para a composição do tratamento dessas águas, são os fungos. Eles podem realizar a adsorção da coloração do efluente e a degradação de compostos recalcitrantes[1]. Deste modo, este projeto visa analisar por meio de experimentos, a capacidade dos fungos *Aspergillus niger* e *Pleurotus ostreatus* para a degradação e descoloração de corantes sintéticos do tipo AZO utilizados na indústria têxtil que geralmente são descartados em seus efluentes sem nenhum tipo de tratamento.

INDUSTRIA TÊXTIL

Os efluentes líquidos provenientes das indústrias têxteis poluem os corpos hídricos devido ao descarte incorreto de efluentes não tratados que apresentam altas concentrações de compostos químicos e orgânicos. Dentre os principais compostos, têm-se os corantes do tipo AZO, que são altamente nocivos ao meio ambiente e de difícil deterioração[6]. Para lidar com este problema, além dos tratamentos físico-químicos existem sistemas que utilizam

microrganismos para decomposição desses materiais, visto que sozinhos, não são totalmente eficazes[7]. Sendo uma das principais indústrias no país, a tecelagem é uma das grandes geradoras de poluentes, pois em seus processos de produção utilizam materiais orgânicos e inorgânicos tóxicos, e que descartados de forma inapropriada, podem atingir reservatórios e estações de tratamento de água tornando-se um risco para a fauna e flora aquáticas e encarecendo o tratamento de água para consumo humano[2].

CORANTES

Os corantes são utilizados desde o Paleolítico, e estes, denominados corantes naturais, eram extraídos de frutas, casca de árvores e até de pequenos animais. Atualmente, os corantes, naturais e sintéticos, utilizados na indústria têxtil são perdidos para o ambiente durante o processamento de tingimento das fibras têxteis, sendo desperdiçados em torno de 1,2 toneladas de corantes diariamente. Isso ocorre principalmente devido a incompleta fixação deles nas fibras dos tecidos. A poluição por corantes é facilmente percebida, podendo ser detectada visualmente em concentrações na ordem de 1mg L^{-1} [8].

Os corantes podem ser classificados por meio de suas estruturas ou modo de fixação. Aqueles denominados corantes azoicos são os mais utilizados no mundo, contêm no mínimo um grupo azo em suas estruturas, são insolúveis em água, sendo impregnados na fibra com agentes de acoplamento. Os corantes reativos são capazes de formar ligações covalentes com grupos hidroxila, amino e tióis, contêm ligações do tipo azo e antraquinona, para sua fixação ocorre uma reação entre o grupo nucleofílico com o grupo hidroxila da celulose (figura 1).

$$R - SO_2 - CH_2 - CH_2 - OSO_3Na \xrightarrow{OH^-} R - SO_2 - CH = CH_2 + Na_2SO_4$$

$$R - SO_2 - CH = CH_2 + O - celulose \xrightarrow[OH^-]{} R - SO_2 - CH_2 - CH_2 - O - celulose$$

Figura 1 - Exemplo do processo de tintura de algodão com corante contendo o grupo sulfatoetilsufona como centro reativo da *molécula*[8].

As moléculas dos corantes apresentam, em geral, pelo menos um grupo aromático, que contém benzeno, xilenos, tolueno, naftalenos, e outros

compostos aromáticos, o que pode lhes conferir características tóxicas, mutagênicas e carcinogênicas[9].

FUNGOS

Os fungos são organismos aclorofilados pertencentes ao reino Fungi. Existem fungos unicelulares como as leveduras, que se reproduzem por brotamento e divisão binária, e pluricelulares como os cogumelos que se reproduzem por esporos e são formados por hifas que juntas geram o micélio. Para sua nutrição, eles degradam matéria orgânica do ambiente e absorvem em seguida por meio de exoenzimas[10]. Grande parcela dos membros desse reino são conhecidos como saprófitos, mas existem situações em que atuam como parasitas, patógenos, predadores ou simbióticos[11].

Aspergillus niger pertence ao gênero *Aspergillus,* cujos organismos são filamentosos, aeróbicos e com rápido crescimento de biomassa. Essa espécie é cosmopolita e tolera condições extremas de temperatura, umidade e pH[12]. As colônias desses microrganismos possuem conídios esféricos de aspecto rugoso e de cor negra[13]. Este fungo sintetiza diversas enzimas a depender do substrato em que ele se encontra, como enzimas celulolíticas[14]. *A. niger* desempenha um papel vital não apenas na produção de metabólitos secundários essenciais, mas também na capacidade de adsorver compostos através de sua biomassa micelial, independentemente de estar ativa ou não. Isso é particularmente útil para remover partes de substâncias tóxicas de resíduos, como em efluentes[15].

Os basidiomicetos reúnem diferentes espécies de fungos, tanto venenosos quanto comestíveis, são conhecidos como cogumelos, orelhas-de-pau, ferrugens etc. Eles desempenham um papel fundamental na decomposição de matéria orgânica vegetal, e constituem grande parte da biomassa viva encontrada nos solos. É um filo no qual se observa basidiocarpo e estrutura de produção de esporos, denominados neste grupo de basidiósporos[10]. Esse grupo de fungos produz diversas enzimas, as quais as hidrolases e lignases se destacam em estudos sobre processos de degradação de compostos tóxicos, fármacos, e outros poluentes orgânicos sintéticos[16].

Os fungos apresentam diversas características que os tornam importantes para o procedimento de remoção de corante têxtil, especialmente

os basidiomicetos, por sua habilidade de produzir enzimas e compostos para degradação. Desta forma, durante o tratamento de micorremediação, o fungo é capaz de crescer sob condições ambientais extremas. Conduzido quimiostaticamente em direção à fonte de carbono orgânico, através do crescimento e da ramificação das hifas[17].

Os fungos têm mostrado serem organismos apropriados para o tratamento de efluentes têxteis na descoloração, pois algumas espécies são capazes de quebrar compostos resistentes à decomposição[18]. Essa capacidade é resultado da habilidade desses microrganismos em reconhecer corantes, que são então consumidos como fonte de nutrientes. Isso dá início a um processo de absorção, no qual os corantes são transformados em substâncias mais básicas e assimiláveis pelos filamentos do fungo[19]. Podem ser aplicados no processo de remoção tanto na forma in vivo como imobilizados e com baixo custo de manutenção.

POTENCIAL DE USO DOS FUNGOS

Ao longo das últimas décadas houve um aumento do uso de fungos filamentosos e seus metabólitos na biorremediação, pois há um potencial de degradação, sorção de metais e corantes, bem como seus mecanismos de resistência em condições ambientais desfavoráveis[20]. Fungos da podridão branca são conhecidos por degradarem naturalmente lignina, celulose e hemicelulose, seus sistemas enzimáticos têm sido estudados para a degradação de outras moléculas resistentes[21]. Muitos fungos e bactérias têm sido empregados na remoção de metais pesados, produzindo compostos ligantes como ácidos orgânicos, alcoóis, polissacarídeos, ácidos húmicos e fúlvico[22], além de adsorção e acumulação intracelular[23]. Fungos filamentosos, em particular, se destacam na remoção de metais e corantes do ambiente, devido à sua resistência a metais tóxicos, permitindo seu crescimento em meio com altas concentrações de poluentes[24]. Fungos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, Saccaromyces e *Trichoderma* são eficazes na remoção de metais pesados de soluções aquosas. Além disso, estes microrganismos têm sido usados para degradar combustíveis como gasolina, óleo diesel e resíduos

de petróleo, especialmente os compostos tóxicos como benzeno, tolueno, etilbenzeno e isômeros de xileno[25].

