

Artigo Técnico

Caracterização de efluente têxtil e avaliação da capacidade de remoção de cor utilizando o fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI

*Textile effluent characterization and evaluation of capacity color removal using the fungus *Lasiodiplodia theobromae* MMPI*

Everton Pizato¹, Aline Chitto Lopes², Raquel Dalla Costa Rocha³,
Aneli de Melo Barbosa⁴, Mário Antônio Alves da Cunha⁵

RESUMO

Os processos industriais de produção têxtil têm como característica o uso de grandes volumes de água durante as etapas de lavagem e tingimento dos tecidos, resultando em efluentes com enorme diversidade e complexidade química. A presença de corantes dissolvidos é bastante visível e problemática, considerando sua recalcitrância e cinética de degradação lenta. Neste trabalho, o fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI foi avaliado quanto à capacidade de descoloração de efluente industrial têxtil. Os ensaios foram conduzidos em biorreator de bancada (5 L) com tempo de incubação de 192 horas. A eficiência de descoloração variou de 19,52% (24 h) a 91,26% (168 h) e a produção de biomassa micelial variou de 1,23 g.L⁻¹ (24 h) a 7,60 g.L⁻¹ (168 h). Produção de exopolissacarídeo (EPS) também foi observada, com quantidades variando de 2,84 g.L⁻¹ em 24 h a 4,28 g.L⁻¹ em 48 h. A caracterização do efluente industrial indicou valores de alguns parâmetros de controle fora dos padrões de lançamento exigidos pela legislação brasileira, com elevada demanda química de oxigênio (DQO) (659 mg.L⁻¹) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) (328 mg.L⁻¹). A análise de toxicidade utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* demonstrou que a concentração de efluente bruto que causou a mortalidade de 50% dos organismos (CL₅₀) foi de aproximadamente 14,72% (v/v) e ao final do tratamento foi de 4,98% (v/v). Embora o fungo não tenha sido hábil na detoxificação biológica do efluente, ele apresentou resultados promissores quanto à capacidade de remoção de cor, demonstrando potencial de uso em processos auxiliares de tratamento de efluente industrial têxtil visando descoloração.

Palavras-chave: ascomiceto; biotratamento; biorreator; corante industrial; parâmetros físico-químicos.

ABSTRACT

The industrial processes of textile production are characterized by the use of large volumes of water during the washing steps and fabric dyeing, resulting in effluent with enormous diversity and chemical complexity. The presence of dissolved dyes is quite noticeable and problematic, considering their recalcitrance and slow degradation kinetic. In this work, the *Lasiodiplodia theobromae* MMPI fungus was evaluated for their ability to removing color from effluent. The assays were performed in a bench-scale bioreactor (5 L) with an incubation time of 192 hours. The decoloring efficiency ranged from 19.52% on 24h to 91.26% on 168 h and the mycelial biomass production ranged from 1.23 g.L⁻¹ (24 h) to 7.60 g.L⁻¹ (168 h). Production of exopolysaccharide (EPS) also was observed, with amounts ranged from 2.84 g.L⁻¹ (24 h) to 4.28 g.L⁻¹ (48 h). The characterization of the effluent showed some values of control parameters outside the discharge standards required by Brazilian law, with high Chemical Oxygen Demand (COD) (659 mg.L⁻¹) and Biochemical Oxygen Demand (BOD₅) (328 mg.L⁻¹). The toxicity analysis using the microcrustacean *Artemia salina*, showed that the raw effluent concentration that caused 50% mortality of organisms (LC₅₀) was approximately 14.72% (v/v) and at the end of treatment was 4.98% (v/v). Although the fungus was not efficient in biological detoxification of the effluent, it showed promising results for its color removal capacity, demonstrating potential for use in auxiliary treatment processes of textile effluents for the color removal.

Keywords: ascomycete; biotreatment; bioreactor; industrial dye; physicochemical parameters.

¹Mestrando do Programa PPGTP/Graduado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Curitiba (PR), Brasil.

²Pesquisadora/Graduada em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Curitiba (PR), Brasil.

³Professora/Doutora em Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Curitiba (PR), Brasil.

⁴Professor Sênior/Doutora em Bioquímica. Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina (UEL) - Londrina (PR), Brasil.

⁵Professor/Doutor em Biotecnologia Industrial. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Curitiba (PR), Brasil.

Endereço para correspondência: Raquel Dalla Costa Rocha - Via do Conhecimento, Km 01, Fraron - 85503-390 - Pato Branco (PR), Brasil - E-mail: raqueldcr@utfpr.edu.br

Recebido: 05/08/13 - **Aceito:** 22/09/16 - **Reg. ABES:** 121743

INTRODUÇÃO

Uma das consequências do crescimento das atividades industriais no Brasil e no mundo é a geração de grandes quantidades de resíduos de diferentes compostos sintéticos, havendo, portanto, a necessidade do desenvolvimento de novas tecnologias para o tratamento de resíduos. Apesar do progresso obtido nas técnicas de controle da poluição em vários setores industriais, a questão do descarte de resíduos no meio ambiente ainda é um problema e em muitos casos não há protocolos eficientes que propiciem o controle absoluto.

Os processos industriais de produção têxtil utilizam grandes quantidades de água e geram diferentes resíduos com compostos tóxicos. O elevado consumo de água durante as etapas de lavagem e tingimento geram efluentes líquidos com enorme diversidade e complexidade química, dentre os quais se destacam os corantes e outros compostos orgânicos e inorgânicos. A resistência desses compostos frente aos tratamentos convencionais e os produtos originados da degradação incompleta resultam em novas moléculas com efeitos nocivos ou mutagênicos aos organismos vivos (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Estudos voltados à degradação de compostos químicos têm revelado potenciais microrganismos degradadores de substâncias recalcitrantes. Tais microrganismos são reconhecidos pela capacidade de adaptação e crescimento em condições ambientais desfavoráveis e têm sido amplamente estudados devido à produção de enzimas intracelulares e extracelulares, as quais são capazes de degradar moléculas complexas (KUMARAN; DHARANI, 2011).

