



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ADRIANE CAROLINE BATISTA OLIVEIRA**

**BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES AZO POR CEPAS DE *Aspergillus***  
**ISOLADAS DO SOLO DA CAATINGA**

**RECIFE**  
**2023**

ADRIANE CAROLINE BATISTA OLIVEIRA

**BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES AZO POR CEPAS DE *Aspergillus*  
ISOLADAS DO SOLO DA CAATINGA**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas/UFRPE como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Ana Lúcia Figueiredo Porto.

Co-orientadora: Anna Gabrielly Duarte Neves.

RECIFE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

048b

Oliveira, Adriane Caroline Batista  
BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES AZO POR CEPAS DE *Aspergillus* ISOLADAS DO SOLO DA  
CAATINGA / Adriane Caroline Batista Oliveira. - 2023.  
51 f.

Orientadora: Ana Lucia Figueiredo Porto.  
Coorientadora: Anna Gabrielly Duarte Neves.  
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife,  
2023.

1. Descoloração. 2. Corantes têxteis. 3. Bioissorção. 4. Fungos filamentosos. I. Porto, Ana Lucia Figueiredo, orient. II. Neves, Anna Gabrielly Duarte, coorient. III. Título

---

CDD

ADRIANE CAROLINE BATISTA OLIVEIRA

**BIORREMEDIAÇÃO DE CORANTES AZO POR CEPAS DE *Aspergillus*  
ISOLADAS DO SOLO DA CAATINGA**

Comissão Avaliadora:

---

Profº Draº Ana Lúcia Figueiredo Porto – UFRPE  
Orientador

---

Profª Drª Raphael Luiz Andrade Silva – UFRPE  
Titular

---

Profº Draº Juanize Matias da Silva Batista – UFPE  
Titular

---

Profª Draª Marcia Nieves Carneiro da Cunha – UFRPE  
Suplente

RECIFE  
2023

*“Há algo de bom neste mundo, Sr. Frodo...  
e vale a pena lutar por isso.”*

- O senhor dos anéis

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de deixar claro que encaro esta monografia como um desafio para mim mesma. Embora as circunstâncias da vida tenham elaborado caminhos diferentes para mim, a finalização deste ciclo se consagra como uma realização bastante importante, e espero levar os ensinamentos e memórias desse momento com sabedoria.

Seguindo adiante, gostaria de agradecer aos meus pais pela minha vida. Obrigada por ter cuidado de mim e tentado suprir o que faltava. Obrigada pelo incentivo nos estudos e pelos puxões de orelha. Agradeço a minha avó Vera, por ter escolhido me amar e me guiar com seus ensinamentos, por partilhar suas gargalhadas e seus gostos de leitura comigo, por me desejar sempre o bem e estar ao meu lado.

Entrar em uma universidade foi sempre uma meta que quis alcançar e ao conseguir realizar a graduação na ruralinda, essa meta se tornou mais especial. Assim sendo, com todo o meu coração, agradeço à Universidade Federal Rural de Pernambuco, que me acolheu em um enorme abraço e tornou possível encontrar pessoas lindas e gentis em meio a trajetória. Dito isso, todo o meu carinho e gratidão àqueles que posso chamar de amigos. Obrigada pela amizade de cada um de vocês. Josias, cito o seu nome aqui, meu amigo, com muita gratidão pelo presente que é a nossa amizade e por esses anos juntos na graduação, obrigada pelas palavras de apoio e pela confiança.

Nesse contexto, agradeço a professora Ana Porto por ter aberto as portas do laboratório pra mim e assim, tornando possível a minha capacitação como profissional e dispor de oportunidades para que isso acontecesse. Não obstante, a minha experiência no LABTECBIO não foi apenas de caráter profissional, mas também ajudou a me desenvolver como pessoa. Sendo assim, gostaria de agradecer as pessoas que me acolheram e que hoje tenho muito carinho.

Dito isso, deixo esse parágrafo para uma pessoa muito especial. A pessoa que pegou na minha mão e teve muita paciência e empatia dentro de si para me auxiliar nessa caminhada. Obrigada Gabrielly Duarte por todos esses ensinamentos durante essa experiência no laboratório. Esta monografia também só está sendo possível por todo seu esforço e acolhimento para com minha pessoa. Obrigada pelas conversas, sentirei muitas saudades delas, inclusive quando envolvia gatos.

Você me inspira e espero um dia poder chegar a ser uma profissional e pessoa como você. Obrigada por confiar em mim para a finalização deste trabalho e por sua gentileza para comigo. A senhorita é uma margarida.

Não menos importante, agradeço a quaisquer 'forças' existentes, seja o destino, energias, a casualidade ou/e principalmente o tempo, por ter colocado em meu caminho Naninha, Tom e Rato, meus filhos, meus gatos. Eu amo vocês de todo o meu coração, vocês me salvam todos os dias!

Por fim, agradeço a todos que estiveram ao meu lado, acompanhando essa trajetória. Obrigada a cada um pela amizade, palavra de apoio, gargalhadas e abraços. Gostaria de finalizar esta seção com a frase do personagem de um universo pelo qual sou apaixonada, O Senhor dos Anéis, e que me fez ver a beleza da amizade: "Então vamos nos livrar disso de uma vez por todas! Vamos, Sr. Frodo. Não posso carregá-lo para você, mas posso carregá-lo!" (Samwise Gamgee).

## RESUMO

Nos últimos anos, a quantidade de efluentes têxteis descartados em corpos d'água tem aumentado gradativamente. Devido a compostos altamente tóxicos em sua composição, a presença de corantes entre esses compostos causam impactos prejudiciais ao meio ambiente por apresentarem difícil degradação, reduzir a atividade fotossintética nos corpos d'água, e apresentar potencial bioacumulativo. Dessa maneira, o tratamento de águas residuais utilizando a biorremediação surge como uma alternativa de remoção desses compostos. Este trabalho sugere uma alternativa ecológica para remoção de azo corantes, utilizando biomassa de fungos *Aspergillus* como mecanismo de descoloração dos azo corantes *Congo Red*, *Direct Black 22* e *Amido Black*. Foi realizada uma seleção de fungos empregando 1g e 3g de biomassa viva das cepas *Aspergillus sp.* UCP 1280, *Aspergillus sp.* UCP 1281 e *Aspergillus sp.* UCP 1285 com duração de 3 horas de experimentação, sob condições de pH 7, 30°C de temperatura e 120 RPM. Os melhores resultados de descoloração, para os três corantes e com os três fungos foram alcançados quando empregado 3 g de biomassa. E o fungo que melhor descoloriu os corantes foi o *Aspergillus sp.* UCP 1281, que demonstrou taxas acima de 95%, 90%, 50% de descoloração para o *Congo Red*, *Direct Black 22* e *Amido Black*, respectivamente. Para medir a capacidade de reutilização da biomassa e recuperação dos corantes foram aplicados como dessorventes Dimetilsulfóxido (DMSO), Ácido acético e Bicarbonato de sódio. E para todos os fungos e corantes, as melhores dessorções foram observadas com DMSO e bicarbonato, provavelmente devido ao pH básico desses eluentes. Todos os fungos testados apresentaram resultados positivos para o teste qualitativo de lacase, indicando possibilidade de degradação de corantes azo com essas cepas. Esses resultados mostram que *Aspergillus* apresenta alto potencial para remoção de azo corantes, mesmo com concentrações diferentes de biomassa e com estruturas químicas complexas dos corantes, mas é necessário o desenvolvimento de mais pesquisas envolvendo a capacidade dessas cepas para o tratamento de azo corantes, possibilitando uma aplicação com maior escalabilidade e parâmetros otimizados para garantir a maior eficiência da descoloração.

**Palavras-chave:** Descoloração; Corantes têxteis; Biossorção; Fungos filamentosos.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** — Exemplificação da nomenclatura dos corantes segundo o padrão *Colour Index*.....18
- Figura 2** — Estrutura química dos corantes. A - azocorantes; B - Antraquinona; C - índigo; E - Ftalocianina; F - Nitro; G - Nitroso.....18
- Figura 3** — Estrutura molecular do corante e a esquerda sua forma 3D: Direct Black 22 (A - B), Congo Red (C - D) e Amido Black (E - F).....22
- Figura 4** — Biomassa (3g) dos fungos *Aspergillus sp.* UCP 1280 (A), *Aspergillus sp.* UCP 1281 (B) e *Aspergillus sp.* UCP 1285 (C), após filtração na bomba a vácuo. ....32
- Figura 5** — Descoloração do corante *Congo Red* 22 (50 mg/L) por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* com variação de biomassa. ....37
- Figura 6** — Descoloração do *Congo Red* por fungo *Aspergillus sp.* UCP 1281 após 180 minutos de experimento. Na foto A, observa-se a adsorção do corante pela superfície do micélio com 3g de biomassa. A foto B, comparação da solução do corante controle (a esquerda) e o tratado (direita).....38
- Figura 7** — Descoloração do corante *Direct Black* 22 (50 mg/L) por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* com variação de biomassa.....39
- Figura 8** — Descoloração do corante *Amido Black* (50 mg/L) por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* com variação de biomassa.....39
- Figura 9** — Formação de halo verde azulado pelas cepas *Aspergillus sp.* UCP 1280 (A), *Aspergillus sp.* UCP 1281 (B), *Aspergillus sp.* UCP 1285 (C).....44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> — Classificação de corantes quanto a sua carga iônica.....	20
<b>Tabela 2</b> — Fungos do gênero <i>Aspergillus</i> aplicados na remoção de corantes têxteis.....	30
<b>Tabela 3</b> — Descoloração dos azo corantes relacionado ao tempo de máxima descoloração.....	35
<b>Tabela 4</b> — Dessorção dos corantes <i>Congo Red</i> , <i>Direct Black 22</i> e <i>Amido Black</i> pelos eluentes Dimetilsulfóxido (DMSO), Ácido acético e Bicarbonato de Sódio.....	41

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> — Alguns dos principais grupos cromóforos presentes em corantes.....	17
--	----



3.6	PROCESSO DE DESCOLORAÇÃO DE CORANTES AZO POR <i>Aspergillus</i> .....	33
3.6.1	ANÁLISE DO PROCESSO DE DESCOLORAÇÃO.....	33
3.7	CURVA DE CALIBRAÇÃO DOS CORANTES.....	33
3.8	CAPACIDADE DE DESSORÇÃO DOS CORANTES.....	33
3.9	ANÁLISE DA POTENCIALIDADE DE BIODEGRADAÇÃO DOS CORANTES PELAS CEPAS DE <i>Aspergillus</i> .....	34
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
4.1	DESCOLORAÇÃO DE CORANTES AZO COM CEPAS DE <i>Aspergillus sp.</i> .....	34
4.2	INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DA BIOMASSA NO PROCESSO DE BIOSSORÇÃO DE CORANTES AZO.....	36
4.3	CAPACIDADE DE DESSORÇÃO E REUTILIZAÇÃO DA BIOMASSA.....	41
4.4	POTENCIAL DE BIODEGRADAÇÃO PELA PRODUÇÃO DE ENZIMAS OXIDATIVAS.....	43
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A cor consiste em uma propriedade bastante atraente em nosso mundo. Isso é evidenciado nos materiais do dia-a-dia, devido ao interesse do homem em objetos coloridos, como produtos têxteis, tintas, plásticos, papel e alimentos (Gürses *et al.*, 2016). No setor alimentício, observa-se a utilização da cor como um atrativo para o consumo (Yamjala *et al.*, 2016). A cor de um objeto ocorre devido a propriedade de reflexão e refração do espectro de luz (Kumar *et al.*, 2021). Existem diversos compostos com propriedades de colorir, dentre eles os corantes.

No setor industrial, a utilização de corantes iniciou utilizando fontes naturais, como plantas e insetos. Atualmente, com o avanço da tecnologia e a rápida industrialização, a utilização de corantes de origem sintética se tornou predominante, uma vez que apresenta vantagens como: baixo custo de produção, maior fixação da cor, alta solidez em relação à luz e umidade, diversidade estrutural e conseqüentemente, vastidão de tons (Bafana *et al.*, 2011). Os corantes sintéticos mais aplicados na indústria são os corantes azo. No entanto, vários corantes sintéticos, principalmente os azo corantes, contém propriedades poluentes, contaminando corpos d'água e vários organismos (Patel *et al.*, 2022).

A toxicidade desses corantes está relacionada a sua propriedade química, com pelo menos um grupo aromático. Esses compostos são recalcitrantes, xenobióticos, resistentes à luz, mutagênicos e carcinogênicos e podem contaminar solos e as águas subterrâneas (Sandhya, 2010; Senthilkumar *et al.*, 2014). Segundo o Banco Mundial, aproximadamente 17% a 20% da poluição do meios aquáticos provém das indústrias têxteis (Rani *et al.*, 2013). Ainda, estudos indicam que todos os anos cerca de 20.000 toneladas de corantes têxteis são liberados em efluentes em razão dos processos de tingimento que ocorrem de forma inadequada (Sharma *et al.*, 2021).

Devido a essas características, a liberação de corantes no meio ambiente se tornou uma problemática alarmante, uma vez que apresentam um alto nível de toxicidade para os organismos (Sandhya, 2010). Dessa forma, pensando em alternativas viáveis para a remoção de corantes, vários microrganismos vêm sendo selecionados para o tratamento desses contaminantes (Solís *et al.*, 2012), por possuírem uma maquinaria metabólica que auxilia no processo de remoção.