Por fim, os corantes azo, amplamente usados na indústria têxtil, são desafiadores para degradação devido à sua resistência à luz ultravioleta e produtos químicos, o que dificulta sua remoção dos corpos hídricos[26]. Remover substâncias orgânicas solúveis, tóxicas e outras impurezas dos efluentes é crucial e, nesse sentido, dois enfoques principais são considerados: a degradação de materiais tóxicos e a adsorção da cor[7]. É imprescindível desenvolver estratégias para descoloração e degradação de corantes, a fim de evitar a contaminação inadequada dos recursos hídricos, dada a limitada fiscalização e monitoramento dos resíduos descartados.

Portanto, o objetivo deste trabalho será avaliar o desempenho dos fungos *Aspergillus niger* e *Pleurotus ostreatus* na degradação e adsorção dos corantes azul (Lanaset Blue 2RA) e laranja (Nylosan Laranja S-3R sgr) utilizados na indústria têxtil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Toda a parte de preparo de meios de cultura, cultivo dos fungos, e algumas análises espectrofotométricas foram realizadas no Laboratório de Micologia Aplicada do Instituto de Pesquisas Ambientais – IPA, sob a orientação externa da Pesquisadora Científica em Micologia Drª Vera Vitali, e auxílio do biólogo Alan Novaes dos Santos. Parte das análises espectrofotométricas, e os testes de toxicidade foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paulista, campus Tatuapé.

ISOLADOS FÚNGICOS

P. ostreatus e *A. niger* foram doados pelo Instituto de Pesquisas Ambientais - IPA. As culturas foram mantidas em meio de cultura adequados ao seu crescimento em BOD a 25ºC.

MEIOS DE CULTURA

A tabela 1 apresenta os componentes utilizados para a produção do meio de cultura Sabouraud utilizado no crescimento de *A. niger*.

Tabela 1 - Composição do meio Sabouraud.

Elementos	Qtde.
Ágar	15g
Água destilada	1 L
Glicose	40g
Peptona Bacteriológica	10g

Fonte: Autor.

A tabela 2 apresenta os componentes utilizados para a produção do Meio Extrato de Malte utilizado no crescimento de *P. ostreatus*.

Tabela 2 - Composição do meio MEA

Elementos	Qtde.
Ágar	15,0g
Água destilada	1L
Extrato de malte	20,0g
Glicose	20,0g
Peptona bacteriológica	1,0g

Fonte: Autor.

A tabela 3 apresenta os componentes utilizados para a produção do Meio Basal utilizado como fonte de alimento para *A. niger* e *P. ostreatus*.

Tabela 3 - Composição do meio MB

Elementos	Qtde.
Água destilada	1L
Cloreto de cálcio (CaCl2)	0,013g
Fosfato monopotássio (KH2PO4)	0,2g
Glicose	5g
Sulfato cúprico (CuSO4 H2O)	0,0499g
Sulfato de Magnésio (MgSO4)	0,05g
Sulfato de Manganês (MnCl2)	0,016g
Tartarato de amônio	0,45g

Fonte: Autor.

Em todos os meios a esterilização foi realizada a 1 atm e 121°C por 15 minutos.

CORANTES SINTÉTICOS

Foram utilizados os corantes azoicos Nylosan Laranja S-3R sgr fabricado pela indústria Archoma Management GmbH e Lanaset Blue 2RA fabricado pela indústria Huntsman Química Brasil Ltda, ambos obtidos comercialmente pela empresa Latina Têxtil localizada em Santa Catarina.

CONDIÇÕES DE CULTIVO E DESCOLORAÇÃO POR DEGRADAÇÃO DOS CORANTES PELOS FUNGOS *A. NIGER E P. OSTREATUS* – BIOMASSA VIVA

Para o preparo do pré-inóculo, a partir do cultivo de cada um dos fungos em 10 placas de Petri por 15 dias a 25 °C em meios adequados para *Pleurotus ostreatus* e *Aspergillus niger*, foram retirados e transferidos três cilindros do meio sólido contendo o fungo (5 mm de diâmetro) para cada um de 10 frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de Meio MEA líquido, para *P. ostreatus*, e meio Sabouraud líquido para *A. niger*. Os frascos foram incubados a 25 °C sob e 120 rpm por mais 15 dias.

Utilizando-se uma Bomba de Vácuo foi retirado o meio de cultivo, e a solução salina estéril (NaCl 0,9%), utilizada nas três lavagens da biomassa fúngica. Em seguida, a biomassa de cada uma das espécies foi transferida para novos 10 frascos Erlenmeyers contendo 50 mL de meio Mínimo Basal (MB), 5 deles suplementados com o corante Nylosan Laranja S-3R sgr e 5 com o corante Lanaset Blue 2RA nas concentrações de 0,2 g/L, que foram incubados por um novo período de 15 dias a 25 °C e 120 rpm.

Após o período do ensaio de descoloração, o conteúdo de cada um dos Erlenmeyers foi transferido para tubos tipo Falcon e então centrifugados a 10.000 rpm a 4 °C por 15 min., para a separação da biomassa do sobrenadante. Com o sobrenadante foi realizado o teste de descoloração no espectrofotômetro. Os ensaios foram realizados com 5 réplicas de cada corante tratado com a massa fúngica, e para o controle negativo foram utilizadas 3 réplicas de cada corante apenas no meio MB (ausência de pré-inóculo).

DESCOLORAÇÃO POR ADSORÇÃO DOS CORANTES PELOS FUNGOS *A. niger* E *P. ostreatus* – BIOMASSA AUTOCLAVADA

Para verificar a adsorção dos corantes azul e laranja pelo micélio fúngico, foram utilizados 3 discos (5 mm de diâmetro) de ágar e micélio de cada cultivo prévio, os quais foram transferidos para 10 Erlenmeyers contendo 50 mL de cada meio e incubados a 25 °C com agitação de 120 rpm, por 7 dias e obter a biomassa.

Após esse período, os ensaios foram autoclavados por 40 min a 1 atm para a inativação de possíveis enzimas que possam atuar na degradação do corante. O inóculo autoclavado foi transferido para outros 10 Erlenmeyers contendo 50 mL de meio MB acrescido com os corantes azul e laranja na concentração de 0,2 g/L, seguido de incubação por 7 dias a 120 rpm, nas mesmas condições descritas anteriormente.