É necessário o aprimoramento das tecnologias existentes ou o estudo e desenvolvimento de novas tecnologias, visando diminuir ou eliminar o lançamento de compostos nocivos no ambiente, assim como a busca por novas espécies de microrganismos que possam ser empregadas na biorremediação de resíduos industriais (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Não há relatos na literatura do uso da cepa de *Lasiodiplodia theobromae* MMPI (*L. theobromae* MMPI) no tratamento de águas residuárias têxteis. Esse fungo tem sido estudado por nosso Grupo de Pesquisa em Tecnologia de Bioprocessos e Alimentos (GTBio) como um eficiente produtor de exopolissacarídeo (CUNHA *et al.*, 2012; TURMINA *et al.*, 2012). Entretanto, com o intuito de buscar novas possibilidades de aplicações tecnológicas e contribuir para o desenvolvimento de novas tecnologias de biotratamento com microrganismo isolado da microbiota brasileira, a capacidade de decoloração de efluente têxtil industrial pelo *L. theobromae* MMPI foi estudada.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo e preparo do inóculo

O fungo ascomiceto *L. theobromae* MMPI foi mantido em tubos de ensaio em meio ágar-batata-dextrose (BDA) sob refrigeração (5°C), sendo realizados repiques mensais para meio novo.

Para o preparo do inóculo, uma pequena porção de micélio do fungo foi transferida para placas de Petri contendo meio BDA, as quais foram incubadas em estufa bacteriológica a 28°C, por 96 horas. Em seguida, o micélio crescido foi transferido para frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 90 mL de meio mínimo de Vogel (VOGEL, 1956), 10 mL de solução de glicose (50 g.L⁻¹) e cultivados em *shaker* de bancada por 48 horas a 28°C, sob agitação constante de 180 rpm. A biomassa produzida foi recuperada por centrifugação (1.500 xg, 20 min.) e transferida assepticamente para um mixer, sendo adicionada água esterilizada para homogeneização do material, com o propósito de originar um inóculo padrão com absorvância entre 0,4 a 0,5 nm e 540,0 nm.

Caracterização do efluente

O efluente bruto foi coletado em uma indústria têxtil fabricante de *jeans*, localizada na região Sudoeste do Paraná, Brasil. As amostras foram coletadas na caixa de entrada da estação de tratamento de efluentes da empresa de forma intermitente, sendo constituída de pequenas alíquotas obtidas em intervalos de uma hora durante um período de oito horas de produção industrial.

Para avaliar a carga poluidora e a toxicidade do efluente, foram caracterizados os parâmetros: demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅), potencial hidrogeniônico, sólidos totais, sólidos sedimentáveis, sólidos dissolvidos totais, sólidos suspensos totais, cloretos, sulfatos, turbidez, fenóis totais e toxicidade utilizando o bioindicador *Artemia salina*. Os ensaios foram realizados seguindo metodologias propostas pela *American Public Health Association* (APHA; AWWA; WEF, 1998), e a análise de ecotoxicidade, conforme descrito por Meyer *et al.* (1982).

Ensaio em biorreator

O ensaio de remoção de cor do efluente bruto foi realizado em biorreator de escala de bancada do tipo tanque agitado (STR), com cuba encamisada de 5 L, modelo Biostat B (B. Braun, Alemanha), equipado com eletrodo de oxigênio dissolvido, eletrodo de pH e termopar para controle de temperatura. As condições experimentais foram definidas de acordo com ensaios preliminares conduzidos em *shaker* de bancada. O efluente foi suplementado com MgSO₄·7H₂O (2 g.L⁻¹), K₂HPO₄ (2 g.L⁻¹), acrescido de sacarose (40 g.L⁻¹), nitrato de amônio (1,5 g.L⁻¹), autoclavado (121°C, 15 min) e então foi adicionado o inóculo padronizado (10% v/v). As condições operacionais do processo foram: temperatura de 28°C, agitação de 100 rpm, aeração de 0,8 vvm e volume de trabalho de 4 L. Amostras foram coletadas em intervalos de 24 h por um período de 192 h, com o propósito de avaliar a influência do tempo de retenção hidráulica sobre a remoção de cor, DQO, fenóis totais, produção de biomassa celular, produção de exopolissacarídeo (EPS) e pH do meio.

Avaliação da eficiência da descoloração via UV-visível

A eficiência de descoloração foi determinada por meio de leituras no comprimento de onda correspondente à banda de maior absorvância na região espectral UV-visível (UV-vis), identificada após varredura espectral do efluente entre 190 e 1.100 nm. Em períodos de 24 h, amostras foram coletadas e centrifugadas (1.500 xg, 20 min.), e o sobrenadante utilizado nas leituras. A atividade de descoloração foi calculada de acordo com a Equação 1 (GUPTA; TRIPATHI; HARSH, 2011).

$$\text{descoloração} = \frac{Abs_{amostra} \times 100}{Abs_{controle}} \quad (1)$$

Sendo que:

$Abs_{amostra}$: valor da absorvância encontrada após o tratamento; e

$Abs_{controle}$: valor da absorvância encontrada da solução referência.

Ensaios de ecotoxicidade com *Artemia salina*

Os ensaios de ecotoxicidade do efluente bruto sobre o microcrustáceo *Artemia salina* foram realizados de acordo com metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982), com adaptações. O teste consistiu em expor os náuplios de *Artemia salina* em diferentes concentrações do efluente têxtil (1,5, 3,1, 6,2, 12,5 e 25% v/v) por um período de 48 h, com o propósito de determinar a concentração letal (CL_{50}). Os ensaios foram realizados em triplicata, com iluminação artificial e temperatura constante (28°C), sendo empregada solução salina como controle negativo. Após 48 h de incubação, foi efetuada a contagem de larvas mortas ou imobilizadas, e foi calculada a CL_{50} , por meio de curvas de toxicidade obtidas pela correlação entre mortalidade e concentração do efluente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização físico-química do efluente têxtil

Os parâmetros físico-químicos do efluente industrial estão apresentados na Tabela 1. Os valores de DQO, DBO_5 , fenóis totais e sólidos sedimentáveis encontram-se em desacordo com os padrões de lançamento em corpos hídricos estipulados pela legislação brasileira. Por outro lado, apenas os parâmetros pH (5,15) e nitrogênio amoniacal total estão em concordância com os critérios da legislação vigente (BRASIL, 2006; PARANÁ, 2009). Em relação aos demais parâmetros avaliados, apesar da legislação vigente não estipular valores limites para o lançamento, estes fornecem dados importantes para a avaliação do potencial poluidor do efluente.

