



## Influência do uso de etanol como cossustrato para remoção de vermelho do congo em reator com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400

Camila S.M. Gabriele<sup>1</sup>, Manuela F. Miranda<sup>2</sup>, Glória Marinho<sup>3</sup>, Carlos Ronald Pessoa Wanderley<sup>4</sup>, Kelly Rodrigues<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Aluna do curso de Tecnologia em Gestão Ambiental – IFCE. e-mail: camilasmg@gmail.com

<sup>2</sup> Aluna do curso de Tecnologia em Gestão Ambiental - IFCE. e-mail: manuelahfranco@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Doutora em Hidráulica e Saneamento (EESC-USP), Professora do Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental, Campus Fortaleza – IFCE. e-mail: gloriamarinho@ifce.edu.br

<sup>4</sup> Depto. de Química e Meio Ambiente, Campus Maracanaú - IFCE. e-mail: ronald@ifce.edu.br

<sup>5</sup> Doutora em Hidráulica e Saneamento (EESC-USP), Professora do Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – IFCE. e-mail: kelly@ifce.edu.br

**Resumo:** A indústria têxtil envolve atividades que geram grandes volumes de efluentes potencialmente poluidores para o meio ambiente e que podem causar ainda danos à saúde pública. Neste trabalho foi estudada a remoção do corante vermelho do congo e de matéria orgânica carbonácea de meio basal, utilizando reator em bateladas sequenciais com inóculo de *Aspergillus niger* AN 400 e empregado etanol (0,5 g/L) como cossustrato. O reator possuía volume útil de 4 L e foi operado com 30 ciclos de 48 h de duração. Foram analisadas as variáveis: corante, matéria orgânica bruta e dissolvida e pH. As remoções médias, registradas no final de cada ciclo, foram de 93% de corante, 74% e 77% de matéria orgânica bruta e dissolvida, respectivamente. A menor eficiência de remoção de matéria orgânica pode estar relacionada à presença de metabólitos oriundos da utilização do corante pelos microrganismos, o qual foi aparentemente removido do meio.

**Palavras-chave:** *Aspergillus niger* AN400, bateladas sequenciais, etanol, vermelho do congo.

### 1. INTRODUÇÃO

A indústria têxtil tem crescido consideravelmente nos últimos anos, aumentando a sua produção e com ela a geração de efluentes líquidos, que além da cor acentuada, contém alta carga orgânica e compostos químicos que são tóxicos ao homem e ao meio ambiente (CORRÊA *et al.*, 2009).

Os corantes são identificados como o maior problema dos efluentes têxteis, pois além de sua baixa degradabilidade, possuem solubilidade elevada em água, de modo que, ao serem lançados ao meio aquático em pequenas quantidades, podem causar mudanças na coloração de mananciais (RADHA *et al.*, 2005).

Durante o processamento dos tecidos, até 15% dos corantes utilizados são liberados. Além disso, todos os corantes utilizados na indústria têxtil são fabricados para resistir ao desbotamento por exposição ao suor, luz, água, muitos produtos químicos, incluindo agentes oxidantes e ataque microbiano (WESENBERG *et al.*, 2003)

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

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

Devido à baixa biodegradabilidade dos corantes, ao alto custo relativo aos tratamentos físico-químicos (HAILEI *et al.*, 2009) e a eficácia dos mesmos estarem reduzidos cerca de 20% na remoção de cores em razão da aplicação de aditivos nos corantes, torna-se necessário buscar novas tecnologias para a remoção desses compostos, e, dentre elas, os sistemas biológicos podem ser processos eficiente e de boa viabilidade para remoção de corantes têxteis de águas, devido, possivelmente, a completa mineralização de corantes a baixo custo (YANG *et al.*, 2009).



A utilização de reatores com fungos tem proporcionado resultados promissores na remoção de corantes, principalmente com a adição de cossustrato, o qual promove melhores eficiências no processo de tratamento (KHELIFI *et al.*, 2009).