Após o período de incubação, as soluções foram submetidas a análises de espectrofotometria no comprimento de onda com máxima absorção de cada corante para determinação da percentagem de adsorção. A taxa de adsorção foi calculada utilizando a equação:

$$\%\ de\ adsorção = (absorbância\ inicial - absorbância\ final) / (absorbância\ inicial) * 100$$

QUANTIFICAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DOS MEIOS

Os tratamentos foram centrifugados a 10.000 rpm para separação da biomassa dos sobrenadantes, sendo esses últimos avaliados espectrofotometricamente em amplo espectro (190 nm a 1100 nm). Como controle foi utilizado o meio MB suplementado pelos corantes Nylosan Laranja S-3R sgr e Lanaset Blue 2RA, sem a presença dos fungos. O percentual de descoloração foi avaliado no comprimento de onda, onde houve o pico de absorbância máxima do corante e a taxa de descoloração foi calculada com o uso da equação:

$$\%\ de\ descoloração = (absorbância\ inicial - absorbância\ final) / (absorbância\ inicial) * 100$$

ANÁLISE DA FITOTOXICIDADE COM *Cucumis sativus*

Para testar a toxicidade dos bioensaios com os corantes Nylosan Laranja S-3R sgr e Lanaset Blue 2RA (0,2 g/L) após os tratamentos, foram utilizadas sementes de pepino (*Cucumis sativus*) cultivadas em placas de Petri[27] e as normas EPA (*Environmental Protection Agency* – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) com modificações[28].

Para a análise dos ensaios com *A. nige*r, foram utilizadas 5 placas com 20 sementes em cada para o controle positivo, negativo e para cada um dos dois corantes tratados com o fungo. Para os controles dos corantes não tratados com o fungo, foram utilizadas 3 placas com 20 sementes em cada. Em cada uma das placas foram colocados filtro de papel, 20 sementes livres de agrotóxicos e 10 mL de cada bioensaio. Após o preparo, as placas foram envoltas em filme plástico, para evitar a evaporação, e acondicionadas em estufa a 24 °C ao abrigo de luz, por 76 horas. Como controle negativo foi utilizada a solução de ZnSO4 (0,05 M) para a inibição da germinação e para no controle positivo, água destilada. Ao final do período de exposição, foram quantificadas as porcentagens de germinação e as raízes de 5 sementes, escolhidas ao acaso, de cada placa, foram medidas.

Para a análise dos ensaios com o *P. ostreatus*, foram utilizadas 5 placas com 10 sementes em cada para o controle positivo, negativo e para cada um dos dois corantes tratados com o fungo. Para os controles dos corantes não tratados com o fungo, foram utilizadas 3 placas com 10 sementes em cada. Para esta análise, todas as sementes germinadas de cada placa, tiveram o comprimento de sua raiz medida.

Para calcular a taxa de inibição de crescimento foi utilizada a equação:

$$\%\ de\ inibição = (média\ do\ controle\ positivo - média\ do\ bioensaio) / (média\ do\ controle\ positivo$$

O experimento foi repetido nos ensaios com os fungos autoclavados.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos de descoloração tiveram cinco repetições para cada cor, acompanhadas de três a cinco testes controles, sendo obtidas as médias

dos resultados e desvio padrão e analisada a significância dos tratamentos através de análise de variância pelo do programa estatístico Past 4.11.

Os dados dos testes de toxicidade foram submetidos à uma análise estatística de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises de germinação foram realizadas com o programa SISVAR.

3. RESULTADOS

QUANTIFICAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DOS MEIOS CONTENDO OS CORANTES

Nos resultados gráficos, os valores seguidos das mesmas letras não diferem entre si.

No gráfico 1 estão os dados de absorbância obtidos na leitura do tratamento com *A. niger*.

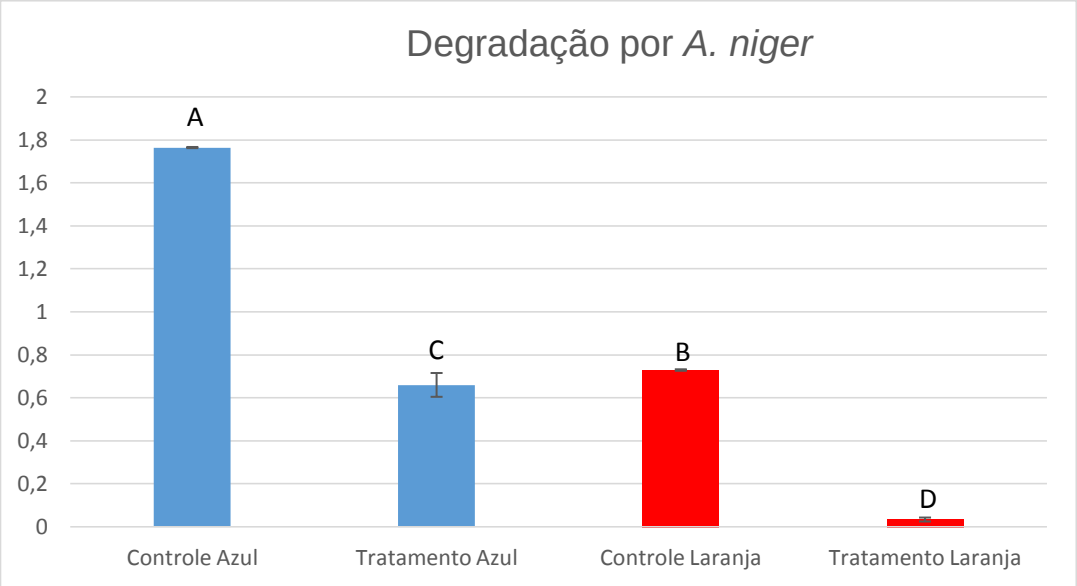

Gráfico 1 - tratamento dos corantes com *A. niger*. Em "Controle azul" e "Tratamento azul" foram obtidos os valores de absorbância de 1,764 e 0,6598 em 590 nm respectivamente e em "Controle laranja" e "Tratamento laranja" foram obtidos os valores de absorbância de 0,729 e 0,0336 em 755 nm respectivamente.
Fonte: Autor.

As análises de espectrofotometria, mostram que foi degradado 62,39% do corante azul e 95,39% do laranja.

No gráfico 2, estão os dados de absorbância obtidos na leitura do tratamento com *P. ostreatus.*