Conceitualmente, a DBO_5 indica a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica biodegradável mediante processos

bioquímicos aeróbicos por um período de incubação de cinco dias, a 20°C. Por outro lado, a DQO — que também determina o nível de oxigênio existente no meio — é o resultado da oxidação das matérias orgânica e inorgânica por meio de um oxidante químico extremamente forte. Esses parâmetros, em conjunto, podem ser muito úteis para indicar a biodegradabilidade de um efluente ou despejo industrial. Quanto mais próximos forem os valores de DBO_5 e DQO, maior é a biodegradabilidade do despejo (CETESB, 2009; VON SPERLING, 1996).

O efluente estudado apresentou valores elevados de DBO_5 (328 $mg.L^{-1}$) e DQO (629 $mg.L^{-1}$), resultados superiores aos limites definidos na legislação brasileira. Em trabalho envolvendo remoção de cor e nitrificação de efluentes têxteis, Tunussi & Alem Sobrinho (2003) verificaram valores entre 205 e 415 $mg.L^{-1}$ para o parâmetro DBO_5 , e resultados entre 515,00 a 1.800,00 $g.L^{-1}$ de DQO. Trombini & Doi (2012) observaram valores entre 270,00 e 1.219,94 $mg.L^{-1}$ de DQO, semelhantes aos resultados obtidos neste trabalho. Os níveis elevados de DBO_5 podem estar associados à presença de detergentes, sabões e outros compostos orgânicos biodegradáveis, oriundos das etapas de lavagem. Os valores de DQO indicam que, além das impurezas obtidas nas etapas de lavagem, o processo de tingimento contribuiu para a incorporação de corantes e demais aditivos ao efluente. Valores elevados de DQO podem, ainda, ser um indicador da presença de substâncias capazes de consumir oxigênio, tais como $Fe^{2+}_{(aq)}$, $Mg^{2+}_{(aq)}$, $NH_4^+_{(aq)}$ e elevados teores de cloretos (FENZL, 1988). A análise dos resultados de DBO_5 e DQO, sob o aspecto legal, indica claramente que os valores estão

Tabela 1 – Composição física e química do efluente têxtil.

Parâmetros	Unid.	Resultados	Limite de lançamento**
DQO	$mg.L^{-1}$	659,00	50
DBO_5	$mg.L^{-1}$	328,00	200
pH	-	5,15	5 a 9
Nitrogênio amoniacal total	$mg.L^{-1}$	2,24	20
Fenóis totais	$mg.L^{-1}$	6,64*	0,5
Turbidez	NTU	37,00	-
Cloretos	$mg.L^{-1}$	362,00	-
Sulfato	$mg.L^{-1}$	51,67	-
Sólidos totais	$mg.L^{-1}$	1187	-
Sólidos sedimentáveis	$m.L^{-1}$	3,50	1
Sólidos dissolvidos totais	$mg.L^{-1}$	862,00	-
Sólidos suspensos totais	$mg.L^{-1}$	474,00	-
Condutividade	$\mu S.cm^{-1}$ 25° C	808,00	-

*Compostos fenólicos totais expressos como equivalentes de ácido gálico;

**De acordo com os padrões de lançamento de efluente líquidos industriais segundo art. 34 da Resolução 357/2005 e Anexo 7 - Resolução CEMA 070/2009 (BRASIL, 2006; PARANÁ, 2009); DQO: demanda química de oxigênio; DBO_5 : demanda bioquímica de oxigênio.

em desacordo com os padrões de lançamento exigido pela legislação vigente no estado do Paraná. Tais parâmetros estão fixados em 50 mg.L⁻¹ (DBO₅) e 200 mg.L⁻¹ (DQO) (PARANÁ, 2009), demonstrando, assim, o alto potencial poluidor do efluente.

O valor de pH relativamente baixo (5,15) difere dos valores verificados na grande maioria dos trabalhos descritos na literatura. Geralmente as águas residuárias de indústrias têxteis possuem uma elevada alcalinidade, oriunda da grande quantidade de alcalinizantes utilizados na fixação dos corantes. Entretanto, grandes variações no pH final do efluente podem ocorrer devido a especificidades nos processos produtivos. Semelhante aos resultados obtidos nesta pesquisa, Ntuli *et al.* (2009) observaram valores de pH entre 5,2 e 11,8. Apesar do pH do efluente estar situado dentro da faixa de lançamento previsto na legislação, a qual estabelece valores de pH entre 5 e 9 (BRASIL, 2006), a proximidade do valor limite inferior sugere a correção dessa acidez a valores próximos a neutralidade.

Os elevados teores de sólidos sedimentáveis presentes no efluente são resultantes da presença de material particulado oriundo de pedaços de tecidos, *jeans* e abrasivos manipulados ao longo do processo. Esses valores estão acima do limite permitido pela legislação para o descarte do efluente em corpo receptor, fixado em 1 mL.L⁻¹ (BRASIL, 2006).

Similarmente, foram observados valores elevados de sólidos dissolvidos totais (862 mg.L⁻¹). O conteúdo desses sólidos pode ser atribuído à presença de sais dissolvidos, os quais são utilizados em grande quantidade nas etapas de produção, como os sulfatos, sais de sódio, carbonatos e cloretos (NIEWEGLOWSKI, 2006). Esses sais, quando dissociados no meio aquoso na forma de íons, expressam a condutividade elétrica e, segundo a Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA, 1998), existe a possibilidade de estabelecer uma correlação entre a quantidade de sólidos dissolvidos e a condutividade da amostra. Uma condutividade de 1.000 µS.cm⁻¹ corresponde a uma quantidade de aproximadamente 1.000 mg.L⁻¹ de sólidos dissolvidos. Portanto, considerando que o teor de sólidos dissolvidos totais (862 mg.L⁻¹) observado no efluente foi semelhante aos valores de condutividade da amostra (808 µS.cm⁻¹), tal correlação foi constatada.