Dentre os microrganismos utilizados na aplicação de tratamento de efluentes, as bactérias são amplamente aplicadas para descoloração de corantes azo. No

entanto, os produtos desse processo, como as aminas aromáticas, podem reduzir a atividade metabólica da bactéria (Sen *et al.*, 2016). Enquanto que os fungos, por possuírem um metabolismo diverso, conseguem degradar compostos orgânicos complexos com suas enzimas de forma intra e extracelular. Estes, mostram eficiência na remoção dos compostos aromáticos (Sen *et al.*, 2016), apresentam baixo custo de aplicação, conseguem biodegradar e/ou bioacumular os poluentes (Przystaś *et al.*, 2018), e através da adsorção, conseguem descolorir corantes. Por conseguinte, o uso de fungos filamentosos como alternativa para o tratamento de corantes azo têm recebido bastante atenção nas últimas décadas.

O desenvolvimento de pesquisas utilizando fungos filamentosos para a descoloração de corantes azóicos continuam sendo necessárias para encontrar metodologias mais eficientes para esse tratamento. Sendo assim, este trabalho buscou investigar a capacidade de descoloração dos fungos do gênero *Aspergillus* para a remoção de corantes azo *Direct Black 22*, *Congo Red* e *Amido Black*.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo geral**

Investigar a capacidade de fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* em descolorir corantes azo.

### **1.1.2 Objetivos específicos:**

- Avaliar a capacidade dos fungos do gênero *Aspergillus* em descolorir os corantes azo em meio líquido.
- Selecionar a(s) melhor(es) cepas de *Aspergillus* para a descoloração dos corantes *Direct Black 22*, *Congo Red* e *Amido Black*.
- Verificar a influência da quantidade de biomassa no processo de descoloração.
- Analisar a capacidade de dessorção dos corantes adsorvidos pela biomassa fúngica.
- Avaliar o potencial de degradação de corantes a partir da produção da enzima lacase.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CORANTES

Os corantes compreendem substâncias orgânicas que conferem cor a um substrato através do processo de adsorção (Mani *et al.*, 2019). A coloração pode ocorrer através da adsorção química ou quimissorção, caracterizada pela formação de fortes ligações químicas entre as moléculas ou íons do adsorvato com a superfície do adsorvente; e/ou adsorção física ou fisissorção, controlada por ligações de van der Waals, interação dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio (Yagub *et al.*, 2014).

De forma genérica, os corantes são conhecidos como naturais e sintéticos. Os de origem natural são de extratos vegetais, matérias minerais e alguns de origem animal (Gürses *et al.*, 2016). Corantes de origem naturais são mais instáveis e sofrem degradação mais facilmente, enquanto que os corantes obtidos de forma sintética são mais estáveis e apresentam custo de produção menor, quando comparado aos naturais (Timberlake, Bridle e Walford, 1980; Yamjala *et al.*, 2016).

A utilização de corantes pela civilização humana data desde a Idade da Pedra e, com o desenvolvimento das técnicas de tecelagem, seu uso foi estendido à área têxtil em várias regiões do mundo (Yadav *et al.*, 2023). Desde as pinturas rupestres pré-históricas, até as cores de uniformes de soldados e jeans modernos, observa-se a presença de corantes na história da humanidade (Glowacki *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2021). Antigos grupos de civilização, como os fenícios utilizavam um grupo de moluscos do mar mediterrâneo que excretavam substâncias de cor púrpura que mancham tecidos, hoje conhecido como Púrpura de Tyrian (Glowacki *et al.*, 2012). Alguns estudiosos acreditam que Alexandre, o Grande, durante a sua guerra com os persas, conseguiu enganá-los borrifando em seus soldados um corante de cor vermelha (Alizarina) do suco de garança, de modo que pensassem que estavam feridos (Bafana *et al.*, 2011). O índigo, um dos corantes mais antigos e amplamente utilizado até nos dias atuais para o tingimento de denim, possui uma cor azul característica (Glowacki *et al.*, 2012).

Até o início do século XIX, todos os corantes utilizados eram naturais. No entanto, as cores dos corantes naturais eram limitadas, o que impulsionou descobertas de uma nova origem de corante, os sintéticos (Bafana *et al.*, 2011). O primeiro corante sintético foi produzido em 1856 a partir de um corante do tipo

anilina, conhecido como Mauveine, patenteado por William Henry Perkin (Ardila-Leal *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2021). No final do século XIX, Otto Witt conseguiu sintetizar um corante azo, conhecido comercialmente como London Yellow (Kant, 2012). A partir do século XX, a indústria de corantes sintéticos começou a ser desenvolvida, substituindo aplicações de corantes naturais.

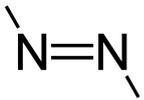
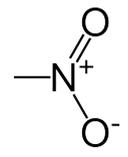
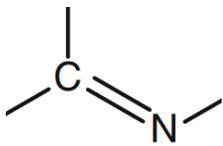
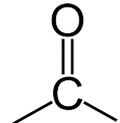
Essas substâncias são solúveis em água ou em solventes orgânicos e que, ao ter afinidade com seu substrato (*International Agency for Research on Cancer*, 2010), confere cor, que é atribuída às propriedades eletrônicas contidas em seus componentes conhecidos como cromóforos e auxocromo (Kumar *et al.*, 2021).

### 2.1.1 PROPRIEDADES QUÍMICAS

Os corantes são substâncias constituídas de moléculas aromáticas, como benzenos, toluenos, xilenos, naftalenos, antracenos e outros hidrocarbonetos aromáticos. Além disso, apresentam em sua estrutura dois componentes importantes para a coloração: os cromóforos e auxocromos (Pavlović *et al.*, 2022). Os cromóforos são componentes orgânicos formados por ligações insaturadas responsáveis pela absorção da luz UV ou visível, como grupos  $-N=N-$ ,  $-C=C-$ ,  $-C\equiv C-$ ,  $-C\equiv N-$  e  $-NO_2$  (Quadro 1). Embora seja responsável pelo aparecimento de cor, o cromóforo não consegue determinar uma cor específica. Outro componente que influencia na coloração, é o auxocromo. Esse grupo é formado por grupos básicos saturados como  $-NH_2$ ,  $-OH$  e  $-SH$  que, junto ao cromóforo, tem a capacidade de alterar o comprimento de onda da luz visível e intensificar a absorção da luz, sendo assim responsável pelo aprofundamento da cor (El-Sikaily *et al.*, 2012).

Tais propriedades foram observadas em 1876 pelo químico alemão Otto Witt, que relacionou a cor com a estrutura da molécula do corante. Segundo ele, um corante é constituído por ligações covalentes presentes nas estruturas conhecidas como cromóforos e grupos básicos, os auxocromos. Apesar de ambas serem responsáveis pela cor, o cromóforo teria o papel de absorver o comprimento de onda, enquanto que o auxocromo seria responsável pelo aprimoramento da cor (Kumar *et al.*, 2021).

**Quadro 1** - Alguns dos principais grupos cromóforos presentes em corantes.

Grupos cromóforos	
Azo	
Nitro	
Methine	
Carbonila	

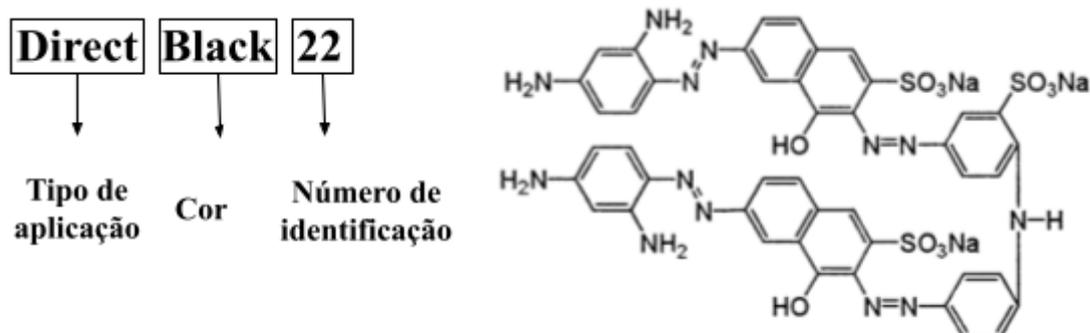
Fonte: Baseado em Benkhaya e colaboradores (2020); Gurses e colaboradores (2016).

### 2.1.2 CLASSIFICAÇÃO DOS CORANTES

Os corantes possuem uma ampla variedade de classificação devido ao grande número de corantes existentes (Gurses *et al.*, 2016). Por conseguinte, os corantes são classificados de acordo com sua estrutura química, cor, métodos de aplicação e ainda, com a partícula formada após diluição em meio aquoso (Yagub *et al.*, 2014). Contudo, a classificação através da estrutura química se tornou bastante complexa, concedendo lugar a classificação com base na aplicação do corante.

Atualmente, a classificação baseada na aplicação do corante é a mais utilizada e segue o padrão do Colour Index (CI) (Figura 1). O *Colour Index* - índice de cores - consiste em classificar um corante com um nome genérico e um número relacionado a sua composição química (*Colour Index*™; Gurses *et al.*, 2016). De acordo com esse padrão, o nome genérico refere-se ao tipo de aplicação, junto a cor e o número de identificação.

**Figura 1** - Exemplificação da nomenclatura dos corantes segundo o padrão Colour Index.



**Classe:** Azo

**Fórmula molecular:**  $C_{44}H_{32}N_{13}Na_3O_{11}S_3$

**Peso molecular:** 1083.97

**Número do Registro CAS:** 6473-13-8

**Aplicação:** Direto

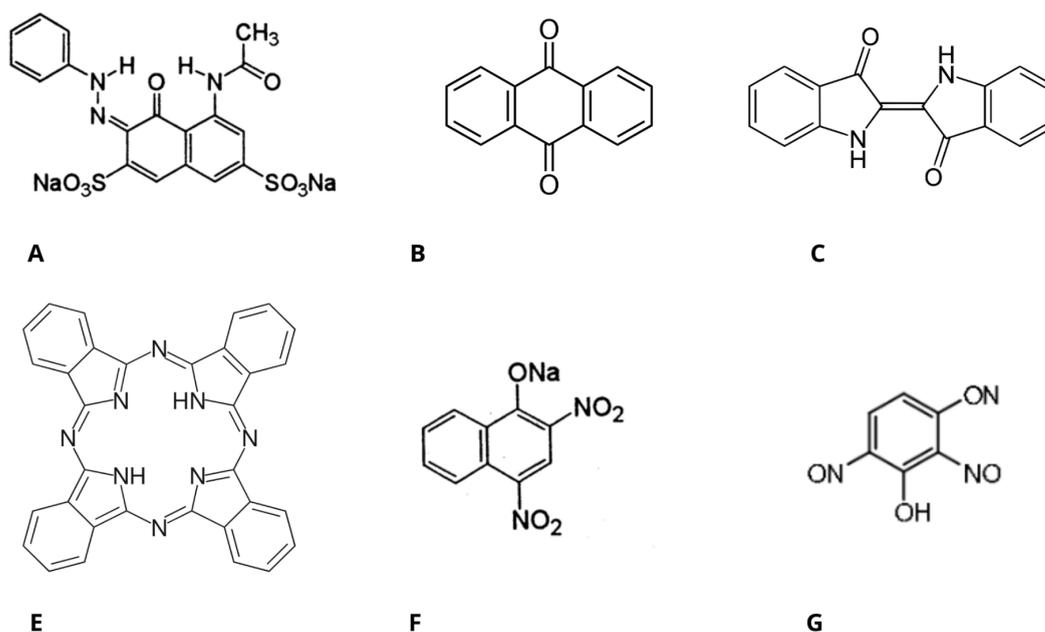
**Nome comercial:** Direct Black L-2BG, Direct Black VSF, Direct Fast Black GF, Direct Fast Black GGB, Direct Fast Black VSF, Direct Fast Black VSF 600, Solophenyl Black FGE

Fonte: De autoria própria.

### 2.1.2.1 CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A ESTRUTURA QUÍMICA

**a) Corantes Azo:** Os corantes desse grupo são produzidos exclusivamente por vias sintéticas. São os mais utilizados comercialmente, representando mais de 60% do total de corantes. São produzidos pela diazotização de uma amina aromática primária que sofre uma reação de acoplamento com o sal diazônico (Benkhaya *et al.*, 2020). Sua estrutura química contém, pelo menos, uma ligação dupla de nitrogênio com nitrogênio (-N=N-) (Figura 2 A), ligados a dois radicais simétricos ou assimétricos, no qual pelo menos um é um anel benzênico (Gurses *et al.*, 2016; Benkhaya *et al.*, 2020; Zafar *et al.*, 2022).

**Figura 2** - Estrutura química dos corantes. A - azocorantes; B - Antraquinona; C - índigo; E - Ftalocianina; F - Nitro; G - Nitroso;



Fonte: Google imagens.

**b) Corantes Índigo:** O índigo é um composto orgânico sendo um dos corantes mais antigos e conhecidos (Pavlović *et al.*, 2022). Inicialmente extraído de extratos vegetais, atualmente é amplamente produzido de forma sintética, sendo sua aplicação, na escala industrial, voltada para o tingimento de jeans e jaquetas (Gurses *et al.*, 2016). Suas propriedades conferem ao índigo uma cor azul, sendo insolúvel em água e em alguns solventes orgânicos devido a sua estrutura química (Figura 2 C) (Choi, 2021).