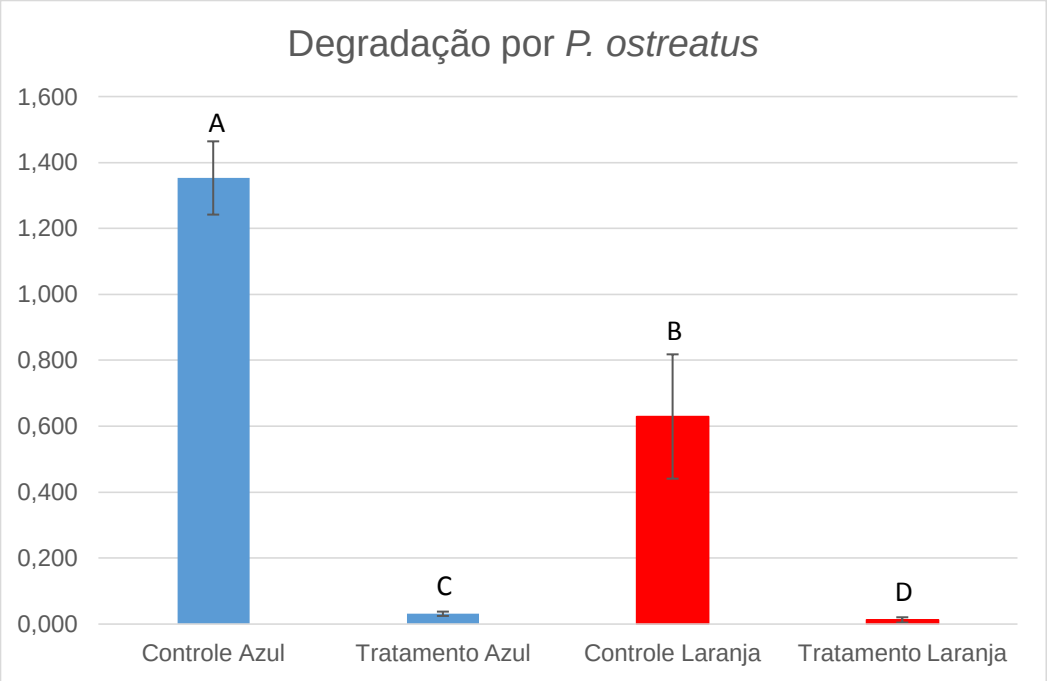

Gráfico 2 - tratamento dos corantes com *P. ostreatus*. Em "Controle Azul" e "Tratamento Azul" foram obtidos os valores de absorbância de 1,353 e 0,031 em 590 nm respectivamente e em "Controle Laranja" e "Tratamento Laranja" foram obtidos os valores de absorbância de 0,629 e 0,012 em 755 nm respectivamente.

Fonte: Autor.

As análises de espectrofotometria, mostram que foi degradado 97,70% do corante azul e 99,99% do corante laranja.

No gráfico 3, estão os dados de adsorção obtidos com *A. niger* autoclavado.

A análise de espectrofotometria, mostrou que foi adsorvido 88,08% do corante azul e 73,96% do corante laranja.

No gráfico 4, estão os dados de adsorção obtidos com *P. ostreatus* autoclavado.

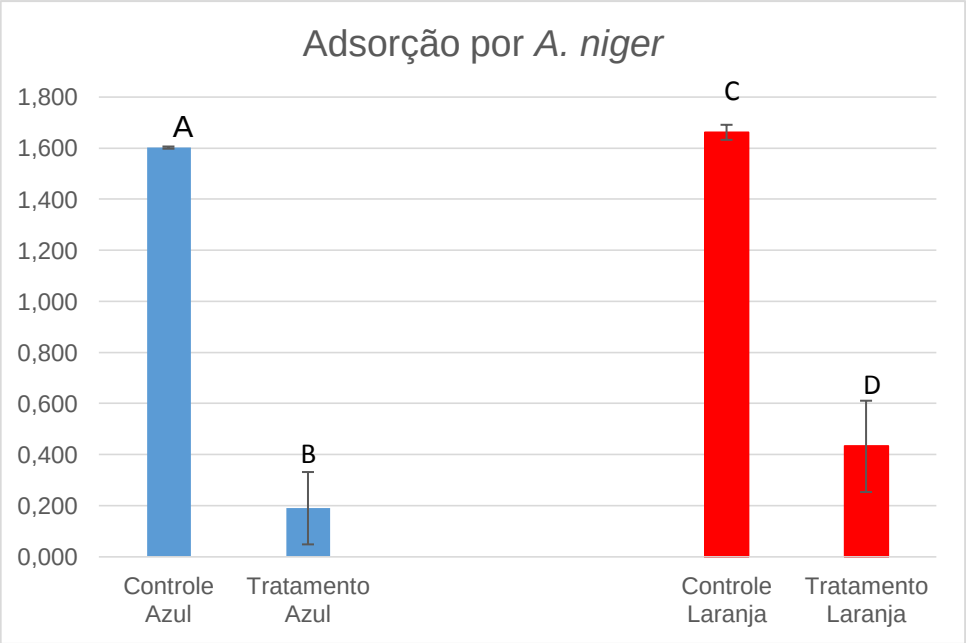

Gráfico 3 - tratamento dos corantes com *A. niger* autoclavado. Em "Controle Azul" e "Tratamento Azul" foram obtidos os valores de absorbância de 1,603 e 0,191 em 590 nm respectivamente e em "Controle Laranja" e "Tratamento Laranja" foram obtidos os valores de absorbância de 1,663 e 0,433 em 755 nm respectivamente.
Fonte: Autor.

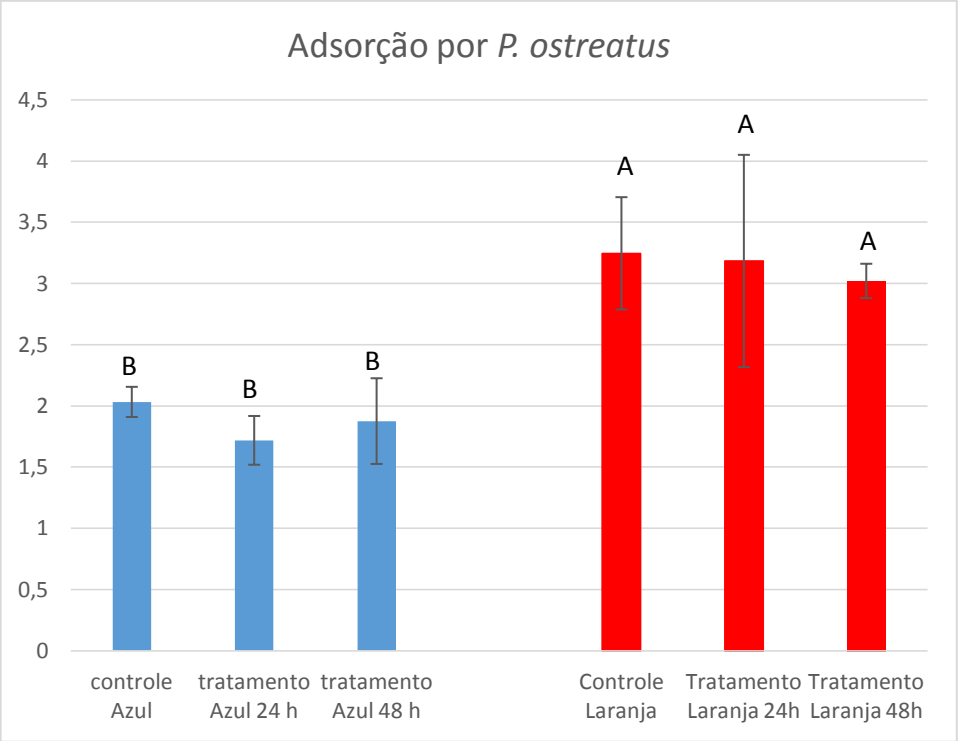

Gráfico 4 - tratamento dos corantes com *P. ostreatus* autoclavado. Em "Controle Azul", "tratamento azul 24h" e "tratamento azul 48h" foram obtidos os valores de absorbância de 2,0314, 1,7172 e 1,8746 em 590 nm respectivamente e em "controle laranja", "tratamento laranja 24h" e "tratamento laranja 48h" foram obtidos os valores de absorbância de 3,2453, 3,1826 e 3,02 em 755 nm respectivamente.
Fonte: Autor.