De acordo com Chander e Arora (2007), os fungos produzem enzimas extracelulares capazes de romper grande variedade de ligações moleculares heterogêneas, porém requerem fontes de carbono mais fáceis de serem assimiladas para, em seguida, iniciarem a produção de enzimas extracelulares para a biodegradação de corantes (KHELIFI *et al.* 2009). Devido à essa habilidade de produzir enzimas extracelulares, os fungos exibem grandes vantagens sobre as bactérias na degradação e mineralização do corante (YANG *et al.*, 2009).

Segundo Khelifi *et al.* (2009), a glicose parece ser a fonte de carbono mais adequada para a descoloração do corante Vermelho do congo, entretanto outros açúcares e substâncias orgânicas podem ser utilizadas como fontes de carbono e energia.

Grady *et al.* (1999), sugere que o etanol pode ser utilizado para obtenção de energia, produção e manutenção celular, se for utilizado como fonte de doadores de elétrons para o metabolismo microbiano, já que a biodegradação do etanol é uma reação de oxidação-redução realizada durante o processo respiratório microbiano, na qual estes são oxidados, ou seja, doam elétrons a um receptor, como demonstrado na equação: Etanol (doador de elétrons) + O<sub>2</sub> (receptor de elétrons) + micro-organismos + nutrientes → CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + microrganismos + metabólitos.

Neste intuito, o presente trabalho objetivou verificar o potencial de remoção do corante vermelho do congo e matéria orgânica carbonácea em reator em bateladas sequenciais na presença de etanol como cossustrato, utilizando como inóculo a espécie *Aspergillus niger* AN400.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Imobilização

Para a imobilização do *Aspergillus niger* AN400 foram utilizados cubos de espuma de poliuretano, com 1 cm de aresta, segundo procedimentos descritos em Vassilev (1997). Os cubos foram acomodados no interior de frascos erlenmeyers contendo 150 mL do meio de crescimento e inóculo do fungo, na concentração de  $2 \times 10^6$  esporos.mL<sup>-1</sup>. Os frascos permaneceram durante 7 dias sob agitação de 150 rpm para crescimento da biomassa nos cubos suporte. Após este procedimento, os cubos de espuma de poliuretano contendo a biomassa fúngica foram agrupados em redes de polietileno que foram posteriormente transferidas para o reator.

### Composição do meio basal

O meio foi preparado com água de torneira adicionada de 11 mg.L<sup>-1</sup> do corante vermelho do congo e de micro e macronutrientes, conforme apresentado a seguir (g.L<sup>-1</sup>): NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> (2,0); NaNO<sub>3</sub> (1,0); K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,2); MgSO<sub>4</sub> (0,25); CaCl<sub>2</sub> (0,01); Fe<sub>2</sub>(SO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,05); CuSO<sub>4</sub> (0,08); H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> (0,05); ZnSO<sub>4</sub> (0,04). O etanol foi adicionado ao meio na concentração de 0,5 g.L<sup>-1</sup> para verificar sua influência durante o processo de tratamento.

### Montagem e Operação do reator

O reator empregado era cilíndrico, com volume útil de 4 L, e foi confeccionado em vidro, com tampa rosqueável. A aeração do meio foi fornecida por mini-compressores de ar, sendo difundidos por pedras porosas.

O reator foi coberto com saco preto de polietileno a fim de prevenir a perda do corante por fotodegradação, tendo sido operado em 30 ciclos de 48 horas de duração, tendo o experimento compreendido período de 4 meses.

Foram coletadas amostras do afluente e efluente e realizados procedimentos para determinação das variáveis: matéria orgânica, em termos de DQO, corante, pH. As análises foram executadas de acordo com APHA (2005), exceto corante para qual foi utilizada a metodologia descrita em Rodrigues *et al.* (2010).



Figura 1- Reator em batelada com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN400.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH do afluente variou entre 4,5 e 5. De acordo com GRIFFIN (1994), esta faixa de pH oferece ótimas condições de desenvolvimento fúngico. No efluente, o pH manteve-se entre 3,0 e 4,0, observando-se a redução do pH em todos os ciclos (Figura 2). A redução de pH observada durante o experimento pode ser atribuída à provável produção de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, por exemplo, formados tanto pelo uso do etanol como cossustrato no meio, quanto pelo consumo do corante pelos fungos (YAYKASLI, *et al.*, 2005; WANDERLEY, 2007).