**c) Corantes Nitro ou Nitrosos:** Essa classe de corantes possuem em sua estrutura um ou mais grupos nitro (-NO<sub>2</sub>) ou nitroso (-N=O) que são conjugados com doadores de elétrons em um sistema aromático (Figura 2 E, F). O grupo nitroso não apresenta propriedades de tingimento, porém, com a presença de compostos metálicos, conseguem formar pigmentos ou na presença de grupos hidrofílicos (Gurses *et al.*, 2016).

**d) Corantes Antraquinona:** Essa classe é representada por compostos com propriedades vantajosas como brilho e solidez. Constituem um dos corantes mais antigos, ocorrendo naturalmente, sendo encontrados em bactérias, fungos, plantas e líquens. Em sua estrutura química grupos carbonilas (-C=O) estão presentes, bem como a antraquinona junto a grupos auxiliares (Figura 2 B). São o maior grupo de

corantes carbonílicos, com vários compostos voltados para aplicação têxtil (Gurses *et al.*, 2016).

**e) Corante Ftalocianina:** Compostos dessa classe apresentam propriedades marcantes como flexibilidade arquitetônica e estabilidades, incluindo características espectroscópicas que despertam interesses nas áreas científicas e tecnológicas. A Ftalocianina apresenta compostos macrocíclicos aromáticos com um sistema de  $\pi$ -elétrons fortemente conjugados (Figura 2 E). Além disso, essa classe forma complexos com os metais Cobre (Cu), Ferro (Fe), Silício (Si), Germânio (Ge) e Arsênio (As), que conferem intensidade na cor junto com outros elementos e são utilizados em vários corantes (Sandhya, 2010; Gürses *et al.*, 2016).

### 2.1.2.2 CLASSIFICAÇÃO DOS CORANTES DE ACORDO COM MÉTODO DE APLICAÇÃO

Os corantes também são classificados de acordo com a carga em sua base química ao sofrer dissolução em meio aquoso, sendo agrupados em catiônicos: corantes básicos; aniônicos: corantes diretos, ácidos e reativos; não-aniônicos: corantes dispersos, cuba, enxofre (Tabela 1) (Yagub *et al.*, 2014).

**Tabela 1** - Classificação de corantes quanto a sua carga iônica.

Classe de Corante	Tipos químicos	Aplicação
<b>Corante catiônico</b>		
Básico	Hemicianina, azo, cianina, diazahemicianina, difenilmetano, azina, acridina, antraquinona e oxazina.	São aplicados em fibras, papel e tintas sintéticas. São solúveis em solventes orgânicos, mas pouco em água.
<b>Corantes aniônicos</b>		
Ácido	Antraquinona, xanteno, azo, nitro e trifenilmetano.	São hidrossolúveis, e aplicados no tingimento de seda, papel, couro e lã.
Direto	Ftalocianina, azo, oxazina e estilbeno, formazan, antraquinona.	Compostos solúveis em água e aplicados em algodão, fibras de celulose, viscose, papel,

couro e poliamidas.

Reativo	Antraquinona, formazan, ftalocianina, azo, oxazina e básica.	Utilizado no tingimento de fibras de algodão.
---------	--	---

---

#### Corantes não-aniônicos

---

Disperso	Benzodifuranona, azo, antraquinona, nitro e estiril.	Apresentam nenhuma solubilidade a grupos azo, antraquinona ou nitro. Sua aplicação é voltada para fibras hidrofóbicas como poliéster, nylon e fibras acrílicas.
Cuba	Indigóides e antraquinona.	Possuem afinidades com lã e viscose e com os substratos de origem vegetal, como celulose e algodão.
Sulfuroso	Estrutura química não definida.	São utilizados no tingimento de materiais celulósicos têxteis ou misturas de fibras celulósicas.

---

Fonte: Adaptado de Yagub e colaboradores (2014) e Benkhaya e colaboradores (2020) .

## 2.2 CORANTES AZO

Os corantes da classe azo são o maior grupo dentre os sintéticos, representando 80% da produção de corantes no mundo (Pinheiro *et al.*, 2022; Solís *et al.*, 2012). Os primeiros corantes azo foram produzidos em 1861, conhecido como *Aniline Yellow* e em 1863, o corante *Bismarck Brown* (Mani e Hameed, 2019). Esses compostos são substâncias hidrossolúveis, e sua estrutura química consiste em um ou mais grupos azo (-N=N-) ligados a um ou mais anéis aromáticos (Gurses *et al.*, 2016). Ademais, são agrupados de acordo com o número de ligações azo: corantes com apenas uma ligação nitrogênio-nitrogênio, são chamados de monoazo; diazo consistem de duas ligações (-N=N-), enquanto que o triazo e poliazo possuem três ligações (-N=N-) e mais de três ligações (-N=N-), respectivamente (Mani & Hameed, 2019). O padrão de classificação de corantes, segundo o *Colour Index*<sup>TM</sup>, publicado pela *Society of Dyers and Colourists* (SDC) e pela *American Association of Textile*

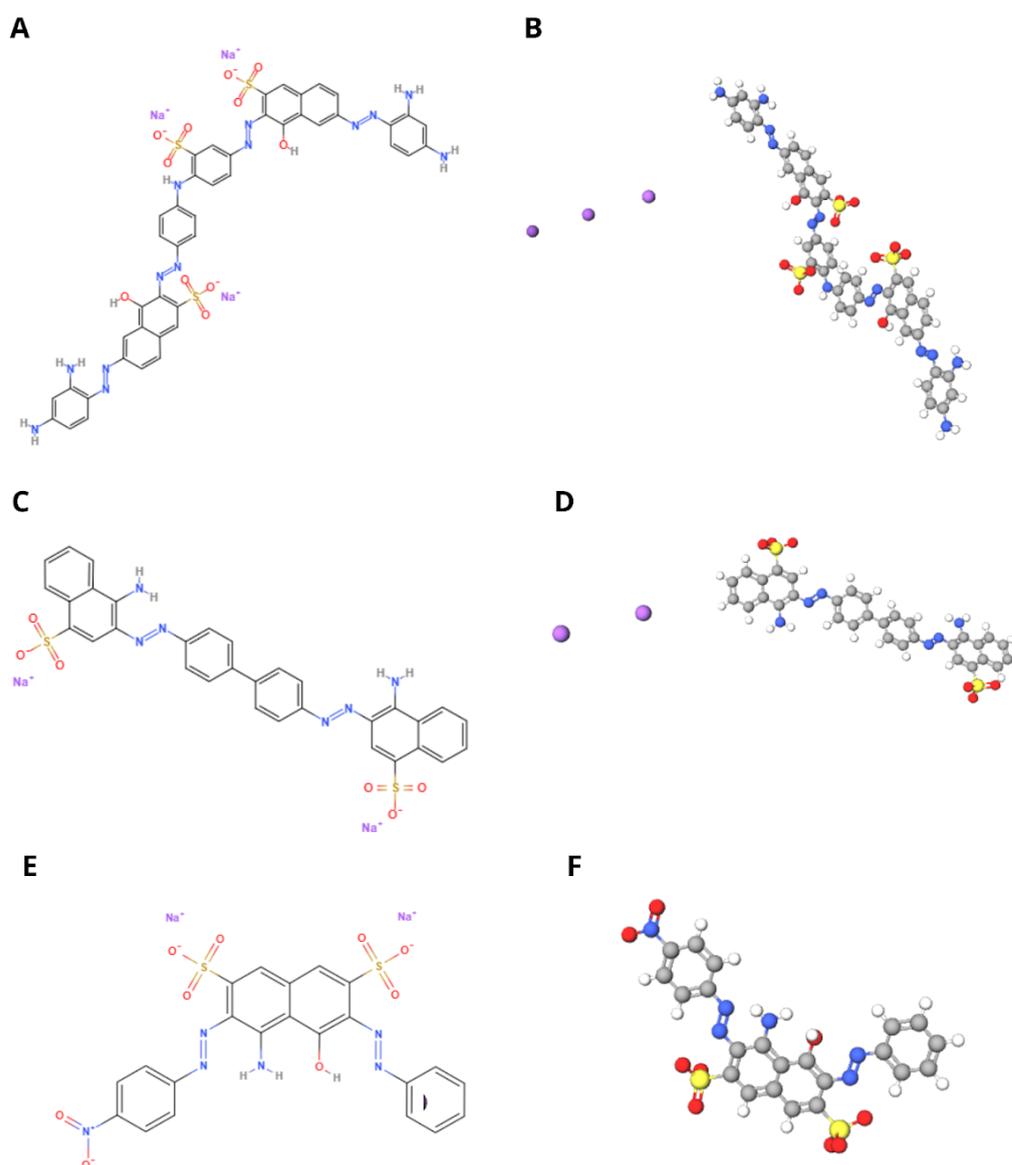
*Chemists and Colourists* (AATCC), fornece números que variam de 11.000 a 39.000 (*Constitution Range on Colour Index™*), para corantes azo, correspondendo a sua estrutura química (Sandhya, 2010; Benkhaya *et al.*, 2020).

Esses compostos não são produzidos naturalmente, sua produção é unicamente sintética, sendo bastante utilizados em diversos setores da indústria como couro, alimentos, papel e têxtil (Zafar *et al.*, 2022). Na indústria de alimentos, os corantes azo correspondem a cerca de 65% do mercado comercial de corantes. Alguns dos corantes comerciais utilizados na culinária: Tartrazina (E102), CI 19,140, amarelo sunset fcf (E110), CI 15,985, *Citrus Red 2* (E121), Carmoisine (E122) (Yamjala *et al.*, 2016).

### 2.2.1 CORANTE CONGO RED

O *Congo Red* é um corante diazo, possui duas ligações azo (-N=N-) ligados a anéis aromáticos (Figura 3 C), com fórmula molecular  $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$  e peso molecular de 698,68 (Khan *et al.*, 2022; Siddiqui *et al.*, 2023). É composto por um sal de sódio do ácido benzidinediazo-bis-1-naftilamina-4-sulfônico e é solúvel em água e solventes orgânicos (Howie e Brewer, 2009). Ainda, é classificado como corante aniônico que, ao se ionizar, doa um ânion para a solução (Fu e Viraraghavan, 2002). Em diferentes concentrações de pH, sua coloração e solubilidade podem variar, em pH 3 a coloração é azul e com o aumento do pH a cor torna-se vermelha (Oladoye *et al.*, 2022). Possui aplicações industriais como no tingimento de tecidos, borrachas, papel e plásticos. No entanto, a clivagem do *Congo Red* tem como produto a benzidina, uma amina aromática carcinógena e mutagênica humana (Asses *et al.*, 2018; Hamad e Saied, 2021). Devido a sua estrutura complexa, a degradação deste corante é um desafio nos tratamentos de biorremediação, o que revela a necessidade de estudos envolvendo processos biológicos para o tratamento desse corante.

**Figura 3-** Estrutura molecular do corante e a esquerda sua forma 3D: *Direct Black 22* (A - B), *Congo Red* (C - D) e *Amido Black* (E - F).



Fonte: Autoria própria.

### 2.2.2 CORANTE *DIRECT BLACK 22*

O *Direct Black 22* é um corante tetra-azo com fórmula molecular  $C_{44}H_{32}N_{13}Na_3O_{11}S_3$  e peso molecular de  $1.083,97 \text{ g mol}^{-1}$  (Figura 3 A) (Menezes *et al.*, 2019). A clivagem deste corante libera aminas aromáticas à base de benzeno e naftaleno, que são altamente tóxicas, podendo causar danos à estrutura do DNA (Ferraz *et al.*, 2011). Esse corante é amplamente utilizado no Polo têxtil do Agreste de Pernambuco, tendo aplicações no tingimento de fibras celulósicas como algodão, lã, viscose, raiom e papel (Alexandre *et al.*, 2020).

### 2.2.3 CORANTE *AMIDO BLACK*

*Amido Black* é classificado como um corante diazo, aniônico de natureza ácida, de aparência cor azul escura (Figura 3 E) (Ojha e Bulasara, 2014; Penha *et al.*, 2021). Esse corante apresenta uma vasta aplicabilidade, sendo usado para coloração de proteínas, fibras naturais e sintéticas, bem como nas indústrias de tintas e plásticos (Mittal *et al.*, 2012). Entretanto, devido ao seu grupo azóico, seu descarte no meio ambiente é altamente tóxico, sendo considerado mutagênico e conseqüentemente, um desafio nos tratamentos de corantes têxteis.

#### 2.2.4 SÍNTESE DE CORANTES AZO

A síntese de corantes azo compreende o processo de diazotação seguida por uma reação de acoplamento. A diazotação consiste na formação de sais diazóicos que são formados através da diazotação de aminas aromáticas primárias que reagem com o nitrito de sódio, preparados em meio ácido a 0°C de forma a minimizar o contato com o meio aquoso para produzir fenol. O sal diazônio formado reage como um eletrófilo junto a um componente de acoplamento rico em elétrons, podendo este ser um fenol ou anilina, através de um mecanismo de substituição aromática eletrofilica (Al-Rubaie e Mhessn, 2012; Baptista, 2018).

Neste mecanismo, a substituição ocorre direcionando o grupo diazônio no sítio ativo *para*, se este estiver livre. Caso esta posição esteja ocupada, o grupo é direcionado para a posição *orto*. Embora esta seja a principal reação de formação de corantes azo, existem outros métodos como: redução de derivados nitroaromáticos em meio alcalino, redução de compostos nitroso por hidreto de alumínio e lítio (AlLiH<sub>4</sub>), oxidação de aminas primárias por permanganato de potássio, entre outros (Benkhaya *et al.*, 2020).