A análise de espectrofotometria, mostrou que foi adsorvido 15,46% do corante azul e 1,91% do laranja.

A diferença na porcentagem da descoloração dos corantes entre as duas espécies de fungos ocorreu devido a forma em que o experimento foi montado e não pela diferença de potencial de adsorção. Para essa análise é necessário introduzir a mesma quantidade de biomassa de cada fungo no tratamento.

TOXICIDADE EM SEMENTES DE *Cucumis sativus*

Na tabela 4, estão os dados obtidos da germinação com o material tratado e não tratado com *A. niger* e *P. ostreatus* vivos.

Tabela 4 - Média da porcentagem de germinação de *Cucumis sativus* em placas com e sem material tratado com *A. niger* e *P. ostreatus* vivo após 76 horas da semeadura. Médias seguidas pelas mesmas letras e números não diferem estre si.

	Controle positivo (só água)	Controle negativo (ZnSO4)	Controle laranja	Controle azul	Laranja tratado	Azul tratado
% de germinação – *A. niger*	98 a2	0 a1	98,3 a2	91,6 a2	95 a2	95 a2
% de germinação – *P. ostreatus*	94 a2	0 a1	100 a2	93,3 a2	98 a2	96 a2

Fonte: Autor.

A análise estatística mostra que não houve diferença significativa na porcentagem de sementes germinadas na água, quando comparada aos tratamentos com os corantes tratados e não tratados por *A. niger* e *P. ostreatus*, mostrando que para o processo inicial da germinação das sementes do pepino, os corantes tratados ou não, não apresentaram toxicidade para a germinação das sementes.

No gráfico 5, estão os dados obtidos da tamanho das raízes com o material tratado e não tratado com *A. niger* vivo. Valores seguidos das mesmas letras não diferem entre si.

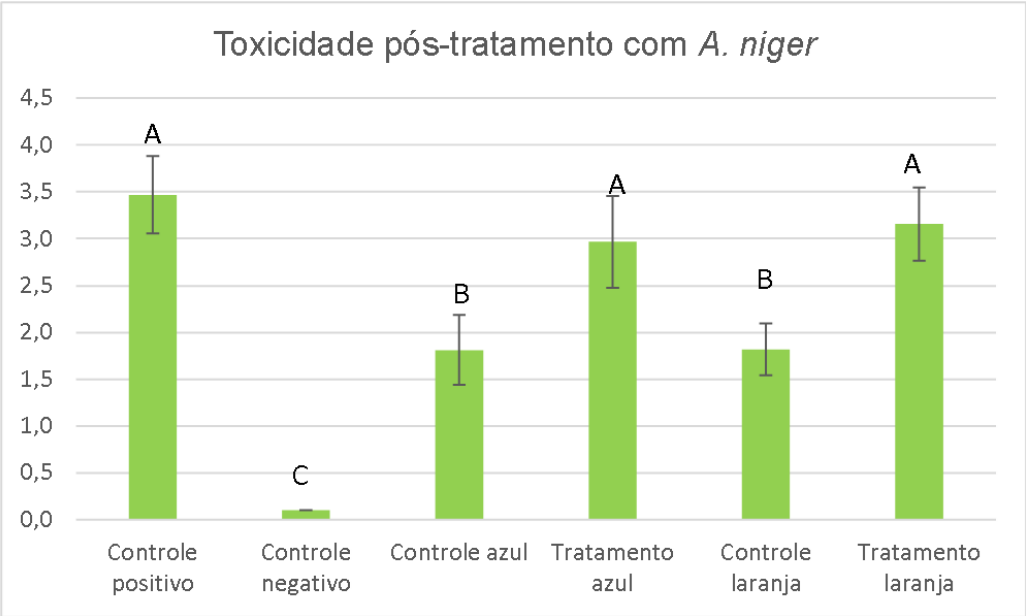

Gráfico 5 - média de crescimento (cm) das raízes das sementes de *C. sativus* após 76h de semeadura a partir dos testes controles e tratados com *A. niger* no experimento de degradação.

Fonte: Autor.

A análise do comprimento das raízes, mostra que o tratamento com *A. niger* foi eficiente para reduzir a toxicidade de ambos os corantes, uma vez que o teste estatístico mostra que não há diferença estatistica das soluções tratadas com o fungo, e o controle positivo (água).

No gráfico 6 abaixo, estão os dados obtidos do tamanho das raízes do material tratado e não tratado com *P. ostreatus* vivo.

Em relação ao desenvolvimento da raiz, o tratamento com *P. ostreatus*, reduziu significativamente a toxicidade tanto para o corante azul, como para o laranja, mas não a ponto de apresentarem resultados como no controle positivo.

Na tabela 5, estão os dados obtidos da germinação com o material tratado e não tratado com *A. niger* e *P. ostreatus* autoclavados.

Nos tratamentos com *A. niger e P. ostreatus* autoclavados, foi possível verificar que não houve diferença significativa na porcentagem de sementes germinadas na água, quando comparada aos testes com os corantes não tratados. Mas no tratamento com *A. niger* morto, não houve germinação.

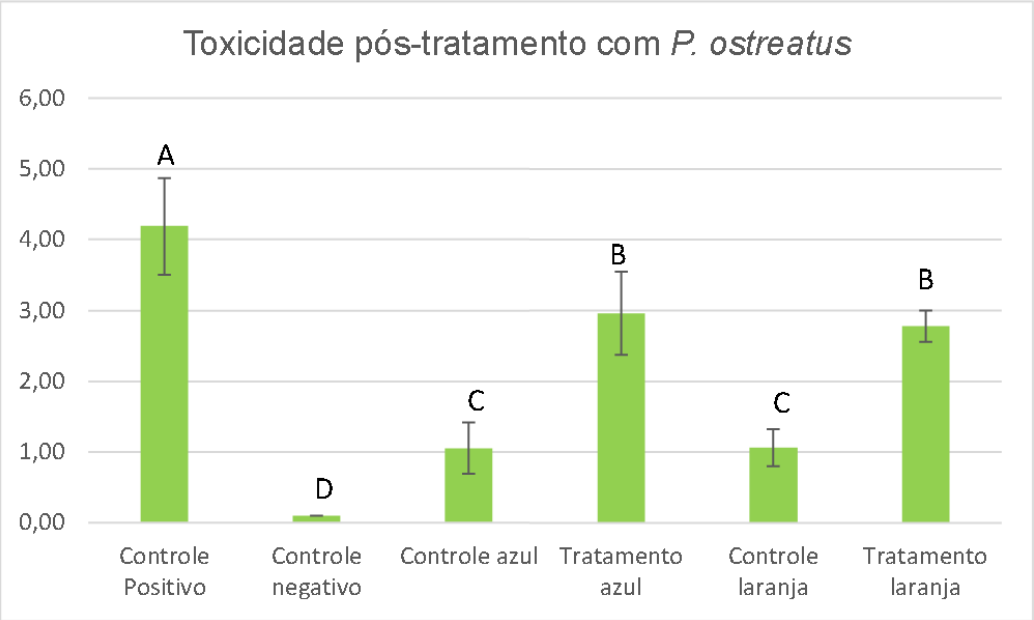

Gráfico 6 - média de crescimento (cm) das raízes das sementes de *C. sativus* após 76h de semeadura a partir dos testes controles e tratados com *P. ostreatus* no experimento de degradação.