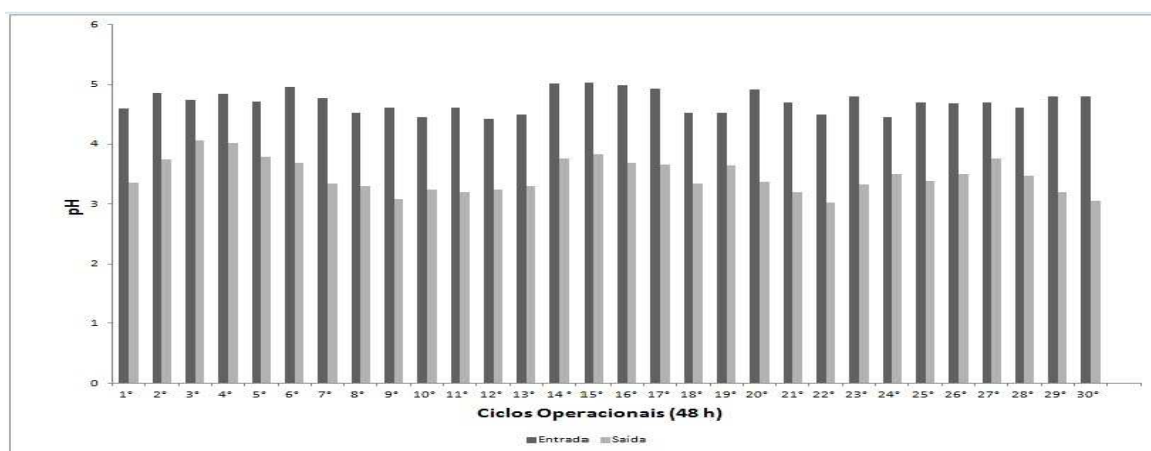


Figura 2 - Variação dos valores de pH no meio ao longo dos ciclos operacionais do reator em bateladas sequenciais.

Verificou-se remoção média de 93% de corante, registrada no final dos ciclos operacionais, sendo o percentual máximo de remoção de 98%, alcançado no 3° e 26° ciclo. Porém, no 6° ciclo, ocorreu diminuição da eficiência de remoção do corante, provavelmente devido ao processo de adsorção e dessorção de parcela do poluente que teria adsorvido no micélio dos fungos (RODRIGUES, 2006; KHELIFI ET AL., 2008).

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

A adição de cossustratos é essencial para a remoção da cor em meios contendo corantes azo (DOS SANTOS, 2005; SUMATHI e MANJU, 2000; SILVA, 2009) e, como o etanol é um solvente orgânico capaz de dissolver a camada lipídica da membrana celular (MALLER, 2008), isso pode ter facilitado a entrada do corante para o interior da célula através da membrana celular.

O emprego do etanol na seguinte pesquisa proporcionou aos microrganismos boa eficiência de remoção de corante como pode ser observado.

Na Figura 3 são apresentados os valores de concentração de corante no meio ao longo dos ciclos operacionais.