#### 2.2.5 TOXICIDADE DE CORANTES AZO

A produção anual de azo corantes corresponde a aproximadamente 9x10<sup>6</sup> toneladas ao ano, e sua liberação a partir de efluente varia entre 7x10<sup>5</sup> e 4,5x10<sup>6</sup> toneladas ao ano (Sheam *et al.*, 2021). Mesmo com uma ampla aplicação industrial, os efeitos de sua liberação em corpos d'água revelam inúmeras conseqüências para a biota aquática e outras formas de vida (Sun *et al.*, 2023).

A indústria têxtil é a principal contribuinte para a contaminação de ambientes aquáticos, uma vez que os azo corantes são de difícil degradação por sua natureza xenobiótica, alta termoresistência e fotoestabilidade. A descarga imprópria desses corantes em ecossistemas hídricos afeta negativamente a concentração de oxigênio,

reduzindo a penetração dos raios luminosos, e dessa forma, a atividade fotossintética das algas, comprometendo as atividades biológicas dos organismos aquáticos (Gita *et al.*, 2017; Reck *et al.*, 2016). Da mesma forma, os corantes azo inibem a redução da demanda biológica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO) e do carbono orgânico total (COT) (Reck *et al.*, 2016).

As algas desempenham um papel crucial na produção primária, e a presença de corantes e seus metabólitos no ambiente gera inibição do seu desenvolvimento, prejudicando a manutenção da cadeia trófica e a reciclagem de nutrientes nos ecossistemas aquáticos. Corantes azo como o *Direct Red 2* e *Direct Blue 15*, e a liberação de suas aminas aromáticas, conseguem causar efeitos mutagênicos nos organismos aquáticos (Sharma *et al.*, 2021). Foi relatado ainda, que corantes azo conseguem reduzir a taxa de reprodução e alimentação por filtração e consumo de O<sub>2</sub> em crustáceos da espécie *Moina macrocopa* (Wong *et al.*, 2006).

Estudos relataram que os humanos estão expostos a corantes azo de diferentes maneiras. Os efeitos toxicológicos dos corantes apresentam severos riscos à saúde humana por provocar doenças como dermatite, perfuração do septo nasal e irritação do trato respiratório (Hossen *et al.*, 2019). Devido ao baixo custo e estabilidade (Reck *et al.*, 2016), esses corantes estão presente em produtos alimentícios e têxteis, e podem ser absorvidos pelo corpo através da respiração, alimentação e pele, sendo metabolizadas pela microbiota desses locais, como é o caso de bactérias da derme, que conseguem reduzir os corantes Vermelho de Metila e Laranja II, levando a exposição de suas aminas aromáticas, que são tóxicas ao organismo (Stingley *et al.*, 2009).

## **2.3 MÉTODOS DE TRATAMENTO DE AZO CORANTES**

### **2.3.1 TRATAMENTO POR MÉTODOS FÍSICOS E QUÍMICOS**

Devido aos efeitos deletérios dos corantes azo, diversos tratamentos têm sido desenvolvido e aplicados a fim de minimizar seus efeitos tóxicos. Dentre os tratamentos mais utilizados estão os físicos e químicos (Mani *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2020). Os tratamentos físicos incluem processos de separação de fases, por meio da centrifugação, filtração, membranas ou destilação. Enquanto que os tratamentos químicos aplicam compostos químicos que reagem com a solução de corantes (Mani *et al.*, 2019).

Na indústria têxtil, a forma de tratamento de efluentes mais adotada são os físicos e químicos, no qual se observa o processo de coagulação/floculação como um dos mais aplicados para a remoção da cor, contudo, por apresentar baixa eficiência e gerar grande quantidade de lodo, mostrou-se uma alternativa limitada (Holkar *et al.*, 2016). Dessa maneira, também emprega-se lodos ativados que conseguem tratar alguns contaminantes, mas apresentam ineficiência na remoção da cor, além de contribuir na produção de vários resíduos (Santos *et al.*, 2017).

Ainda que essas técnicas sejam bastante utilizadas e eficientes na aplicação, se mostram incapazes de resolver os efeitos da coloração nos efluentes, por apresentarem baixa especificidade e eficiência, são onerosos (alto custo energético, insumos e operação), além de gerar como produtos tóxicos o lodo. Diante desse cenário, pesquisas envolvendo alternativas biológicas como métodos de tratamento ecológico e sustentável têm sido desenvolvidas, buscando baixo custo, mais eficiência e com menos produção de subprodutos tóxicos e lodos (Molla e Khan, 2018; Lellis *et al.*, 2019)

### **2.3.2 TRATAMENTO POR MÉTODOS BIOLÓGICOS**

A remediação biológica ou biorremediação tem ganhado bastante atenção nas últimas décadas, visto que a utilização de tratamentos biológicos são mais sustentáveis, baratos e eficientes (Zafar *et al.*, 2022). O emprego de microrganismos para o tratamento de contaminantes como os corantes, mais conhecido como descoloração, pode ocorrer por degradação, acumulação e bio-sorção. Diversos fatores interferem na eficácia do tratamento, como a classe do corante, o microrganismo envolvido e características físico-químicas como pH, temperatura e salinidade (Solís *et al.*, 2012).

#### **I. Biodegradação de Corantes Azo**

A biodegradação, também conhecida como degradação biológica, integra o uso de microrganismos para decompor ou quebrar algum contaminante, no qual pode ser utilizado como fonte de carbono (Poznyak *et al.*, 2019). A aplicação de microrganismos para a degradação de corantes azo é uma alternativa bastante utilizada em processos de biorremediação para o tratamento de efluentes têxteis, por produzirem menos lodo que os sistemas físicos e químicos, além do baixo custo operacional (Solís *et al.*, 2012).

### 1. Enzimas associadas ao processo de biodegradação de azo corantes

A exploração de enzimas, como um catalisador biológico, para atuar na biorremediação tem sido o foco nos últimos anos. Dentre elas, enzimas lignolíticas, como a manganês peroxidase, lignina peroxidase e a lacase estão presentes em vários tipos de organismos, como bactérias, insetos e fungos (Suryadi *et al.*, 2022). Essas enzimas são conhecidas por apresentarem um alto potencial redox e por degradar substratos não específicos (Sosa-Martinez *et al.*, 2020). Dentre as principais enzimas, a lacase pertence a um pequeno grupo de enzimas denominadas de oxidases multicobre ou oxidases azuis, por possuir em seu sítio ativo quatro átomos de cobre (Cu) (Dorte, 2019). Sua reação catalítica envolve a oxidação de quatro moléculas de substrato e a redução do oxigênio molecular a duas moléculas de água (Falade *et al.*, 2018).

A produção de lacases por fungos é um dos principais métodos de biorremediação, por apresentarem um complexo enzimático capaz de degradar vários compostos (Bilal *et al.*, 2017). Essa enzima apresenta propriedades que a fazem um excelente agente biodegradante, como a capacidade de oxidar em amplos substratos, não requer cofatores e não precisa de oxigênio como acceptor de elétrons (Sreedharan e Bhaskara, 2019).

A vasta aplicabilidade da lacase, junto a sua fácil acessibilidade e suas propriedades químicas, resultou em um mercado de lacase com um tamanho de US \$3 milhões de dólares em 2021, um reflexo do seu potencial enzimático e versatilidade. Estima-se que até 2028, esse mercado chegará a US \$4 milhões de dólares, mostrando que a utilização da lacase possui um grande potencial industrial (Business Research Insights, 2022).

## II. Bioacumulação

A bioacumulação consiste em utilizar biomassa ativa de microrganismos para a remoção de produtos contaminantes como corantes sintéticos. Esse método inclui processos como biossorção, degradação enzimática, acúmulo intracelular e bioprecipitação por células vivas (Whiteley e Lee, 2006). O uso de células em crescimento é característico desse método biológico (Wang *et al.*, 2009), no qual o micróbio consegue acumular os materiais tóxicos e utilizá-los em seu próprio metabolismo (Subhadarsini e Dash, 2022). Ainda, esse processo depende do metabolismo celular, como a captação ativa que está atrelado às condições

necessárias para a biorremediação, como a disponibilidade de nutrientes, concentração do corante, pH, concentração salina e temperatura (Wang *et al.*, 2009; Mishra e Malik, 2013; Subhadarsini e Dash, 2022).

Esse processo é limitado pois o custo desse processo é alto e requer elementos obrigatórios como nutrientes e outros requisitos relacionados ao cultivo. Além disso, a taxa de absorção é considerada lenta, uma vez que a acumulação intracelular é demorada (Mishra e Malik, 2013). Bioacumulação utilizando fungos, inclui a necessidade de segregar a biomassa suspensa em meio aquoso, além de que os grânulos de micélio não apresentam força mecanicamente e variam de tamanho (Wang *et al.*, 2009).

### **III. Biossorção**

A biossorção é um dos mecanismos mais eficientes para a remoção de corantes e amplamente utilizado para eliminação de diferentes poluentes de águas residuais. Também conhecida como um processo passivo, é metabolicamente independente, e seu mecanismo ocorre na parede celular da biomassa viva ou morta de microrganismos como microalgas, bactérias e fungos (Aksu, 2005; Elgarahy *et al.*, 2021). A capacidade de biossorção de um microrganismo depende de componentes presentes na parede celular como heteropolissacarídeos, lipídeos e proteínas que oferecem grupos funcionais que permitem a interação com os corantes (Aksu, 2005; Srinivasan e Viraraghavan, 2010). Os grupos funcionais como amino, carboxila, hidroxila e fosfato, determinam a força da atração entre o corante azo e a superfície celular, sendo influenciados pelo pH do meio, mas é diminuída na presença de ácido sulfônico. A eficiência da adsorção pelo microrganismo é devido principalmente a mecanismos de troca iônica (Srinivasan e Viraraghavan, 2010; Elgarahy *et al.*, 2021).

A biomassa viva e morta é utilizada para a remoção de contaminantes por biossorção. No entanto, células mortas são bastante utilizadas, uma vez que os organismos inativados não são afetados por resíduos tóxicos, não dependem de condições ambientais ótimas e podem ser reutilizados por muitos ciclos. Além disso, podem ser usadas por longos períodos sob temperatura ambiente sem que ocorra deterioração. Conseguem acumular contaminantes na mesma ou em maior dimensão do que células em crescimento (Aksu, 2005; Sen *et al.*, 2016; Elgarahy *et al.*, 2021). Para a seleção do biossorbente, deve-se considerar sua disponibilidade,

viabilidade e biocompatibilidade, pois tais aspectos garantem um excelente potencial de descoloração (Elgarahy *et al.*, 2021). Fatores como pH, temperatura, tempo de contato, força iônica, concentração do adsorvente e do corante, o tipo de microrganismo e a estrutura do corante influenciam na excelência da absorção (Aksu, 2005).

O mecanismo de absorção utilizando uma matriz biológica, é um dos métodos mais eficientes para o tratamento de remoção de contaminantes como corantes devido ao baixo custo operacional, alta eficiência e seletividade (Ismail *et al.*, 2019), bastante vantajoso para o tratamento de água.

## **2.4 APLICAÇÃO DE FUNGOS PARA REMOÇÃO DE CORANTES**

A utilização de fungos para o tratamento de efluentes têxteis e remoção de corantes tem sido extensamente estudada e se mostrou eficiente. Os fungos são ótimos bioadsorventes por possuírem resistência mecânica e estabilidade química em diferentes condições de pH (Kapoor *et al.*, 2021). A aplicação de fungos filamentosos para a descoloração tem vantagens como o baixo custo operacional e a solubilização de substratos pelas suas enzimas oxidativas (Kaushik e Malik, 2009).

A biomassa fúngica pode ser usada como uma alternativa barata de bioadsorvente por apresentar grupos funcionais em sua superfície celular, que são responsáveis pela ligação das moléculas do corante (Kaushik e Malik, 2009; Khan *et al.*, 2022). O processo de adsorção de corantes depende do tipo de corante, como sua estrutura molecular, número e posição de grupos moleculares no corante (Przystaś *et al.*, 2018), além da concentração do corante que, em concentrações altas, a adsorção é diminuída (Silva *et al.*, 2018).

Os mecanismos de bioadsorção são influenciados pelas condições nutritivas. Sen *et al.* (2016) observou que em pH 3, a adsorção é aumentada devido às interações eletrostáticas entre as moléculas do adsorvato e a superfície do adsorvente. O pH constante pode aumentar o processo de descoloração (Sen *et al.*, 2016), uma vez que as forças iônicas do corante em solução e a carga elétrica da superfície celular do fungo dependem do pH da solução (Srinivasan *et al.*, 2010). A temperatura é outra condição importante para a descoloração, pois com o aumento da temperatura a energia cinética do corante também é aumentada, favorecendo assim a descoloração pela biomassa fúngica (Khan *et al.*, 2020).

Alguns métodos de pré-tratamentos sugerem poder aumentar a atividade de adsorção da biomassa. A autoclavagem é um método que ao romper a célula fúngica, expõe os potenciais locais de ligação para o corante, enquanto que a utilização de ácido possui a capacidade de modificar a superfície da biomassa, aumentando a atração entre a biomassa e o corante aniônico como o *Acid Blue 29* (Srinivasan *et al.*, 2010).