Fonte: Autor.

Tabela 5 - Média da porcentagem de germinação de *Cucumis sativus* em placas com e sem material tratado com *A. niger* e *P. ostreatus* autoclavado após 76 horas da semeadura. Médias seguidas pelas mesmas letras e números não diferem estre si.

	Controle positivo (só água)	Controle negativo (ZnSO4)	Controle laranja	Controle azul	Laranja tratado	Azul tratado
% de germinação – *A. niger* autoclavado	96 a2	0 a1	94 a2	98 a2	0 a1	0 a1
% de germinação – *P. ostreatus* autoclavado	98 a2	0 a1	98 a2	80 a2	98 a2	88 a2

Fonte: Autor.

No gráfico 7 abaixo, estão os dados obtidos do tamanho das raízes com o material tratado e não tratado com *A. niger* autoclavado.

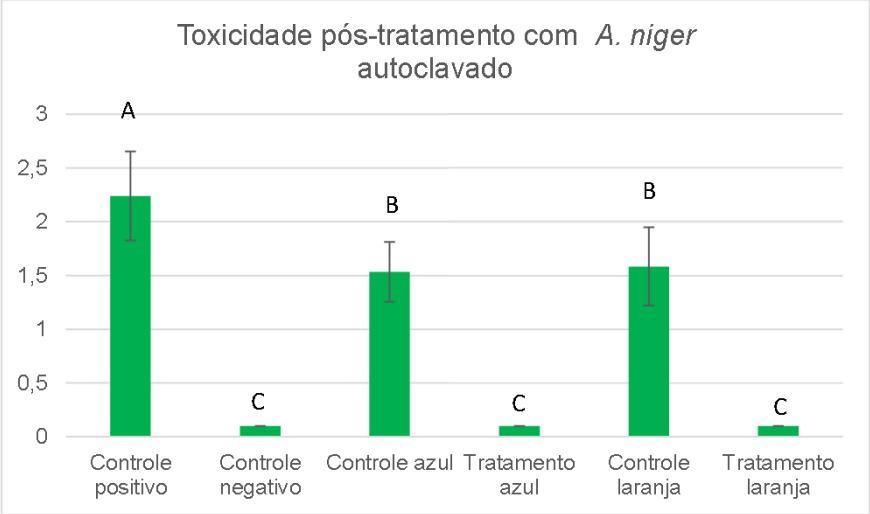

Gráfico 7 - média de crescimento (cm) das raízes das sementes de *C. Sativus* após 76h de semeadura a partir dos testes controles e tratados com *A. niger* no experimento de adsorção.
Fonte: Autor.

Em relação ao desenvolvimento da raiz, o tratamento com o fungo, aumentou drasticamente a toxicidade tanto para o corante azul, como para o laranja, a ponto de apresentarem resultados como no controle negativo.

No gráfico 8 abaixo, estão os dados obtidos do tamanho das raízes com o material tratado e não tratado com *P. ostreatus* autoclavado.

Em relação ao desenvolvimento da raiz, o tratamento com o fungo, não reduziu significativamente a toxicidade tanto para o corante laranja, como para o azul.

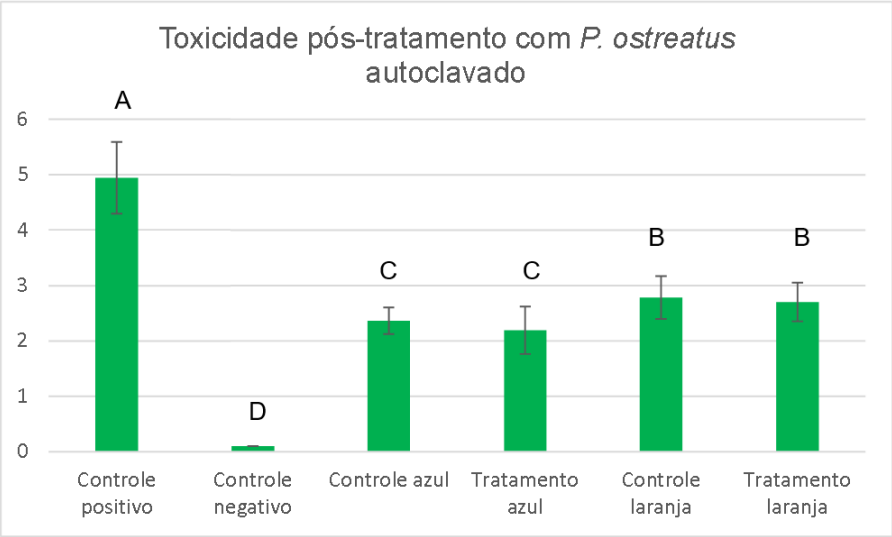

Gráfico 8 - média de crescimento (cm) das raízes das sementes de C. Sativus após 76h de semeadura a partir dos testes controles e tratados com P. ostreatus no experimento de adsorção.
Fonte: Autor.

4. DISCUSSÃO

Os resultados de descoloração dos corantes ilustraram as diferenças fisiológicas de cada grupo de fungos avaliados. *Pleurotus ostreatus*, fungo de podridão branca, possui um complexo enzimático extracelular e inespecífico, que lhe permite degradar a molécula natural mais recalcitrante, a lignina. Da mesma forma este complexo enzimático atua na quebra os cromóforos dos corantes, diminuindo a cor do efluente, podendo chegar à descoloração completa.

A literatura encontra-se vários estudos sobre capacidade dos basidiomicetos em descolorir corantes[29]. Na tabela 6 foi selecionada espécies de basidiomicetos capazes de descolorir o corante reativo azul 19 em pHs variando entre 4,5 - ácido a 9 – alcalino, simulando um efluente artificial.

Tabela 6 – Relação de diferentes espécies de basidiomicetos com a descoloração do corante reativo azul 19 em diversos níveis de pH[29].