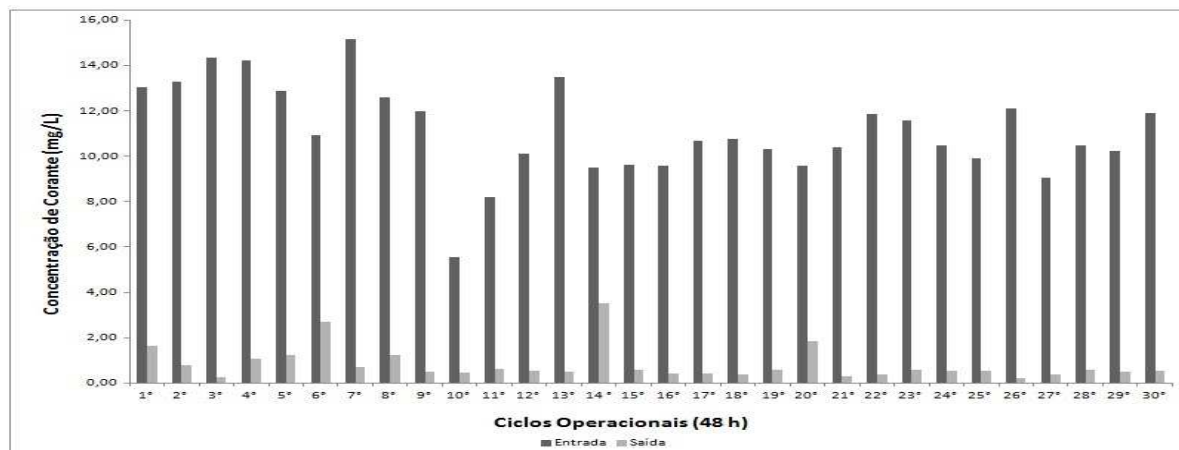


Figura 3 - Variação da concentração de corante no meio ao longo dos ciclos operacionais do reator em bateladas seqüenciais.

Em termos de matéria orgânica, a eficiência média da DQO bruta foi de 74% e a de DQO dissolvida foi de 77%. Do 1º ao 21º ciclo, a remoção de matéria orgânica não acompanhou o decaimento da remoção de corante. No 16º ciclo houve uma das menores remoções de matéria orgânica observada, em termos de DQO dissolvida (50%), e 96% de corante, indicativo de que, possivelmente, ocorreu à formação de subprodutos decorrentes da quebra das ligações químicas do corante pelos fungos, os quais não foram identificados no experimento.

A maior concentração de matéria orgânica carbonácea em relação à de corante presente do 1º ao 21º ciclos, também poderia estar relacionada à produção de maior quantidade de compostos excretados pelos fungos devido à utilização do corante e do etanol como substrato, de forma que o efeito do etanol teria resultado no aumento da permeabilidade da membrana celular e, possivelmente, metabólitos poderiam ser excretados mais facilmente pela célula (YAYKASLI et al., 2005).

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

A partir do 22º, a remoção de matéria orgânica acompanhou a remoção do corante (Figura 4) chegando a 100% de remoção de DQO dissolvida no ciclo 24, possivelmente promovida pela adaptação do fungo as condições do meio.



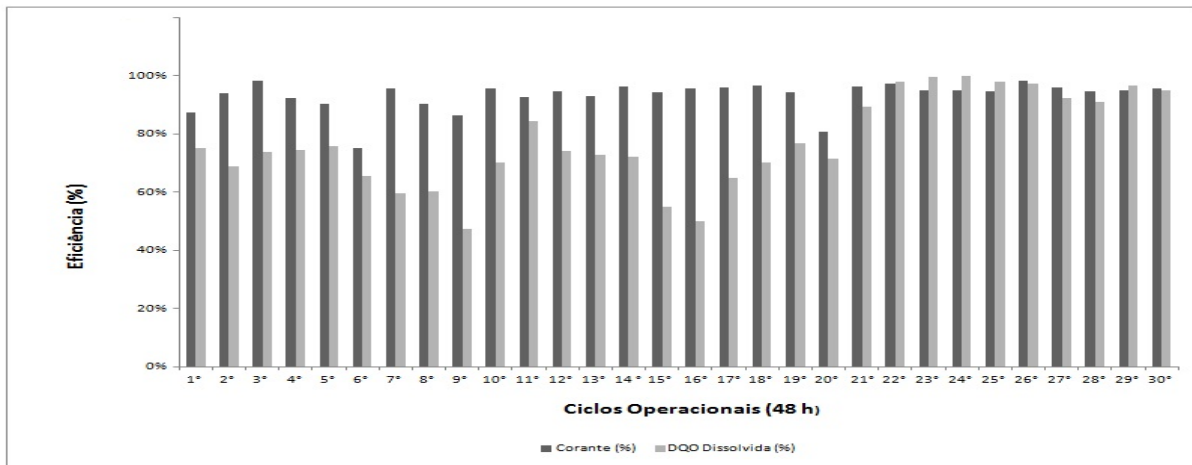


Figura 4 - Comparativo entre eficiência de remoção de Corante e Matéria Orgânica dissolvida ao longo dos ciclos operacionais do reator em bateladas sequenciais.