Os fungos do gênero *Aspergillus* demonstram ótima capacidade de descoloração de corantes utilizando a biossorção como método de remoção, por meio da sua biomassa viva ou morta. Diversas pesquisas envolvendo o uso de *Aspergillus* mostraram a eficiência desse fungo em degradar diferentes corantes (Tabela 2). A espécie *A. bombycis* FVP4 demonstrou eficiente capacidade em mineralizar o corante *Reactive Red 31* (RR31) (Lima *et al.*, 2018). *A. niger* a partir de seus grupos funcionais carboxila e amino, conseguiu adsorver o corante *Basic Blue 9*, enquanto na biossorção do *Congo Red*, seus grupos funcionais desempenharam importantes sítios de ligação (Sen *et al.*, 2016).

**Tabela 2** - Fungos do gênero *Aspergillus* aplicados na remoção de corantes têxteis.

Fungo	Corante Têxtil	Percentual de remoção	Tempo de contato	Referência
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Congo red</i>	82.23%	180 minutos	Abdel-Ghany e colaboradores, 2019
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Congo red</i>	97%	6 dias	Asses e colaboradores, 2018
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Reactive Black 5</i>	91%	2 horas	Alaguprathana e colaboradores, 2022
<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Direct Blue-1</i>	<b>98.4%</b>	168 horas	Singh e colaboradores, 2020
<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Methyl Red</i>	92.3%	5 dias	Hu e colaboradores, 2021
<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Reactive Red 198 (RR198)</i>	98.57%	50 minutos	Akar e colaboradores, 2009

Fonte: Autoria própria.

Dessa forma, a aplicação do gênero *Aspergillus* demonstra ser uma atraente alternativa na utilização de microrganismos como tratamento de efluentes provenientes das atividades industriais têxteis. Por conseguinte, o presente estudo buscou a aplicação experimental de fungos do gênero *Aspergillus* em processos de biorremediação para investigar a potencialidade na remoção de corantes azo.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 MICRORGANISMOS**

Os fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* foram obtidos da coleção da Micoteca UCP da Universidade Católica de Pernambuco (Unicap), Recife, Pernambuco, Brasil. As três cepas utilizadas: *Aspergillus sp.* UCP 1280, *Aspergillus sp.* UCP 1281, *Aspergillus sp.* UCP 1285, foram isoladas do solo da Caatinga e mantidas em meio de cultivo Ágar Batata Dextrose.

#### **3.2 REAGENTES**

O cultivo e manutenção das cepas UCP 1280, UCP 1281 e UCP 1285 foi realizado com os meios Ágar Batata Dextrose e o caldo glicosado, composto de 20g de glicose (g/L), 10g de extrato de carne (g/L) e 3g de peptona (g/L).

A preparação dos corantes e aplicação da biomassa para atividade de biorremediação foi realizada com: Hidróxido de sódio (NaOH), Ácido clorídrico (HCL), o surfactante Polisorbato 80 (*Tween 80*) e Cloreto de sódio (NaCl).

Para a análise do teste qualitativo, foram preparados os meios Ágar Batata Dextrose e 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (Sigma-Roche).

#### **3.3 PREPARAÇÃO DOS CORANTES**

Foram utilizados três corantes do tipo azo: *Direct Black 22* (CI 35435), *Congo Red* (CI 22120) e *Amido Black* (CI 20470) para as análises de descoloração. As soluções de corantes foram preparadas na concentração de 50 mg/L. O corante *Direct Black* foi preparado sob hidrólise, com o pH ajustado para 11,0 com a solução NaOH 20%, e então aquecido a 80°C por 1h em banho maria. Após o resfriamento, a solução do corante teve seu pH ajustado para 7,0 com HCL a 37%. Os corantes *Congo Red* e *Amido Black* não precisaram passar por processos de hidrólise,

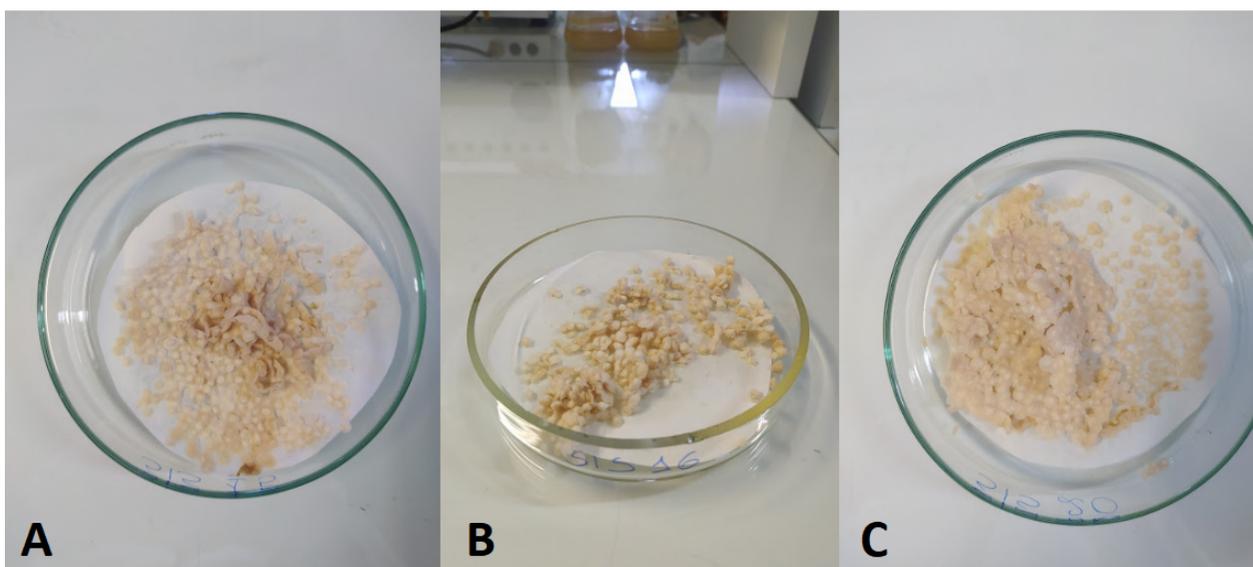
conforme testes anteriores, no entanto ambas as soluções tiveram o pH ajustado para 7,0 utilizando NaOH 20% e/ou HCL 37%.

### 3.4 PREPARAÇÃO DA BIOMASSA FÚNGICA

As três cepas testadas foram inoculadas em meio Ágar Batata Dextrose e incubados na (Biochemical Oxygen Demand) BOD por 7 dias. Após o tempo de crescimento, os esporos foram suspensos utilizando uma solução salina 0,9% contendo Tween 80. Os esporos foram padronizados para uma concentração de  $10^4$  em câmara de *Neubauer* e adicionado em 100 mL de meio glicosado em frascos *erlenmeyer* de 250 mL.

Os frascos foram colocados em agitador orbital a 120 RPM por 72 h, até a formação de *pellets* bem definidos. Em seguida, foram secos em bomba a vácuo para a obtenção da biomassa (Figura 4).

**Figura 4** - Biomassa (3g) dos fungos *Aspergillus sp.* UCP 1280 (A), *Aspergillus sp.* UCP 1281 (B) e *Aspergillus sp.* UCP 1285 (C), após filtração na bomba a vácuo.



Fonte: Autoria própria.

### 3.5 INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE BIOMASSA NA DESCOLORAÇÃO

Foram testadas 2 pesagens para a biomassa: 1g e 3g, a fim de medir a influência da quantidade de bioissorvente na descoloração. Utilizando a biomassa viva, 1g foi pesada e depositada em frascos *erlenmeyer* de 250ml contendo 100ml da solução dos corantes, e colocados em agitador orbital a 120 RPM por 3h. O mesmo procedimento foi aplicado para quantidade de 3g de biomassa.

### 3.6 PROCESSO DE DESCOLORAÇÃO DE CORANTES AZO POR *Aspergillus*

#### 3.6.1 ANÁLISE DO PROCESSO DE DESCOLORAÇÃO

Após a obtenção da biomassa viva de cada cepa, em frascos *erlenmeyers* de 250ml, foram aplicados 100ml dos corantes *Direct Black 22*, *Congo Red* e *Amido Black* a 50mg/L em triplicata, para 1g e 3g de biomassa, incluindo também triplicatas controle (não inoculadas). Ainda, os frascos foram colocados novamente em agitação 120RPM na mesa agitadora por 180 minutos, retirando-se alíquotas de 1ml a cada 30 minutos para análise espectrofotométrica.

As alíquotas foram centrifugadas a 10000 RPM durante 5 minutos, e o sobrenadante foi analisado através da espectrofotometria UV-VIS de onda simples no comprimento de onda máxima de cada corante: *Direct black 22* (475 nm), *Congo Red* (500 nm), *Amido black* (610 nm). O comprimento de onda máximo dos corantes foi determinado usando espectrofotômetro UV-VIS. Os resultados observados após o experimento foram obtidos segundo a fórmula :

$$\text{Descoloração (\%)} = (\text{Absorbância inicial} - \text{Absorbância observada}) / \text{Absorbância inicial} \times 100.$$

O processo de descoloração foi analisada através do espectro no comprimento de onda máximo. Ao final do experimento, observou a cepa que melhor descoloriu os corantes sob o critério comparativo de quantidade de biomassa.

#### 3.7 CURVA DE CALIBRAÇÃO DOS CORANTES

Para determinar a relação entre a absorvância e a concentração de corante após a descoloração, foi construída uma curva de calibração dos corantes, com concentrações de zero a 50 mg/L. As concentrações foram analisadas via espectrofotometria UV-VIS, de acordo com o comprimento de máxima absorvância de cada corante.

#### 3.8 CAPACIDADE DE DESSORÇÃO DOS CORANTES

A biomassa fúngica contendo os corantes do tratamento foi secada em bomba a vácuo e 1g de biomassa foi suspensa em 50 mL nos dessorvatos Dimetilsulfóxido (DMSO), Ácido acético e Bicarbonato de Sódio, em triplicata. Os reagentes DMSO e Ácido acético foram preparados a 1% de solução. Enquanto o Bicarbonato de Sódio foi utilizado a 0,1 M. As amostras foram colocadas em

agitação (120 RPM) por 120 minutos, com retirada de alíquotas de 1ml a cada 30 minutos para análise espectrofotométrica. Para a leitura, as amostras foram centrifugadas a 10000 RPM por 5 minutos, e a absorbância foi medida de acordo com o comprimento de onda máxima dos corantes tratados do sobrenadante.

A dessorção do corante foi calculada segundo a fórmula de El Messaoudi e colaboradores (2022):

$$\text{Dessorção \%} = (\text{Corante dessorvido (mg/L)}/\text{Corante adsorvido (mg/L)}) \times 100.$$

### **3.9 ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE ENZIMA LACASE PELAS CEPAS DE *Aspergillus***

A biodegradação, em geral, envolve a observação de enzimas lignolíticas, sobretudo a lacase. Assim, foi realizada uma análise qualitativa, seguindo a metodologia de Senthivelan e colaboradores (2019), para avaliar a produção de lacase pelas três cepas de *Aspergillus* testadas, utilizando como mediador o ABTS. As três cepas foram inoculadas em placas de *Petri* em meio Ágar Batata Dextrose contendo 3 mM de ABTS. Após o inóculo, as cepas foram colocadas na estufa BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) a 30 °C por 7 dias. A análise qualitativa foi observada através da formação de um halo verde azulado nas placas e o tamanho do halo medido com paquímetro.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 DESCOLORAÇÃO DE CORANTES AZO COM CEPAS DE *Aspergillus sp.***

Para a seleção dos fungos filamentosos com potencial de descoloração dos azo corantes *Congo Red*, *Direct Black 22* e *Amido Black*, foram testadas 3 cepas do gênero *Aspergillus*. As 3 cepas demonstraram impacto significativo na descoloração dos corantes em concentrações de 50mg/L, dentro de 180 minutos no agitador orbital a 120 RPM e 30°C de temperatura, sob variação de biomassa (1-3g). O corante azo mais facilmente transformável foi o *Congo Red*, enquanto que o mais resistente foi o *Amido Black*.

A máxima eficiência da descoloração do corante por fungos depende de parâmetros essenciais de processos (Ameen *et al.*, 2021). A concentração do pH é um dos fatores que implica na capacidade de adsorção, uma vez que influencia na interação entre o sítio de ligação da superfície do adsorvente e a ionização da

molécula do corante (Oladoye *et al.*, 2022). *Aspergillus sp. UCP 1281* e *Aspergillus sp. UCP 1285* foram as melhores cepas que descoloriram o corante *Congo Red* de forma mais eficiente, com 99,56% e 93,80%, respectivamente. De forma semelhante, Ameen e colaboradores (2021) também observaram maior taxa de remoção do *Congo Red* pelas cepas *A. flavus* (95,5%), *A. fumigatus* (92,0%), *A. niger* (92,3%) e *A. terreus* (95,5%). Abdelghany (2019), em seu estudo de descoloração utilizando biomassa morta de *A. fumigatus*, observou eficiência na descoloração com diferentes concentrações do *Congo Red* (10-70 mg/L), demonstrando que a taxa de adsorção aumenta quando o valor do pH aumenta, revelando valores de descoloração ótimos entre 6 e 7 de pH.

Já para os corantes *Direct Black 22* e *Amido Black*, embora as taxas de descoloração pelos fungos selecionados tenha sido inferior ao observado com o corante *Congo Red*, o processo de adsorção foi observado. Tais resultados podem ser explicados devido à relação entre a estrutura da molécula do corante e a superfície do micélio (Singh e Dwivedi, 2022).