Strain	Initial pH value			
	pH 5.0	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0
Fuscoporia gilva CCIBT 2523	92 ± 3.0 (18)	92 ± 2.0 (11)	94 ± 1.6 (12)	27 ± 0.8 (20)
Ganoderma australe CCIBT 2506	93 ± 0.6 (14)	16 ± 0.0 (20)	6 ± 1.8 (20)	na
Gymnopilus chrysopellus CCIBT 2718	95 ± 2.3 (14)	55 ± 9.0 (20)	2 ± 0.8 (20)	na
Gymnopilus earlei CCIBT 2536	91 ± 1.1 (16)	29 ± 1.3 (20)	3 ± 1.6 (20)	na
Hygrocybe sp. CCIBT 2679	93 ± 1.3 (18)	25 ± 0.0 (20)	1 ± 1.0 (20)	na
Lentinus auracariae CCIBT 2714	93 ± 0.1 (8)	27 ± 1.4 (20)	2 ± 1.4 (20)	na
Lentinus bertieri CCIBT 2592	96 ± 2.0 (20)	8 ± 1.1 (20)	9 ± 1.5 (20)	na
Lentinus crinitus CCIBT 2611	94 ± 2.1 (17)	12 ± 1.5 (20)	4 ± 1.6 (20)	na
Lentinus strigosus CCIBT 2499	95 ± 1.4 (7)	3 ± 1.1 (20)	4 ± 3.5 (20)	na
Lentinus villosus CCIBT 2608	92 ± 0.7 (7)	25 ± 1.8 (20)	26 ± 1.8 (20)	na
Melanoporia nigra CCIBT 2521	84 ± 0.7 (11)	39 ± 3.7 (20)	39 ± 3.6 (20)	na
Peniophora cinerea CCIBT 2541	97 ± 2.3 (5)	90 ± 1.8 (15)	97 ± 1.9 (13)	93 ± 0.8 (20)
Pleurotus flabellatus CCIBT 2731	97 ± 0.7 (11)	89 ± 2.0 (20)	32 ± 2.7 (20)	na
Pleurotus flabellatus CCIBT 2733	92 ± 2.4 (20)	92 ± 1.1 (11)	92 ± 1.0 (12)	15 ± 1.6 (20)
Pleurotus ostreatus CCIBT 2347	90 ± 1.3 (15)	90 ± 2.0 (9)	97 ± 1.0 (8)	38 ± 14.0 (22)
Psilocybe castanella CCIBT 2781	93 ± 1.7 (6)	92 ± 2.9 (19)	93 ± 2.1 (20)	50 ± 1.9 (20)
Pycnoporus sanguineus CCIBT 2610	69 ± 1.6 (20)	2 ± 0.0 (20)	3 ± 1.1 (20)	na
Rigidoporus microporus CCIBT 2671	91 ± 0.5 (13)	2 ± 1.2 (20)	3 ± 1.6 (20)	na
Trametes versicolor CCIBT 2539	96 ± 1.2 (11)	8 ± 2.8 (20)	9 ± 2.7 (20)	na
Trametes villosa CCIBT 2502	95 ± 4.8 (6)	7 ± 0.2 (20)	4 ± 0.2 (20)	na
Trametes villosa CCIBT 2513	92 ± 0.2 (8)	94 ± 1.4 (17)	4 ± 0.8 (20)	na
Trametes villosa CCIBT 2550	95 ± 1.4 (7)	92 ± 1.3 (11)	4 ± 1.6 (20)	na
Trametes villosa CCIBT 2628	93 ± 3.7 (7)	91 ± 0.5 (20)	94 ± 3.0 (8)	6 ± 1.2 (20)
Trichaptum byssogenum CCIBT 23540	93 ± 0.1 (7)	23 ± 2.7 (16)	24 ± 2.7 (20)	na
Trogia buccinalis CCIBT 2727	96 ± 1.3 (14)	7 ± 0.4 (20)	88 ± 8.2 (17)	14 ± 2.4 (20)
Abiotic control	0 ± 0.0 (20)	0 ± 0.0 (20)	1 ± 0.2 (20)	3 ± 0.2 (20)

The values represent the means between triplicates and standard derivation. In parenthesis the time (in days) for maximum decolorisation

Já o gênero *Aspergillus*, que pertence *A. niger*, é um grupo que se destaca por sua importância econômica. Suas diversas enzimas são utilizadas em biossíntese química e transformação de compostos devido a sua

característica chave fechadura. Por esse motivo *A. niger* não obteve bons resultados na degradação do corante, mas sua contribuição à descoloração foi devido a absorção do corante ao micélio. Contudo, a capacidade biosorvente desse grupo é bem conhecida e estudada. De acordo com a tabela 7, temos vários trabalhos avaliando diferentes espécies de *Aspergillus* como biossorvente de corantes, utilizando a biomassa viva ou morta conforme estrutura e complexidade do corante[30].

A importancia de se avaliar a toxicidade do corante após tratamento é fundamental porque é comprovado que a degradação da molécula do corante pode ser parcial e tornar o efluente mais tóxico que o inicial.

Tabela 7 – Relação de diferentes espécies de *Aspergillus* como biossorventes de corantes[30].

Fungo	Corante Têxtil	Referência
Aspergillus parasiticus	Reactive Red 198 (RR198)	Akar e colaboradores, 2009
Aspergillus flavus	Reactive Red 198 (RR198)	Esmaeili & Kalantari, 2012
Aspergillus fumigatus	Reactive Blue 268	Karim e colaboradores, 2017
Aspergillus tamarii	Reactive Yellow 17	Singh e colaboradores, 2018
Aspergillus niger e Aspergillus terreus	Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B	Almeida; Corso, 2019
Aspergillus terreus GS28 e Aspergillus flavus CR500	Direct Blue - 1	Singh; Dwivedi, 2021

Os resultados obtidos no teste de germinação das sementes comprovou a descrição da toxicidade dos corante, crônicas. Esse resultado ficou nítido quando foi medido o tamanho da radícula da *C. Sativus.* Nesse momento observou que a ação fúngica, das duas espécies melhorou a toxicidade, uma através da quebra da molécula e a outra pela absorção pelo micélio. Contudo quando se avaliou apenas a ação da adsorção micelial, *A. niger* apresentou toxicidade semelhante ao controle negativo. Resultado que deve ser melhor estudado, visto que inúmeros trabalhos indicam sua aplicação como

biosorvente[31]. Entretanto, a complexidade da estrutura do corante pode requerer utilização de biomassa viva ou morta, entretanto no caso desta pesquisa seria viva[30].

5. CONCLUSÃO

Concluiu-se neste estudo, nas condições utilizadas, a aplicabilidade de *P. ostreatus* vivo na degradação da molécula do corante e a diminuição da toxicidade dos corantes. *A. niger* é eficiente na adsorção dos corantes, porém, são necessários mais estudos para a compreensão da toxicidade observada nos tratamentos aqui analisados. Neste momento, *P. ostreatus* apresenta como o mais promissor para uma proposta de tratamento de efluente.

6. REFERÊNCIAS

1. Rossettini JS. Utilização do fungo *Aspergillus niger* em Processos Biológicos de Tratamento de Efluentes Industriais: Revisão da Literatura. Artigo cientifico UTFPR, Medianeira, 2015.
2. Almeida EJR, Dilarri G, Corso CR. Departamento de Bioquímica e Microbiologia UNESP. Rio Claro, 2016.
3. Kunz A, Zamora PP, Moraes SG, Duran N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. Quím. Nova, v. 25, n. 1, p. 78-82, 2002.
4. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial da União República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 mai. 2011. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646. Acesso em: 25 nov. 2021.
5. Rozzi A, Malpei F, Colli S, Uberti M. Distribution of Absorbance in the Visible Spectrum Related to Molecular size Fractions in Secondary and Tertiary Municipal Textile Affluent. Water Science Tecnology, 38, p. 473-480, 1998.
6. Almeida EJ, Corso CR. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with yhe fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus.* Chemosphere, 112, 317-322.2014.
7. Cavalcanti JEWA. Manual de tratamento de efluentes industriais. 1 ed. Engenho Editora Técnica Ltda. São Paulo, 2009.
8. Guaratini CCI, zanoni MVB. Corantes têxteis. Revista Química Nova, p. 7178. 2000.
9. Pezzolo BD. Tecidos: história, tramas, tipos e usos. SENAC, São Paulo, 2007.

10. Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. Biologia Vegetal. 8ed. Rio de Janeiro, 2014.
11. Santos ERD. Material Complementar Sistemática Vegetal I: Fungos. UFSC, Florianópolis, 2015.
12. Abdelkader TA. Microstrutural Análises for Mecânica Behavior of Granular Waste Materials. Jan, 2013.
13. Couri S. Efeito de cátions na morfologia do agregado e na produção de poligalacturonase por *Aspergillus niger* mutante 3T5B8. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1993.
14. Santos TC, Rocha TJO, Oliveira AC, Abreu Filho G, Franco M. *Aspergillus niger* como produtor de enzimas celuloliticas a partir farelo de cacau (*Theobroma cacao*). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, 2013.
15. Popli S, Patel U. Destruction of azo dyes by anaerobic–aerobic sequential biological treatment: a review. Int. J. Environ. Sci. Technol, 2015.
16. Araujo NL, Avelino KV, Halabura MIW, Marim RA, Kassem ASS, Santana TT, Colauto GAL, Colauto NB, Valle JS. Produção de biomassa micelial e enzimas lignocelulolíticas de *Pleurotus* ssp. Em meio de cultivo líquido. Research, Society and Development, vol 10 nº 1. Paraná, 2021.
17. Benevides JAJ, Marinho GM. Degradação de Pesticidas por Fungos – Uma Revisão. Instituto Federal de Educação, Tecnologia do Ceará. Holos, Ano 31, Vol 2. Ceará, 2015.
18. Neto JMC, Santos AZ, Tavares CRG, Costa SMG*. Descoloração de corantes e efluentes têxteis utilizando fungos*. ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO, 11, 2002, Maringá. Anais. Universidade Estadual de Maringá/ Pró- Reitoria de pesquisa e Pós-Graduação; 2002.
19. Hansen L, Lopes W, Ruschel CK. Biorremediação - utilização do fungo *Aspergillus niger* no tratamento de efluentes. 24ª Mostra Internacional de Ciência e Tecnologia. 2009.
20. Conceição DM, Angelis DA, Bidoia ED, Angelis DF. Fungos filamentosos issolados do rio Atibais, SP e refinaria de petróleo biodegradadores de compostos fenólicos. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 99-106, jan/mar. 2005.
21. Balan DSL, Monteiro RTR. Decolorization of textile índigo dye by ligninolytic fungi. Journal of Biotechnology, Amsterdam, v. 89, n. 2-3, p. 141-145, Aug. 2001.
22. Sayer JA, Gadd GM. Binding of cobalt and zinc by organic acids and culture filtrates of Aspergillus niger grown in the absence or presence of insoluble cobalt or zinc phosphate. Mycological Research, Cambridge, v. 105, p.1261– 1267, Nov 2001.
23. Melo IS, Azevedo JL. Microbiologia ambiental. 2. ed. rev. e ampl. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008
24. Collins YE, Stotzky G. Heavy metal alter the electrokinetic properties of bacteria, yeast and clay minerals. Applied and Environmental Microbiology, New York, v. 58, n. 5, p. 1592-1600, May 1992.

25. Kurek E, Czoban J, Bollag J. Sorption of cadmium by microorganisms in competition with other soil constitutes. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 43, n. 5, p. 1011-1015, May 1982.
26. Peixoto F, Marinho G, Rodrigues K. Corantes Têxteis: Uma Revisão. Revista HOLOS, Vol. 5. Ceará, 2013.
27. Wang X, Sun C, Gao S, Wang L, Shuokui H. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*. Chemosphere p. 44. 1711-1721, 2001.
28. EPA, Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.4200. Seed Germination/Root Elogation Toxicity Test. EPA 712-C-96-154. April, 1996.
29. Neto SLM, Esteves PJ, Santos VTO, Paranhos AP, Cescato F, Vitali VM, Machado KMG. Novel salt and alkali tolerant neotropical basidiomycetes for dye decolorisation in simulated textile effluent. World Journal of Microbiology and Biotechnology, nov, 2011.
30. Santos KCG. Remoção do corante Azo Direct Black 22 utilizando fungos Aspergillus. 2021. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, 2021.
31. Santos AS. Biossorção do corante azul de metileno por fungo filamentoso *Aspergillus niger* como estudo alternativo para remediação da contaminação de águas residuais com corantes têxteis. Universidade Federal de Alagoas, UFAL. 2023.

Planilha de avaliação da parte escrita do artigo científico entregue como Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas (TCCB)	**Data:30/10/ 2023**

Título do trabalho: Tratamento de corantes do tipo azo utilizados na indústria têxtil com fungos *A. niger* e *P. ostreatus*.
Nome do aluno: Daniela Araujo Motohiro RA: N56357

Nome do professor Regina Yuri Hashimoto Miura Visto: _____
Trata-se do: orientador do trabalho ( ) Sim (X) Não ou do co-orientador do trabalho (X) Sim ( ) Não

Itens avaliados no artigo científico – parte escrita do TCCB

Caro Professor observar que os itens **b** e **g** se repetem, coloque nota somente em um dos itens que corresponda ao tipo de trabalho apresentado. Observar que o item **f** é somente para trabalhos com levantamento de dados.

	Item a ser avaliado		Valor Máximo	Nota aluno
a	Coerência do título com o trabalho em si e com o curso de Ciências Biológicas.		1,0	1,0
b	Levantamento de dados	Observar a Presença de capa, Página de rosto, Resumo, Introdução, Justificativas e Objetivos, Material e métodos, Resultados, Discussão, Conclusão, Referências bibliográficas.	1,0	1,0
	Revisões bibliográficas,	Para observar a Presença de capa, Página de rosto, Resumo, Introdução, Justificativas e Objetivos, Material e métodos (no caso, a revisão bibliográfica), Conclusão, Referências bibliográficas.	1,0	__
c	Avaliar se a introdução apresenta levantamento bibliográfico atualizado e adequado para o tema		1,0	1,0
d	Avaliar se a metodologia empregada corresponde ao propósito da pesquisa		1,0	1,0
e	Avaliar se os objetivos expressam claramente a pesquisa a ser realizada		1,0	1,0
f	Levantamento de dados,	Observar se em resultados ocorreu o correto tratamento dos dados (revisões bibliográficas não contem o item resultados).	1,0	1,0
g	Levantamento de dados,	Observar se na discussão ocorre comparação com trabalhos similares e diversos (revisões bibliográficas podem não conter discussões).	1,0	1,0
	Revisões bibliográficas	Observar se a introdução apresenta grande variedade de informações na pesquisa.	2,0	__
h	Avaliar se as conclusões respondem aos objetivos propostos inicialmente		1,0	1,0
i	Avaliar se as referências bibliográficas seguem as normas Vancouver (observar mínimo de 7 e máximo de 30 referências, e observar que não podem existir somente “sites”)		1,0	1,0
j	Avaliar o conjunto do trabalho escrito.		1,0	0,8
	Somatório		**10,0**	9,8