Ao longo dos ciclos operacionais não houve consideráveis diferenças entre os valores de DQO bruta e DQO dissolvida (Figura 5), fato este que pode estar associado ao pouquíssimo desprendimento de biomassa por se tratar de um experimento utilizando biomassa imobilizada.

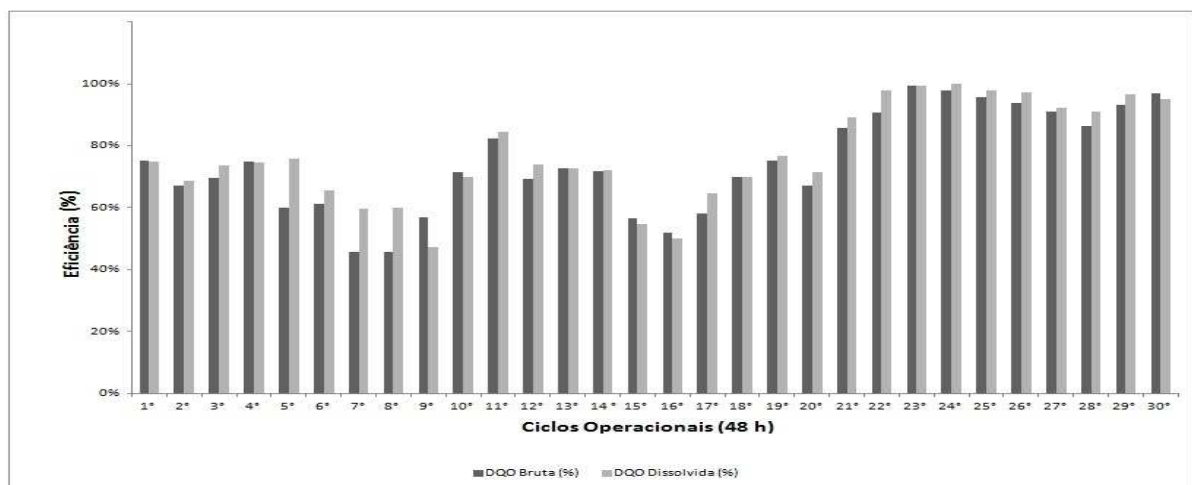


Figura 5 - Comparativo entre eficiência de remoção de Matéria Orgânica bruta e dissolvida ao longo dos ciclos operacionais do reator em bateladas sequenciais.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram que o reator em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* alcançou bons percentuais de remoção de corante utilizando etanol como cossubstrato, atingindo eficiência média de remoção de corante de 93%, e de 74% e 77%, respectivamente, para matéria orgânica bruta e dissolvida. Estes resultados mostraram que o etanol pode ser viável como cossubstrato visando à remoção do vermelho do congo e de matéria orgânica carbonácea em reatores com fungos, mostrando o sistema como um eficiente tratamento para descoloração de efluentes.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, ao CNPq – Brasil pelo apoio financeiro (Edital Jovens Pesquisadores no. 567552-2008).