Ainda, o tempo de contato entre o adsorvente e o adsorvato compreende um fator influenciável na taxa de descoloração dos corantes. De modo geral, a sorção inicia rapidamente com os grupos funcionais carregados do adsorvente disponíveis para interação com os íons dos corantes. Com a superfície do adsorvente ocupada pela interação entre seus grupos funcionais e as moléculas do adsorvato, a taxa de adsorção aumenta, e rapidamente alcança o valor máximo de descoloração (Hamad e Saied, 2021; Oladoye *et al.*, 2022). No presente estudo, o tempo máximo de descoloração apresentou variações para cada fungo (Tabela 3). *Aspergillus sp. UCP 1281* mostrou a porcentagem máxima de remoção em 90 minutos para os corantes *Congo Red* (99,56%), *Direct Black 22* (95,92%), e em 120 minutos para o *Amido Black* (60,01%), respectivamente. As cepas *Aspergillus sp. UCP 1280* e *Aspergillus sp. UCP 1285*, apresentaram taxa máxima de descoloração em 180 minutos para os corantes *Congo Red* (79,79%, 93,80%), *Direct Black 22* (72,55%, 73,88%) e *Amido Black* (39,24%, 30,51%), semelhante ao que foi demonstrado no experimento de Abdel-Ghany e colaboradores (2019), que observou maior taxa de descoloração do *Congo Red* em 180 minutos pelo fungo *Aspergillus fumigatus*.

**Tabela 3** - Descoloração dos azo corantes relacionado ao tempo de máxima descoloração.

Fungo	Corante	Tempo de maior descoloração (minutos)	Descoloração (%)
<i>Aspergillus sp.</i> UCP 1280	<i>Congo Red</i>	180	79,79
	<i>Direct Black 22</i>	180	72,55
	<i>Amido Black</i>	180	39,24
<i>Aspergillus sp.</i> UCP 1281	<i>Congo Red</i>	90	99,56
	<i>Direct Black 22</i>	90	95,92
	<i>Amido Black</i>	120	60,01
<i>Aspergillus sp.</i> UCP 1285	<i>Congo Red</i>	180	93,80
	<i>Direct Black 22</i>	180	73,88
	<i>Amido Black</i>	180	30,51

Fonte: Aatoria própria.

#### 4.2 INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DA BIOMASSA NO PROCESSO DE BIOSSORÇÃO DE CORANTES AZO

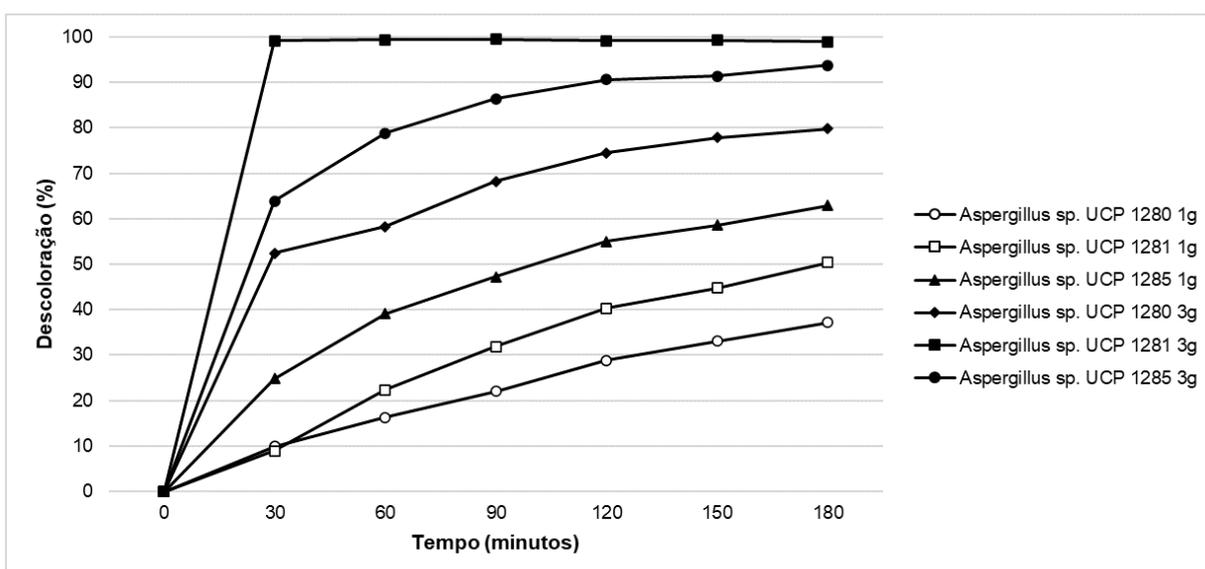
A biossorção por fungos do gênero *Aspergillus* foi amplamente estudada utilizando biomassa morta, por evitar a utilização de nutrientes e não responder à toxicidade dos corantes. Contudo, estudos recentes têm se voltado para utilização da biomassa viva envolvendo processos de descoloração de corantes azo, revelando maior eficiência.

A porcentagem de descoloração foi estudada com a biomassa viva, adicionando 1g e 3g de biomassa fúngica para remoção de solução corante a uma concentração de 50 mg/L. Os ensaios de descoloração contendo 1g de biomassa revelaram que os fungos foram capazes de descolorir entre 6 e 62,93% dos três corantes. E que em todos os casos, o máximo descolorido ocorreu apenas com 180 minutos.

Para a descoloração com 1 g de biomassa do corante *Congo Red*, a melhor remoção foi alcançada com o fungo *Aspergillus sp.* UCP 1285, exibindo seu máximo de descoloração em 180 minutos com 62,93% (Figura 5). Já para os corantes *Direct Black 22* e *Amido Black*, utilizando 1 g de biomassa, as melhores taxas de remoção foram alcançadas com o fungo *Aspergillus sp.* UCP 1281, com uma descoloração de 40.85% e 11.22%, respectivamente.

A utilização de 3 g de micélio mostrou melhores resultados na taxa de remoção de todos os corantes. Bankole e colaboradores (2018), ao utilizar diferentes pesagens de biomassa (0,1g - 2g) do fungo filamentoso *Achaetomium strumarium* para remoção do corante *Acid Red 88*, também visualizou que a capacidade de remoção do corante (98,88%) aumentou com o aumento da dosagem de biomassa (2g). Isso ocorre porque a maior concentração de biomassa resulta em mais área de contato para bioissorção, e conseqüentemente, numa concentração maior de grupos funcionais para realizar a remoção do corante. Essa descoloração ocorre até alcançar um valor constante de remoção, quando a bioissorção é diminuída, visto que os sítios ativos da superfície do adsorvente alcançam a saturação, levando a uma repulsão eletrostática entre as moléculas do corante e o adsorvente (Oladoye *et al.*, 2022).

**Figura 5** - Descoloração do corante *Congo Red* (50 mg/L) por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* com variação de biomassa.

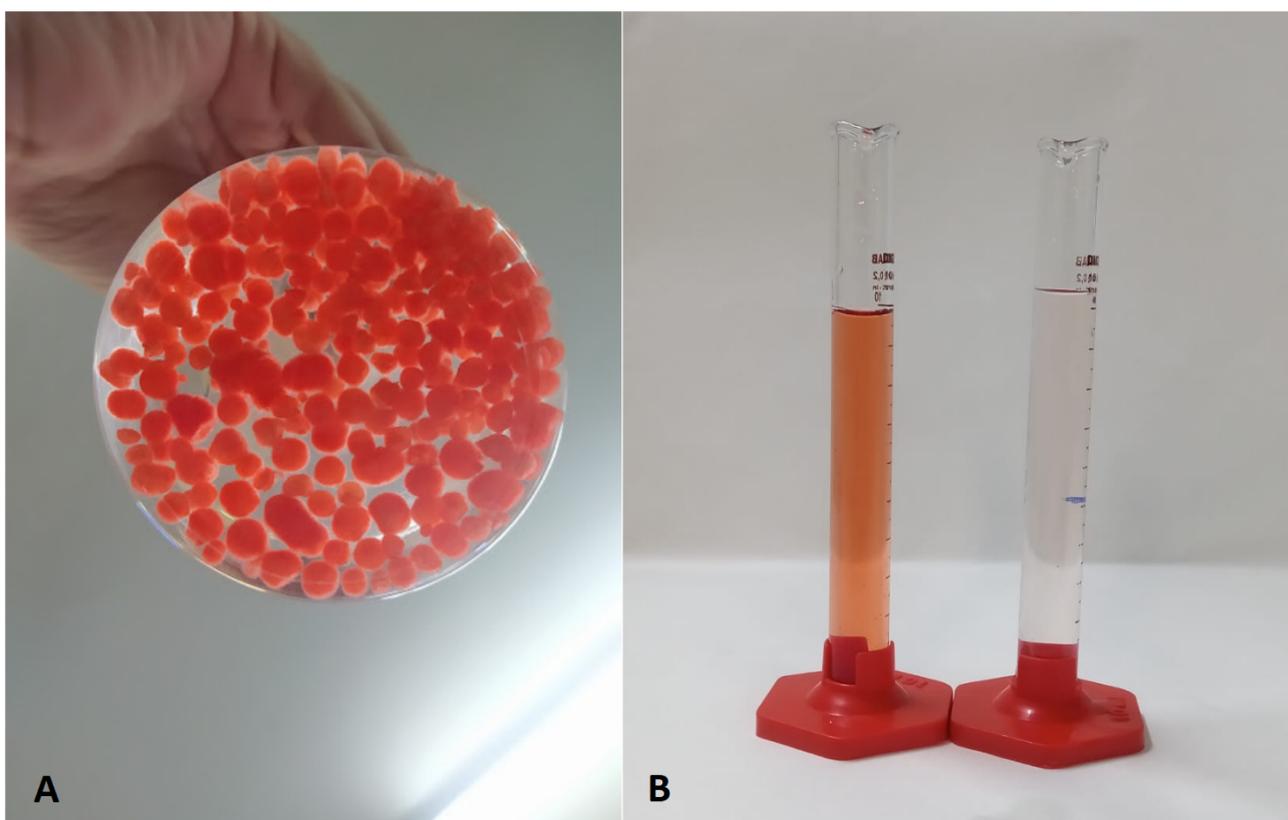


Fonte: Autoria própria.

Para o *Congo Red*, utilizando 3 g de biomassa, a porcentagem de descoloração pela cepa *Aspergillus sp.* UCP 1281 apresentou uma taxa de remoção de 99,56% (Figura 5). Enquanto que os fungos *Aspergillus sp.* UCP 1280 e *Aspergillus sp.* UCP 1285, descoloriram 79,79% e 93,80%, respectivamente, da solução corante (Figura 5). Ao analisar a descoloração do corante com 3 g de micélio da cepa *Aspergillus sp.* UCP 1281, fica claro que o fungo consegue descolorir o corante de forma eficiente (Figura 6) e em menos tempo de descoloração quando comparado às outras cepas. Skanda e colaboradores (2021)

também pontuaram a eficiência de cepas de *Aspergillus* na biossorção de *Congo Red*, utilizando 3 g de biomassa do fungo *Aspergillus arcoverdensis* SSSIHL - 01, reconhecida como a melhor quantidade de adsorvente, para descoloração do corante a 100 mg/L, chegando a descolorir 95,36% do corante após 48 h, o que indica que esses fungos podem remover concentrações maiores de corante.

**Figura 6** - Descoloração do *Congo Red* por fungo *Aspergillus sp.* UCP 1281 após 180 minutos de experimento. Na foto A, observa-se a adsorção do corante pela superfície do micélio com 3g de biomassa. A foto B, comparação da solução do corante controle (a esquerda) e o tratado (direita).

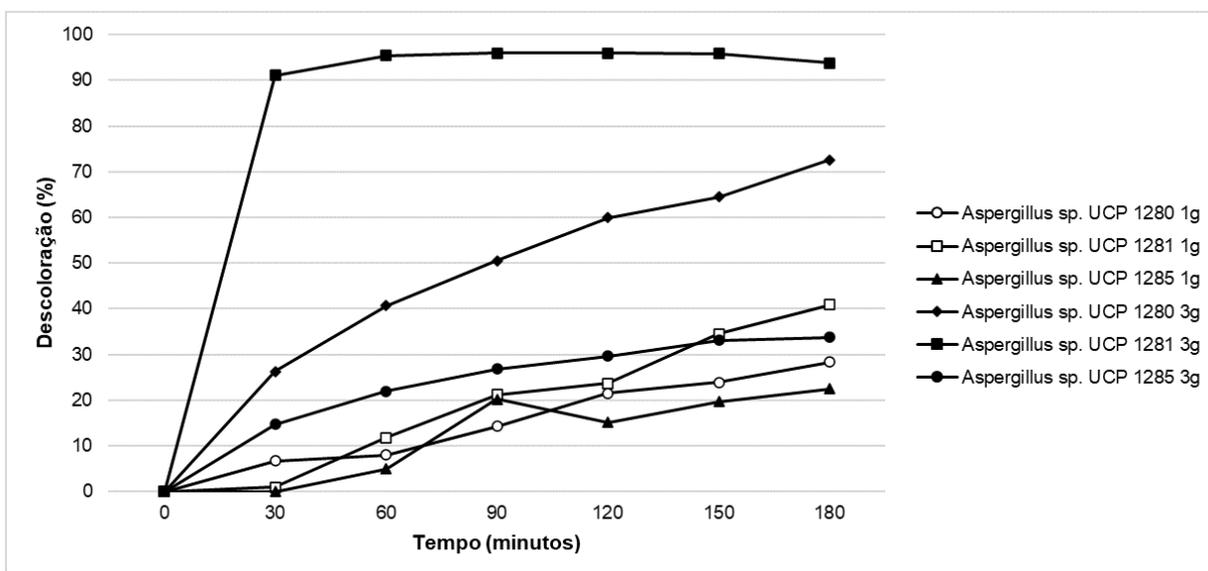


Fonte: Autoria própria.