De acordo com Sen & Demirer (2003), um efluente têxtil típico apresenta em sua composição aproximadamente 550 mg.L⁻¹ de cloretos. O presente trabalho verificou valores inferiores (362 mg.L⁻¹), mas ainda superior aos limites estipulados pela legislação para os rios de classe II (fixados em 250 mg.L⁻¹) (BRASIL, 2006). A presença do íon Cl⁻ é característico de efluentes têxteis e está associado à grande quantidade de cloreto de sódio utilizado para fixação do corante ao tecido. Nesse sentido, de acordo com dados informados pela empresa, são utilizados cerca de 40% de cloreto de sódio em massa de roupa seca.

Por outro lado, o efluente apresentou baixos valores de nitrogênio total (2,24 mg.L⁻¹) e turbidez (37 NTU). Apesar da Resolução 357/05 do CONAMA (BRASIL, 2006) não estabelecer um padrão de lançamento

para o parâmetro turbidez, o teor de nitrogênio amoniacal total encontra-se dentro dos limites de descarte para efluentes líquidos industriais (20 mg.L⁻¹). Cabe salientar que grandes quantidades de nitrogênio podem contribuir com os processos de eutrofização em rios e lagos e sempre que possível é importante minimizar o aporte desse nutriente nos ambientes aquáticos, de forma a não contribuir para a proliferação excessiva de algas e, conseqüentemente, para o desequilíbrio do ambiente (VON SPERLING, 1996).

O teor de compostos fenólicos totais presentes no efluente (6,64 mg.L⁻¹) encontra-se bem acima do padrão de lançamento exigido pela legislação brasileira. Esses compostos, caracterizados pela presença de hidroxila (OH⁻) ligada a um anel benzênico, fazem parte da composição de diversos efluentes industriais têxteis, uma vez que a maior parte dos corantes utilizados pelas indústrias encerra em sua composição química compostos com estrutura fenólica.

O efluente apresentou, visualmente, intensa coloração azul, a qual pode ser atribuída à presença de corantes oriundos dos processos de tingimento e lavagem do *jeans*. O espectro de varredura nas regiões UV-vis, ilustrado na Gráfico 1, demonstra que a maior absorção foi de 0,777 e ocorreu na região do espectro visível, em comprimento de onda de 674 nm.

Avaliação da remoção de cor nos ensaios conduzidos em biorreator

Na Gráfico 2 estão demonstrados os dados referentes ao crescimento celular — aumento de biomassa micelial — e a remoção de cor do efluente. Como pode ser visto, o fungo desenvolveu-se bem no efluente, sendo verificado aumento de biomassa micelial de 146% nas primeiras 24 h de cultivo e uma taxa de crescimento de 0,03 g.L⁻¹.h⁻¹.

Entre 24 h (1,23 g.L⁻¹) e 96 h (2,04 g.L⁻¹) de cultivo, foi verificado aumento de aproximadamente 65% no conteúdo de biomassa micelial e uma menor taxa de crescimento (0,01 g.L⁻¹.h⁻¹). Concomitantemente, em 24 h de cultivo foi removido 19,5% da cor do efluente e em 96 h um conteúdo de 32,3%, ou seja, houve um aumento proporcional de 65% na remoção de cor do efluente. De maneira geral, houve boa correlação entre remoção de cor e crescimento micelial ao longo do bioprocessamento, com remoção máxima de 91,3% em 168 h de cultivo.

Os resultados obtidos sugerem que a remoção de cor do efluente industrial ocorreu possivelmente por processo de adsorção do corante a biomassa fúngica, considerando a correlação entre crescimento celular e descoloração e que a biomassa celular apresentou ao final do tratamento intensa pigmentação azul, diferentemente de sua coloração original (cinza clara).

Cabe ressaltar que a remoção de cor poderia também estar associada a outros fatores como à produção de enzimas ligninolíticas ou à produção do próprio EPS característico do fungo empregado no

biotratamento. Nesse sentido, tais metabólitos poderiam ser produzidos de forma associada ao crescimento celular, o que então poderia não justificar a associação direta entre crescimento celular e remoção de cor por simples adsorção. No entanto, em relação à produção de enzimas ligninolíticas, as quais poderiam auxiliar na degradação dos corantes presentes no efluente, não há trabalhos na literatura descrevendo o referido fungo como bom produtor dessas. Além disso, não foi verificada atividade de lacases até o final do tempo de cultivo estabelecido no presente trabalho.

É possível observar, ainda, que no período entre 24 e 48 h de incubação a quantidade de biomassa manteve-se constante; entretanto, a descoloração do efluente aumentou em aproximadamente 10%.

Com relação ao EPS excretado pelo fungo no meio de cultivo, este foi isolado do meio por precipitação com etanol e não foi observada pigmentação no mesmo, a qual poderia ser oriunda do efluente. Ao contrário, após a separação da biomassa do meio tratado, foi verificada pigmentação azul na biomassa celular e grande redução da coloração azul do meio líquido no qual o EPS encontrava-se solubilizado.