## REFERÊNCIAS

- APHA – AWWA - WPCF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed. Washington. American Public Health Association. 1368 p, 2005.
- CHANDER, M., ARORA, D. S. **Evaluation of some white-rot fungi for their potential to decolourise industrial dyes**. *Dyes and Pigments* 72 192-198, 2007.
- CORREA, C. A. R.; AQUINO, S. F.; CALDAS, P. C. P.; SILVA, S. Q. **Uso de extrato de levedura como fonte de carbono e de mediadores redox, para a degradação anaeróbia de corante azo**. *Eng. Sanit. Ambient.* [online]. vol.14, n.4, pp. 559-568. ISSN 1413-4152. doi: 10.1590/S1413-41522009000400016, 2009.
- DOS SANTOS, A. B. **Reductive Decolourization of Dyes by Thermophilic Anaerobic Granular Sludge**. Ph.D Thesis, Wageningen University. Wageningen, The Netherlands, 2005.
- GRADY, C. P. L.; DAIGGER, G. T.; LIM, H. C. **Biological Wastewater treatment**. 2. ed. New York. Marcel Dekker, 1999.
- GRIFFIN, D. H. **Fungal physiology**. 2 nd ed. New York. Wiley-Liss, 1994. 458p
- HAILEI.W., PING L., MIN P., ZHIJUN Z., GUANGLI Y., GUOSHENG L., JIANMING Y. **Rapid decolourization of azo dyes by a new isolated higher manganese peroxidase producer: *Phanerochaete* sp. HSD**. *Biochemical Engineering Journal* 46 327–333, 2009.
- IKEDA, Y.; PARK, E.Y.; OKUDA, N. **Bioconversion of waste office paper to gluconic acid in a turbine blade reactor by the filamentous fungus *Aspergillus niger***. *Bioresource Technology*, v. 97, n. 8, p. 1030-1035, 2006.
- KHELIFI, E., GANNOUN, H., TOUHAMI, Y., BOUALLAGUI, H., HAMDI, M. **Aerobic decolourization of the indigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors**. *Journal of Hazardous Materials* 152 (2008) 683–689. 2008.
- KHELIFI, E., AYED, L., BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., HAMDI, M. **Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolourization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C**. *Journal of Hazardous Materials* 163 1056–1062, 2009.
- KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G. ; DURAN, N. **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis**. *Quím. Nova* [online]. vol.25, n.1, pp. 78-82. ISSN 0100-4042. doi: 10.1590/S0100-40422002000100014, 2002.
- RADHA K.V., REGUPATHI I., ARUNAGIRI A., MURUGESAN T. **Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics**. *Biochemical Engineering Journal* 46 327–333, 2009.
- MALLER, A. **Produção, purificação e caracterização do complexo pectinolítico do fungo *Aspergillus niveus***. Ribeirão Preto. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- Universidade de São Paulo, 2008.
- RODRIGUES, K. DE A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética**. São Carlos, 2006. Tese de doutorado-Escola de engenharia de São Carlos- Universidade de São Paulo, 2006.



RODRIGUES, K. de A., VIDAL, C. B., BARBOSA, B. C. A., PESSOA-WANDERLEY, C. R., DUARTE, I. C. S., SAMPAIO, G. M. M. S.. **Viabilidade do tratamento de água residuária sintética têxtil em reator aeróbio de leito fixo.** Engenharia Sanitária Ambiental, v.15 n.1, (99-106). 2010.

SILVA, K. M. L. **Remoção de Corante Têxtil por Uso de Reatores em Batelada Inoculados com Fungos.** (Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental). 85 páginas, 2009

SUMATHI, S., MANJU, B.S. **Uptake of reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*.** Enzyme and Microbial Technology, v. 27, p. 347–355, 2000.

VASSILEV, N., FENICE, M., FEDERICIL, F., AZCON, R. **Olive mill waste water treatment by immobilized cell of *Aspergillus niger* and its benrichment with soluble phosphate.** Process Biochemistry. V. 32, n 7, p. 617-620, 1997.

WANDERLEY, C.R.P. ***Aspergillus niger* AN 400 como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho congo em meio aquoso sintético.** Fortaleza, 2007. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil- Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Ceará, 2007.

Wesenberg, D.; Kyriakides, I.; Spiros N. Agathos. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnology Advances* 22 161–187, 2003.

YANG, Q.; LI, C.; LI, H.; LI, Y.; YU, N. **Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor.** *Biochemical Engineering Journal*, v. 43, p. 225–230, 2009.

YAYKASLI, K, O.; DEMIREL, G.; YASAR, A. **Influence of alcohols on citric acid production by *Aspergillus niger* A-9 entrapped in polyacrylamide gels.** *Journal of Food Engineering*, v. 70, n. 4, p. 518-522, 2005.