Na descoloração com 3 g de biomassa do corante *Direct Black 22*, a cepa *Aspergillus sp.* UCP 1281 mostrou a maior capacidade de remoção (95,92%) (Figura 7). Em contraste, os fungos *Aspergillus sp.* UCP 1280 e *Aspergillus sp.* UCP 1285, descoloriram 72,55% e 73,88%, respectivamente. Apesar do *Aspergillus sp.* 1281 apresentar taxa de descoloração elevada comparada às outras cepas, foi menos eficiente que na descoloração do *Congo Red*. Esse comportamento pode estar atrelado a molécula do corante que, por apresentar em sua estrutura quatro grupos azos requer 16 mmol de elétrons, sendo 4 para cada ligação azo, para descolorir 1

mmol do corante, que equivale a uma energia alta de descoloração segundo Menezes e colaboradores (2019).

**Figura 7** - Descoloração do corante *Direct Black 22* (50 mg/L) por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* com variação de biomassa.

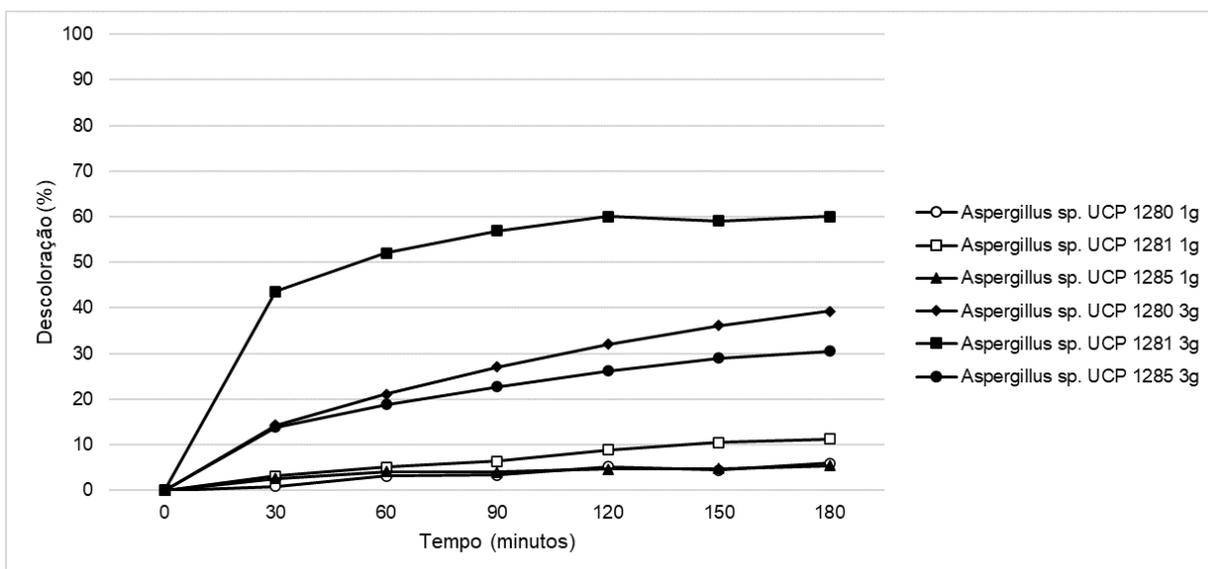


Fonte: Autoria própria.

Já a capacidade adsortiva das 3 cepas de *Aspergillus* para a remoção do *Amido Black*, aumentou com a adição de 3 g de biomassa, em que foi observada remoção máxima da solução nas taxas de 39,24%, 60,01% e 30,51% para os fungos *Aspergillus sp.* UCP 1280, *Aspergillus sp.* UCP 1281 e *Aspergillus sp.* UCP 1285, respectivamente. A partir dessa análise, o fungo *Aspergillus sp.* UCP 1281 foi considerado o melhor fungo descolorante desse corante.

No entanto, mesmo observado um aumento na taxa de adsorção utilizando 3 g de biomassa, a porcentagem de remoção desse corante pelos fungos foi considerada baixa. Estudos demonstram que a alta concentração do corante diminui sua descoloração. De forma similar, Raja e colaboradores (2016), demonstraram que na presença de 5 mg do corante *Amido Black*, os fungos *Micromonospora sp* (KPMS1) (88%), *Streptomyces sp* (KPMS2) (57%) e *Micropolyspora sp* (KPMS4) (76%) alcançam maiores taxas de descoloração quando comparado a 10 - 100 mg de concentração do corante. Tal diferença pode estar atrelada a conformação do corante, por apresentar em sua estrutura o Naftol, um composto considerado de difícil remoção (Pinhati *et al.*, 2014).

**Figura 8** - Descoloração do corante *Amido Black* (50 mg/L) por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* com variação de biomassa.



Fonte: Autoria própria.

A cepa que melhor descoloriu os 3 corantes foi *Aspergillus sp.* UCP 1281, e o corante mais facilmente removido foi o *Congo Red*, com variação de descoloração de 99,21% a 99,56%. O corante *Direct Black 22* apresentou uma variação de descoloração de 91,07% a 95,92%. Em contraste, o corante *Amido Black* foi o mais resistente, com variação de descoloração de 43,61% a 60,01%.

Em todos os casos é possível ver uma descoloração exponencial dos corantes e nenhum dos experimentos atingiu o equilíbrio, o que demonstra que 180 minutos não foram suficientes para observar a cinética de descoloração. Apesar disso, foi possível determinar que o aumento para 3 g de biomassa demonstrou ser mais eficiente para a remoção desses corantes. Sendo assim, o presente estudo considerou a utilização de 3 g de biomassa como ótima para a descoloração dos azo corantes utilizados.

### 4.3 CAPACIDADE DE DESSORÇÃO E REUTILIZAÇÃO DA BIOMASSA

A adsorção é um processo bastante empregado na biorremediação por apresentar eficiência na remoção de corantes têxteis. No entanto, o descarte do adsorvente é bastante poluente para o meio ambiente, devido a presença de compostos tóxicos do material adsorvido em sua superfície. Sabendo disso, métodos de dessorção têm sido utilizados na biorremediação para a regeneração e reutilização dos adsorventes. A reação de dessorção trata-se da inversão da adsorção, no qual o eluente consegue remover o corante da superfície do adsorvente (Vakili *et al.*, 2017; Messaoudi *et al.*, 2022).

O presente trabalho buscou avaliar o potencial de dessorção da biomassa fúngica saturadas com azo corantes, a fim de verificar a possibilidade de seu reuso como adsorvente para outros ciclos de adsorção de remoção de corantes. Para isso, foram utilizados diferentes agentes dessorventes de origem química, o Dimetilsulfóxido (DMSO), Ácido acético e Bicarbonato de Sódio.

Os resultados observados revelaram que o Ácido acético foi menos eficiente na remoção dos corantes *Congo Red*, *Direct Black 22* e *Amido Black*. Isso sugere que uma solução de pH ácido não induz a recuperação desses corantes, e não são agentes dessorventes adequados para os adsorventes utilizados (Alaguprathana *et al.*, 2022). No entanto, o uso do DMSO e do Bicarbonato de Sódio como dessorventes demonstrou uma recuperação dos 3 corantes adsorvidos pelas 3 cepas (Tabela 4). O eluente DMSO conseguiu recuperar 24,75% e 36,80% do *Amido Black* das cepas *Aspergillus sp.* UCP 1280 e *Aspergillus sp.* UCP 1285, respectivamente. Já o Bicarbonato de sódio, dessorveu o *Amido Black* (35,66%) e *Direct Black 22* (35,99%) do micélio fúngico *Aspergillus sp.* UCP 1280.

**Tabela 4** - Dessorção dos corantes *Congo Red*, *Direct Black 22* e *Amido Black* pelos eluentes Dimetilsulfóxido (DMSO), Ácido acético e Bicarbonato de Sódio.

Fungo	Corante	Corante adsorvido (mg/L)	Eluente	Corante dessorvido (mg/L)	Taxa de dessorção (%)
<i>Aspergillus sp.</i> UCP 1280	<i>Congo Red</i>	41,89	DMSO	2,88	6,87
			Ácido acético	2,34	5,58
			Bicarbonato de Sódio	2,76	6,58
	<i>Amido Black</i>		DMSO	4,66	24,75

			Ácido acético	0,00	0,00
			Bicarbonato de Sódio	6,72	35,66
	<i>Direct Black 22</i>		DMSO	5,06	15,29
			Ácido acético	5,48	16,54
		33,12	Bicarbonato de Sódio	11,92	35,99
<i>Aspergillus sp. UCP 1281</i>	<i>Congo Red</i>	48,68	DMSO	2,57	9,14
			Ácido acético	2,79	5,72
			Bicarbonato de Sódio	4,01	8,24
	<i>Amido Black</i>	28,12	DMSO	2,20	7,82
			Ácido acético	0,00	0,00
			Bicarbonato de Sódio	6,50	23,12
	<i>Direct Black 22</i>	47,16	DMSO	0,00	0,00
			Ácido acético	0,00	0,00
			Bicarbonato de Sódio	8,24	17,46
<i>Aspergillus sp. UCP 1285</i>	<i>Congo Red</i>	49,33	DMSO	2,80	5,68
			Ácido acético	2,76	5,59
			Bicarbonato de Sódio	3,35	6,78
	<i>Amido Black</i>	14,65	DMSO	5,39	36,80
			Ácido acético	0,00	0,00
			Bicarbonato de Sódio	3,55	24,25
	<i>Direct Black 22</i>	33,55	DMSO	0,00	0,00
			Ácido acético	1,49	4,44
			Bicarbonato de Sódio	12,55	37,41

Fonte: Autoria própria.

Resultado semelhante foi observado por Alaguprathana e colaboradores (2022), que conseguiram recuperar o corante *Reactive Black 5* da superfície do fungo *Aspergillus flavus* utilizando  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 0,1M como eluente (89%). Bhatti e

colaboradores (2020) relataram que o NaOH a 0,1 M serviu como agente eficaz na dessorção do *Reactive Black 5* da superfície do fungo *Aspergillus foetidus* (90%). Em todos esses casos os eluentes tem pH na faixa alcalina, inclusive no presente estudo, o DMSO puro apresenta pH entre 9-10, e o Bicarbonato de sódio pH 8, enquanto o NaOH e o Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> apresentam pH 14 e 10-11, respectivamente. Assim, há um indicativo que a biomassa dos fungos tem maior carga básica, enquanto os corantes tratados são ácidos. Assim, o fato das soluções corantes, desse estudo, terem sido padronizadas para pH 7, pode ter interferido na porcentagem de adsorção, e conseqüentemente de dessorção. Isso pode ser explicado pelo mecanismo de troca iônica, visto que a solução alcalina do pH causa repulsão eletrostática entre os locais carregados negativamente da biomassa fúngica e do corante aniônico, levando assim a eluição do corante (Alaguprathana *et al.*, 2022; Vakili *et al.*, 2019).

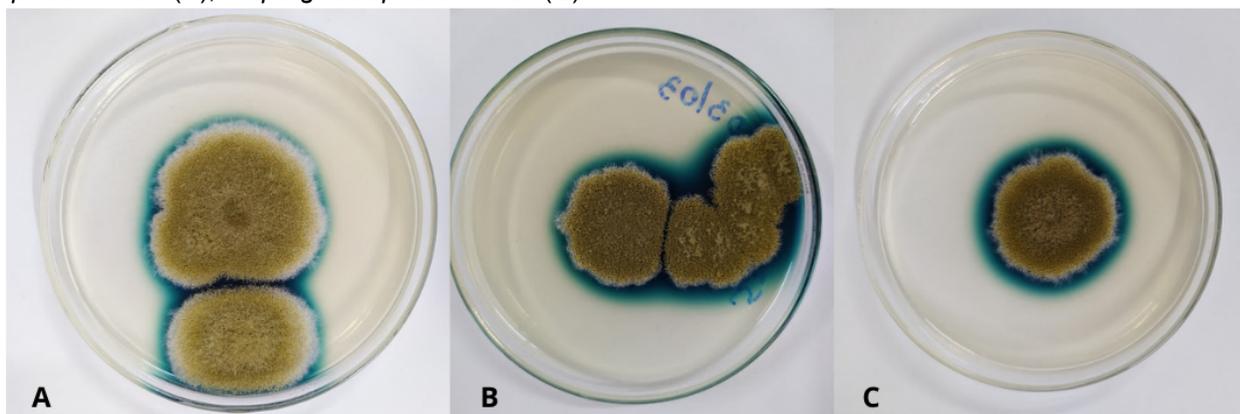
Diante dos resultados, os 3 fungos conseguiram ser dessorvidos, indicando que podem ser reutilizados. No entanto, estudos posteriores de variação de pH e aplicação de eluentes mais básicos devem ser realizados. Além de estudos com aplicação da biomassa após dessorção, com o intuito de verificar a potencialidade de reutilização da biomassa desses fungos para remoção de azo corantes.