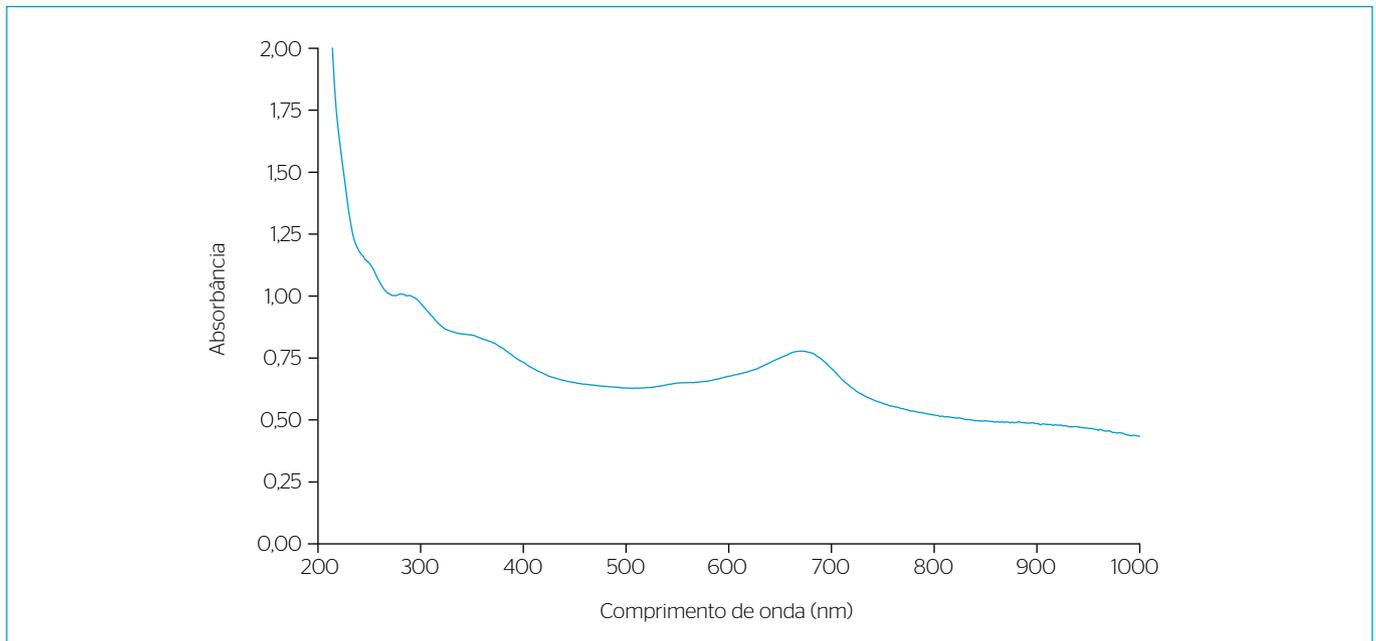


Gráfico 1 - Espectro de absorção nas regiões do ultravioleta e do visível do efluente bruto industrial.

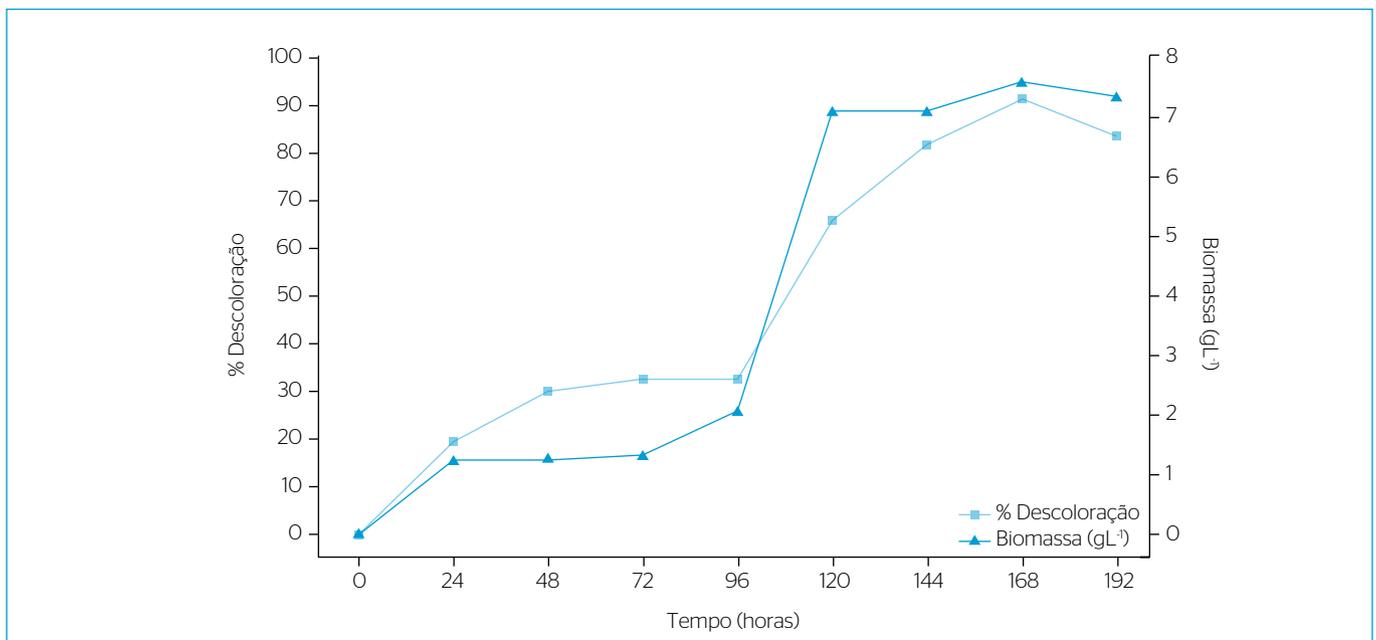


Gráfico 2 - Porcentagem de descoloração do efluente bruto em biorreator e produção de biomassa fúngica durante o biotratamento.

Os processos de descoloração utilizando biomassa viva envolvem mecanismos bastante complexos. A parede celular, constituída principalmente de polissacarídeos, proteínas e lipídeos, possui muitos grupos multifuncionais, possibilitando interações por meio de processos físicos e químicos entre as moléculas do corante e esses grupos ativos da superfície celular. Além disso, o efluente industrial também apresenta, em sua composição, diversos compostos iônicos oriundos de sais, íons metálicos, ácidos e outras impurezas, que podem aumentar a força iônica do meio e afetar a biossorção do corante à biomassa (CRINI; 2006; KAUSHIK & MALIK, 2009).

Na Figura 1 pode ser observada a coloração do efluente ao longo do biotratamento com o fungo *L. theobromae* MMPI. São apresentados os sobrenadantes do efluente após a separação da biomassa celular nos diferentes períodos de tratamento.

O efluente bruto apresentou valor de DQO de 659 mg.L⁻¹. No entanto, tal parâmetro sofreu aumento expressivo após suplementação do efluente com a sacarose e demais sais inorgânicos, atingindo 21.940 mg.L⁻¹ antes do início do tratamento (Gráfico 3).

Nas primeiras 48 h de cultivo, foi verificado aumento da DQO do mesmo, contrariamente ao esperado em um processo de tratamento, cujo objetivo principal é a redução da carga orgânica do efluente. Tal aumento é atribuído à produção de EPS, ou seja, à produção e excreção de uma β (1^o6)-D-glucana, característica de cultivos submersos com o *L. theobromae* MMPI (TURMINA *et al.*, 2012). De fato, cultivos com *L. theobromae* MMPI demonstram grande acúmulo de EPS em 48 h de fermentação (CUNHA *et al.*, 2012). Em 48 h de cultivo, foi verificado um pico de DQO (61.750 mg.L⁻¹) e a máxima concentração

de EPS no meio (4,28 g.L⁻¹). Após 48 h de tratamento, ocorreu redução na quantidade de EPS no meio e consequente redução paralela do valor de DQO, que chegou a 12.199 mg.L⁻¹ em 192 h de cultivo. A redução do conteúdo de EPS no meio de cultivo após 48 h pode estar associada à possível hidrólise do EPS, provavelmente por ação de β -glucanases secretadas pelo próprio fungo (CUNHA *et al.*, 2012). De fato, possivelmente nas primeiras 48 h de cultivo, a presença de substratos suplementares — sacarose e extrato de levedura — permitiu o crescimento celular e a síntese do EPS. Após esse período, um possível esgotamento de tais substratos pode ter levado o fungo a usar o próprio EPS como substrato após sua hidrólise — glicose oriunda da β -glucana. A glicose

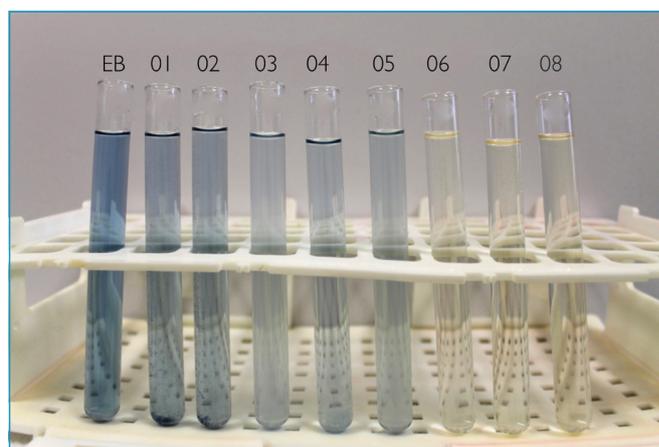


Figura 1 - Efluente bruto (padrão de referência) e efluente após diferentes períodos de tratamento: 24 h (O1), 48 h (O2), 72 h (O3), 96 h (O4), 120 h (O5), 144 h (O6), 168 h (O7) e 192 h (O8).

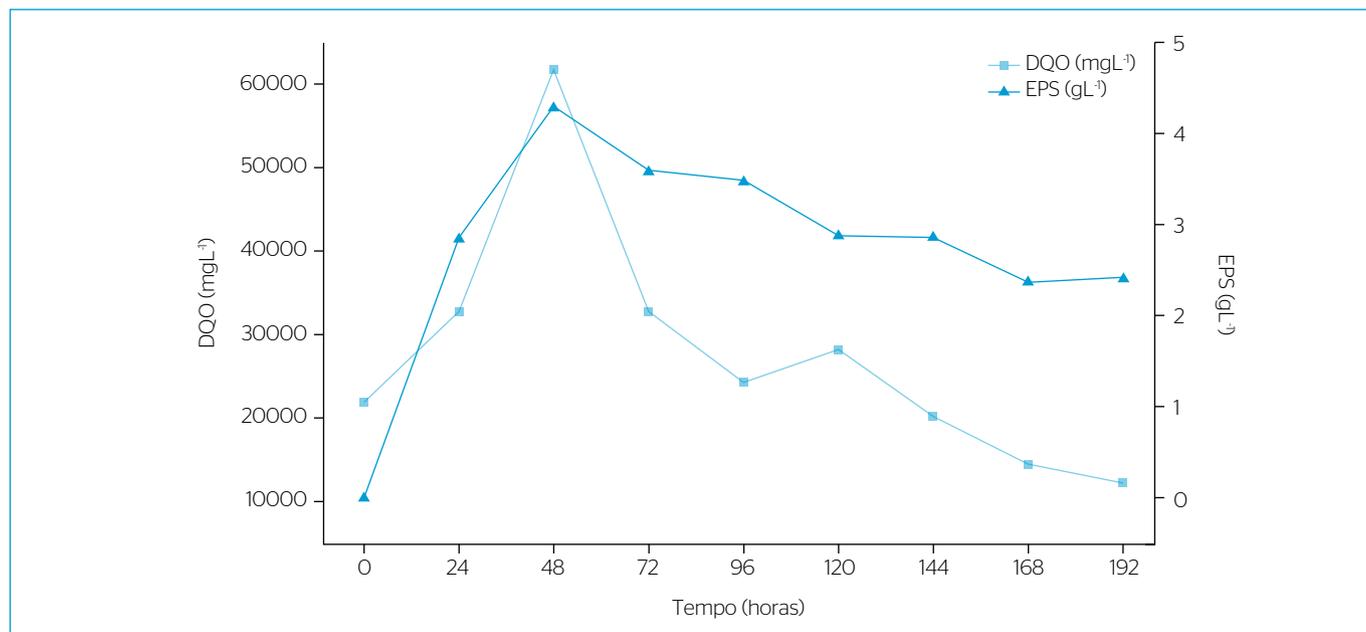


Gráfico 3 - Resultados de demanda química de oxigênio e acúmulo de exopolissacarídeo em diferentes períodos de tratamento: 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 e 192 h.

oriunda da hidrólise do EPS pode ter funcionado como fonte de energia e fonte de carbono para o fungo que continuou a crescer até 168 h de cultivo, conforme verificado na Gráfico 2. Com o crescimento celular e possível adsorção de corante oriundo do efluente na biomassa celular, foi verificada a redução de DQO em aproximadamente 80% entre 48 e 192 h de tratamento. Cabe ressaltar que, embora seja verificado valor de DQO relativamente elevado no final do biotratamento, tal valor se deve principalmente ao conteúdo de EPS presente no meio fermentado, o qual pode ser recuperado por simples precipitação com solução alcoólica (etanol 95% v/v).

A Tabela 2 apresenta os dados referentes ao pH do meio e aos teores de compostos fenólicos nos diferentes tempos de tratamento. Os resultados mostram que o pH do meio diminuiu consideravelmente em 120 h de tratamento, passando de 5,15 (tempo inicial) para 1,93 (120 h). Em relação ao conteúdo de compostos fenólicos, foi verificado um considerável aumento ao longo do processo, sendo observados conteúdos de 6,64 mg.L⁻¹ em 0 h e 126,86 mg.L⁻¹ após 192 h.

Como pode ser visto na Figura 1, o sobrenadante do efluente após o tratamento apresentou leve coloração amarela (amarelo-palha). Diversas pesquisas têm relatado a produção de pigmentos marrom-escuros ou pretos, encontrados frequentemente em sistemas microbianos e associados à fitopatogênese fúngica, geralmente caracterizados como melaninas (GOMEZ *et al.*, 2001 *apud* ESPÓSITO & AZEVEDO, 2010).

Ao avaliar os metabólitos produzidos por *Lasiodiplodia theobromae*, Aldridge *et al.* (1971) isolaram seis metabólitos diferentes, entre eles um composto fenólico. É difícil definir se o aspecto amarelado da solução após o tratamento está vinculado aos processos de descoloração fúngica ou à produção de um pigmento característico de *L. theobromae* MMPI. Entretanto, considerando os diversos estudos que comprovaram a produção de metabólitos especializados por *Lasiodiplodia theobromae* — ácido jasmônico, macrolactanas, ergosterol, isocumarina e sesquiterpenos — (NAKAMORI *et al.*, 1994; YANG *et al.*, 2000; NUNES *et al.*, 2006) o aumento do conteúdo de fenólicos no efluente tratado

em relação ao bruto poderia estar associada à síntese de novos compostos e pigmentos que não foram identificados no presente trabalho.

Ecotoxicidade do efluente frente *Artemia salina*

O resultado referente ao teste de ecotoxicidade aguda usando o microcrustáceo *Artemia salina* foi realizado baseado na CL₅₀, na qual 50% das larvas foram mortas durante 48 h de exposição ao efluente. Os resultados obtidos do efluente antes e após o biotratamento (192 h) em diferentes concentrações estão apresentados na Tabela 3.

O estudo da ecotoxicidade do efluente têxtil tratado buscou avaliar a eficiência do biotratamento em relação à toxicidade aguda do efluente a organismos vivos, bem como avaliar se o tratamento empregado poderia gerar compostos mais tóxicos que o efluente industrial *in natura*. O valor numérico de toxicidade aguda, expresso como CL₅₀, obtido a partir de curvas de toxicidade, exprime uma relação inversa à toxicidade, ou seja, menores valores numéricos indicam maiores toxicidades (LOPES; CAVASOTTO; ROCHA, 2012). Conforme pode ser observado, a concentração letal que causou a mortalidade de 50% dos organismos (CL₅₀) foi de aproximadamente 14,72% (v/v) no efluente bruto, enquanto no efluente tratado foi verificada uma CL₅₀ de 4,98% (v/v). Esses resultados demonstram que o efluente apresentou toxicidade elevada em ambas as situações, apresentando mortalidade total do microcrustáceo acima de 25%.

Após o tratamento utilizando o fungo *L. theobromae* MMPI, o efluente apresentou maior toxicidade quando comparado ao efluente bruto. O aumento de toxicidade observado após o tratamento pode ser atribuído a diversos fatores, entre eles a possível formação de produtos oriundos do metabolismo fúngico, a degradação parcial do corante e conseqüentemente a formação de compostos intermediários e a diminuição do pH do meio — o qual foi para valores extremamente baixos (3,09) —, entre outros. Nesse caso, novos estudos devem ser feitos para confirmação e maiores explicações acerca de tais hipóteses.

Tabela 2 - Valores de pH e compostos fenólicos em diferentes tempos de tratamento.

Tempo (horas)	pH	Fenóis totais (mg.L ⁻¹)*
0	5,15	6,64
24	3,12	62,79
48	3,13	61,20
72	3,08	62,39
96	2,43	86,58
120	1,93	122,73
144	2,48	120,04
168	2,93	111,39
192	3,09	126,86

*Compostos fenólicos totais expressos como equivalentes em ácido gálico.

Tabela 3 - Ecotoxicidade aguda frente ao microcrustáceo *Artemia salina* após 48 h de incubação em diferentes concentrações do efluente.

Concentração do efluente (v/v)	Mortalidade (%)	
	Efluente bruto	Efluente tratado
1,5	0,0	0,0
3,1	0,0	26,7
6,2	0,0	63,3
12,5	33,3	96,7
25	100,0	100,0
Resultado final	CL ₅₀ EB ~ 14,72%	CL ₅₀ ET- 4,98%

CL₅₀: concentração que causou letalidade a 50% da população exposta; EB: efluente bruto; ET: efluente tratado.

CONCLUSÃO

O efluente industrial têxtil estudado apresentou elevado potencial poluidor, incluindo valores de DBO₅, DQO, fenóis totais e sólidos sedimentáveis bem acima dos limites máximos determinados pela legislação para lançamento em corpos receptores. Apresentou também intensa coloração e ecotoxicidade frente ao bioindicador *Artemia salina*, expressando a necessidade de adequado tratamento.

O fungo *L. theobromae* MMPI demonstrou ter elevada capacidade de remoção de cor em ensaios preliminares conduzidos em biorreator de bancada, sendo capaz de remover 91,2% da cor após 168 h de

biotratamento. Entretanto, não apresentou habilidade para a detoxificação biológica, redução de DQO e nem redução do conteúdo de compostos fenólicos, mas a elevada capacidade de remoção de cor pode tornar seu uso atrativo como um tratamento auxiliar. Possivelmente, tratamentos como processos oxidativos avançados (POAs), associados ao biotratamento com o fungo estudado, possam remediar adequadamente o efluente. É importante destacar que o uso exclusivo de POAs possivelmente não seria eficiente em curto espaço de tempo quanto à remoção de cor; no entanto o efluente descolorido poderia ser mais facilmente remediado por tais processos.

REFERÊNCIAS

- ALDRIDGE, D.C.; GALT, S.; GILES, D.; TURNER, W.B. (1971) Metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*. *Journal of the Chemical Society C: Organic*, n. 0, p. 1623-1627.
- APHA - American Public Health Association; AWWA - American Water Works Associations; WEF - Water Environment Federation. (1998) *Standard Methods for the Examinations of Water and Wastewater*. 20. ed. Washington, DC.: [s.n.]. 1220 p.
- BRASIL. CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. (2006) *Resoluções do Conama: resoluções vigentes publicadas entre julho de 1984 e maio de 2006*. Brasília.
- CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. (2009) *Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo - Série de relatórios*. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo/Secretaria do Meio Ambiente. 44p.
- CUNHA, M.A.A.; TURMINA, J.A.; IVANOV, R.C.; BARROSO, R.R.; MARQUES, P.T.; FONSECA, E.A.; FORTES, Z.B.; DEKKER, R.F.; KHAPER, N.; BARBOSA, A.M. (2012) Lasiodiplodan, na exocelular (1-6)-B-D-glucan from *Lasiodiplodia theobromae* MMPI: production on glucose, fermentation kinetics, rheology and anti-proliferative activity. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v. 39, n. 8, p. 1179-1188.
- CRINI, G. (2006) Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. *Bioresource Technology*, v. 97, n. 9, p. 1061-1085.
- ESPÓSITO, E. & AZEVEDO, J.L. (2010) *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. 2. ed. Caxias do Sul: EDUCS - Editora da Universidade de Caxias do Sul. 638 p.
- FATMA - Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina (1998) *Relevância de parâmetros de qualidade das águas aplicados à águas corrente. Parte I: características gerais, nutrientes, elementos-traço e substâncias nocivas inorgânicas, características biológicas*. Florianópolis: FATMA/GTZ. 108p.
- FENZL, N. (1988) Composição química das águas naturais. In: FENZL, N. (Ed.). *Introdução à hidrogeoquímica*. Belém: Gráfica e Editora Universitária (UFPA). p. 49-74.
- GAYLARDE, C.C.; BELLINASSO, M.L.; MANFIO, G.P. (2005) Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biотecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n. 34.
- GUPTA, N.; TRIPATHI, A.K.; HARSH, N.S.K. (2011) Bioremediation of cotton-textile effluent using fungi. *BEPLS - Bulletin of Environment, Pharmacology & Life Sciences*, v. 1, n. 1, p. 15-19.
- KAUSHIK, P. & MALIK, A. (2009) Fungal dye decolourization: recent advances and future potential. *Environment International*, v. 35, n. 1, p. 127-141.
- KUMARAN, N.S. & DHARANI, G. (2011) Decolorization of textile dyes by white rot fungi *Phanerocheate chrysosporium* and *Pleurotus sajor-caju*. *Journal of Applied Technology in Environmental Sanitation*, v. 1, n. 4, p. 361-370.
- LOPES, A.C.; CAVASOTTO, T.; ROCHA, R.D.C. (2012) Teste preliminar de toxicidade aguda de efluente de galvanoplastia utilizando *Artemia salina*. In: Simpósio de Tecnologia Química, 1. *Anais...* Pato Branco: UTFPR. p. 1.
- MEYER, B.N.; Ferrigni, N.R.; Putnam, J.E.; Jacobsen L.B.; Nichols, D.E.; McLaughlin, J.L. (1982) Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*, v. 45, n. 5, p. 31-34.
- NAKAMORI, K.; MATSUURA, H.; YOSHIHARA, T.; ICHIHARA, A.; KODA, Y. (1994) Potato micro-tuber inducing substances from *Lasiodiplodia theobromae*. *Phytochemistry*, v. 35, n. 4, p. 835-839.
- NIEWEGLOWSKI, A.M.A. (2006) *Indicadores de qualidade da água na bacia hidrográfica do Rio Toledo*. 218f. Dissertação (Mestrado) - Pós-graduação em Agronomia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- NTULI, F.; IKHU-OBOREGBE, D.; KUIPA, P.K.; MUZENDA, E.; BELAID, M. (2009) Characterization of effluent from textile wet finishing operations. In: World Congress on Engineering and Computer Science, San Francisco. *Proceedings...* v. 1. p. 69-74.

- NUNES, F.M.; OLIVEIRA, M.C.F.; ANDRADE NETO, M.; RODRIGUES FILHO, E.; VIANA, F.M.P.; FERREIRA, V.M.; MAFEZOLI, J. (2006) Metabólitos secundários do fitopatógeno *Lasioidiplodia theobromae*. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 29. Anais... Águas de Lindoia: Sociedade Brasileira de Química. p. 1-2.
- PARANÁ. CEMA - Conselho Estadual do Meio Ambiente. (2009) *Resolução n.º 070/2009*. Disponível em: <http://www.iap.pr.gov.br/arquivos/File/Legislacao_ambiental/Legislacao_estadual/RESOLUCOES/resolucao_cema_70_2009.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2013.
- SEN, S. & DEMIRER, G.N. (2003) Anaerobic treatment of real textile wastewater with a fluidized bed reactor. *Water Research*, v. 37, n. 8, p. 1868-1878.
- TROMBINI, R.B. & DOI, S.M.O. (2012) Remoção de cor e análises físico-química de efluentes de indústrias têxteis tratados com *Ganoderma* spp. *Revista Fapciência*, v. 9, n. 12, p. 101-122.
- TUNUSSI, L. & ALEM SOBRINHO, P. (2003) Remoção de cor e nitrificação de efluentes de tinturaria têxtil através de processos biológicos anaeróbio-aeróbio. *Água Latinoamérica*, v. 3, n. 6, p. 1-7.
- TURMINA, J.A.; CARRARO, E.; CUNHA, M.A.A.; DEKKER, R.F.; BARBOSA, A.M.; SANTOS, F.S.; SILVA, L.A.; Malfatti, C.R. (2012) Toxicological assessment of β -(1,6)-glucan (Lasioidiplodan) in mice during a 28-day feeding study by gavage. *Molecules (Basel Online)*, v. 17, n. 12, p. 14298-14309.
- VOGEL, H.J. (1956) A convenient growth medium for *Neurospora crassa*. *Genetic Bulletin*, v. 13, p. 42-43.
- VON SPERLING, M. (1996) *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias*. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. v. 1. 243p.
- YANG, Q.; ASAI, M.; MATSUURA, H.; YOSHIHARA, T. (2000) Potato micro-tuber inducing hydroxylasiodiplodins from *Lasioidiplodia theobromae*. *Phytochemistry*, v. 54, n. 5, p. 489-494.