#### **4.4 POTENCIAL DE BIODEGRADAÇÃO PELA PRODUÇÃO DE ENZIMA LACASE**

O potencial de biodegradação foi observado pela presença da produção da enzima lacase, através da formação de um halo verde azulado nas placas nas quais as cepas foram inoculadas (Figura 9). Todas as cepas utilizadas apresentaram produção da lacase, um indicativo de que conseguem realizar degradação enzimática de corantes. A formação do halo pelas cepas *Aspergillus sp.* UCP 1280, *Aspergillus sp.* UCP 1281 e *Aspergillus sp.* UCP 1285 apresentaram as seguintes medidas 52,3 mm, 42,0 mm e 45,2 mm, respectivamente. De forma semelhante, Góralczyk-Bińkowska e colaboradores (2020), ao empregar as cepas IM 6443, IM 6467 e IM 6482 do fungo *Nectriella pironii* para a formação do halo, realizaram a medição da colônia de 22 mm, 45 mm e 20 mm, respectivamente. Nesse estudo, os autores consideraram que o halo apresentou alta oxidação. Apesar disso, a formação do halo do presente trabalho demonstrou ser superior.

Demais estudos envolvendo fungos do gênero *Aspergillus* apontam sua eficiência na biodegradação de azo corantes, como na pesquisa de Almeida e Corso (2014) que observou a degradação utilizando *A. terreus* na descoloração do corante *Procion Red* MX-5B (200 µg/mL) após 336h de tratamento (98%). Sheam e colaboradores (2021) ao empregar seis cepas de *Aspergillus salinarus* para degradação do corante *Reactive Red* HE7B (50 mg/L), observaram que o fungo foi capaz de degradar até 97,41% do corante. Portanto, estudos envolvendo biodegradação com as cepas do presente trabalho devem ser estimulados, a fim de avaliar seu potencial de biodegradação.

**Figura 9** - Formação de halo verde azulado pelas cepas *Aspergillus* sp. UCP 1280 (A), *Aspergillus* sp. UCP 1281 (B), *Aspergillus* sp. UCP 1285 (C).



Fonte: Autoria própria.

## 5. CONCLUSÃO

A busca por tratamentos ecologicamente corretos continua sendo necessária para o tratamento de efluentes têxteis, devido ao descarte desses produtos no meio ambiente. A biorremediação apresenta-se como alternativa eficiente e ecológica, utilizando microrganismos para o tratamento de azo corantes por meio de técnicas de biossorção e biodegradação. Neste trabalho, foi analisada a capacidade de fungos do gênero *Aspergillus* em descolorir os corantes *Congo Red*, *Direct Black 22* e *Amido Black* em solução aquosa sob agitação, demonstrando a eficiência da aplicação da biomassa como biossorvente de azo corantes.

Dentre os fungos analisados, *Aspergillus* sp. UCP 1281 foi a melhor cepa que descoloriu os três corantes eficientemente. Nesse estudo, ao final do experimento, foi observado maior eficiência na remoção dos corantes utilizando 3g de biomassa do que 1g. Para os três corantes adsorvidos pela biomassa fúngica no presente

estudo, os agentes dessortivos DMSO e Bicarbonato de Sódio demonstraram eficiência na recuperação dos corantes. Além disso, os fungos aqui aplicados demonstraram potencial para degradar os corantes, pelo indicativo de produção da enzima oxidativa lacase. Portanto, a metodologia utilizada neste trabalho, se mostrou uma eficiente alternativa para o processo de tratamento de efluentes têxteis a partir do emprego da biomassa fúngica como ferramenta biológica de remoção desses compostos contaminantes.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-GHANY, Tarek M. *et al.* Congo red biosorption with live and dead biomass of thermophilic *Aspergillus fumigatus*. **Egypt. J. Exp. Biol.(Bot.)**, v. 15, n. 1, p. 1-6, 2019.

ALEXANDRE, J. I. da S. *et al.* Sorption of the Direct Black 22 dye in alluvial soil. **Revista Ambiente & Água**, v. 15, 2020.

AKSU, Zümriye. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. **Process biochemistry**, v. 40, n. 3-4, p. 997-1026, 2005.

ALAGUPRATHANA, M. *et al.* Sodium hydroxide pre-treated *Aspergillus flavus* biomass for the removal of reactive black 5 and its toxicity evaluation. **Environmental Research**, v. 214, p. 113859, 2022.

ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, C. R. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*. **Chemosphere**, v. 112, p. 317-322, 2014.

AMEEN, Fuad *et al.* Decolorization of acid blue 29, disperse red 1 and congo red by different indigenous fungal strains. **Chemosphere**, v. 271, p. 129532, 2021.

ASSES, Nedra *et al.* Congo red decolorization and detoxification by *Aspergillus niger*: removal mechanisms and dye degradation pathway. **BioMed research international**, v. 2018, 2018.

BAFANA, A.; DEVI, S. S.; CHAKRABARTI, T. Azo dyes: past, present and the future. **Environmental Reviews**, v. 19, n. NA, p. 350-371, 2011.

BANKOLE, Paul O.; ADEKUNLE, Adedotun A.; GOVINDWAR, Sanjay P. Enhanced decolorization and biodegradation of acid red 88 dye by newly isolated fungus, *Achaetomium strumarium*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 2, p. 1589-1600, 2018.

BANKOLE, P. O.; ADEKUNLE, A. A.; GOVINDWAR, S. P. Demethylation and desulfonation of textile industry dye, Thiazole Yellow G by *Aspergillus niger* LAG. **Biotechnology Reports**, v. 23, p. e00327, 2019.

BENKHAYA, Said; M'RABET, Souad; EL HARFI, Ahmed. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. **Heliyon**, v. 6, n. 1, p. e03271, 2020.

BHATTI, Haq N. *et al.* Efficient removal of dyes using carboxymethyl cellulose/alginate/polyvinyl alcohol/rice husk composite: adsorption/desorption, kinetics and recycling studies. **International journal of biological macromolecules**, v. 150, p. 861-870, 2020.

BILAL, Muhammad *et al.* Immobilized ligninolytic enzymes: an innovative and environmental responsive technology to tackle dye-based industrial pollutants—a review. **Science of the Total Environment**, v. 576, p. 646-659, 2017.

Laccase market size, share, growth and industry analysis, by type (Fungi Source, Plants Source), By Application (Textile Industry, Food Industry, Pharmaceutical Industry, and Others) Regional Forecast To 2028. **Business Research Insights**, 2022. Disponível em:

<https://www.businessresearchinsights.com/market-reports/laccase-market-101221>.

Acesso em: 09 de Abril de 2023.

DE LIMA, Dênis P. *et al.* Fungal bioremediation of pollutant aromatic amines. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 11, p. 34-44, 2018.

EL-SIKAILY, Amany *et al.* Textile dyes xenobiotic and their harmful effect. **Nonconventional textile waste water treatment (A. El Nemr Ed.)**, Nova Science Publishers Inc., New York, USA, p. 31-64, 2012.

ELGARAHY, A. M. *et al.* A critical review of biosorption of dyes, heavy metals and metalloids from wastewater as an efficient and green process. **Cleaner Engineering and Technology**, v. 4, p. 100209, 2021.

DORTE, Renato Pinheiro. **Investigação de fungos ligninolíticos na produção de lacase utilizando lignina kraft e borra de café**. 2019. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2019.

FALADE, Ayodeji O. *et al.* Ligninolytic enzymes: Versatile biocatalysts for the elimination of endocrine-disrupting chemicals in wastewater. **MicrobiologyOpen**, v. 7, n. 6, p. e00722, 2018.

Ferraz, ER, *et al.* The azo dye Disperse Orange 1 induces DNA damage and cytotoxic effects but does not cause ecotoxic effects in *Daphnia similis* and *Vibrio fischeri*. **Journal of hazardous materials**, v. 192, n. 2, p. 628-633, 2011.

FU, Yuzhu; VIRARAGHAVAN, T. Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*. **Advances in Environmental Research**, v. 7, n. 1, p. 239-247, 2002.

GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA, A. *et al.* Laccase activity of the ascomycete fungus *Nectriella pironii* and innovative strategies for its production on leaf litter of an urban park. **PLoS one**, v. 15, n. 4, p. e0231453, 2020.

GITA, Samchetshabam; HUSSAN, Ajmal; CHOUDHURY, T. G. Impact of textile dyes waste on aquatic environments and its treatment. **Environ. Ecol**, v. 35, n. 3C, p. 2349-2353, 2017.

HAMAD, Mohammed TMH; SAIED, Mona SS. Kinetic studies of Congo red dye adsorption by immobilized *Aspergillus niger* on alginate. **Applied Water Science**, v. 11, p. 1-12, 2021.

HOLKAR, Chandrakant R. *et al.* A critical review on textile wastewater treatments: possible approaches. **Journal of environmental management**, v. 182, p. 351-366, 2016.

HOSSEN, Md Zobaidul *et al.* Biodegradation of reactive textile dye Novacron Super Black G by free cells of newly isolated *Alcaligenes faecalis* AZ26 and *Bacillus spp* obtained from textile effluents. **Heliyon**, v. 5, n. 7, p. e02068, 2019.

HOWIE, Alexander J.; BREWER, Douglas B. Optical properties of amyloid stained by Congo red: history and mechanisms. **Micron**, v. 40, n. 3, p. 285-301, 2009.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER *et al.* **Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures**. IARC Press, International Agency for Research on Cancer, 2010.

ISMAIL, Muhammad *et al.* Pollution, toxicity and carcinogenicity of organic dyes and their catalytic bio-remediation. **Current pharmaceutical design**, v. 25, n. 34, p. 3645-3663, 2019.

KANT, R. Textile dyeing industry an environmental hazard. **Natural Science**, v. 4, n. 1, p. 22-26, 2012.

KAPOOR, Riti Thapar *et al.* Exploiting microbial biomass in treating azo dyes contaminated wastewater: Mechanism of degradation and factors affecting microbial efficiency. **Journal of Water Process Engineering**, v. 43, p. 102255, 2021.

KAUSHIK, Prachi; MALIK, Anushree. Fungal dye decolourization: recent advances and future potential. **Environment international**, v. 35, n. 1, p. 127-141, 2009.

KHAN, Rana Rashad Mahmood *et al.* Biological and Photocatalytic Degradation of Congo Red, a Diazo Sulfonated Substituted Dye: a Review. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 233, n. 11, p. 468, 2022.

KUMAR, A. *et al.* Structure and properties of dyes and pigments. **Dyes and Pigments-Novel Applications and Waste Treatment**, p. 131, 2021.

LARAIB, Qandeel *et al.* Luffa cylindrica immobilized with *Aspergillus terreus* QMS-1: An efficient and cost-effective strategy for the removal of congo red using stirred tank reactor. **Polish Journal of Microbiology**, v. 69, n. 2, p. 193, 2020.

LELLIS, B. *et al.* Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. **Biotechnology Research and Innovation**, 2019.

MANI, Arunkumar; HAMEED, Sheik Abdulla Shahul. Improved bacterial-fungal consortium as an alternative approach for enhanced decolourisation and degradation of azo dyes: a review. **Nature Environment and Pollution Technology**, v. 18, n. 1, p. 49-64, 2019.

MANI, S.; CHOWDHARY, P.; BHARAGAVA, R. N. Textile wastewater dyes: toxicity profile and treatment approaches. In: **Emerging and Eco-Friendly Approaches for Waste Management**. Springer, Singapore, p. 219-244, 2019.

MITTAL, Alok; THAKUR, Vijay; GAJBE, Vibha. Adsorptive removal of toxic azo dye Amido Black 10B by hen feather. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 260-269, 2013.

MOLLA, A. H.; KHAN, H. I. Detoxification of textile effluent by fungal treatment and its performance in agronomic usages. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 11, p. 10820-10828, 2018.

OLADOYE, Peter Olusakin *et al.* Toxicity and decontamination strategies of Congo red dye. **Groundwater for Sustainable Development**, p. 100844, 2022.

OJHA, Amit Kumar; BULASARA, Vijaya Kumar. Adsorption characteristics of jackfruit leaf powder for the removal of Amido black 10B dye. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 34, n. 2, p. 461-470, 2015.

MENEZES, O. *et al.* Coupling intermittent micro-aeration to anaerobic digestion improves tetra-azo dye Direct Black 22 treatment in sequencing batch reactors. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 146, p. 369-378, 2019.

PINHATI, F. R. *et al.* Avaliação da eficiência de degradação de hidrocarbonetos aromáticos por bactérias provenientes de estação de tratamento de efluente de refinaria de petróleo. **Química Nova**, v. 37, p. 1269-1274, 2014.

PINHEIRO, Lucas Rafael Santana *et al.* Degradation of azo dyes: bacterial potential for bioremediation. **Sustainability**, v. 14, n. 3, p. 1510, 2022.

PAVLOVIĆ, J. *et al.* Color Stains on Paper: Fungal Pigments, Synthetic Dyes and Their Hypothetical Removal by Enzymatic Approaches. **Applied Sciences**, v. 12, n. 19, p. 9991, 2022.

POZNYAK, T. I.; CHAIREZ ORIA, I.; POZNYAK, A. S. Biodegradation. In: Ozonation and Biodegradation in Environmental Engineering. **Elsevier**, p. 353- 388, 2019.

PRZYSTAŚ, Wioletta; ZABŁOCKA-GODLEWSKA, Ewa; GRABIŃSKA-SOTA, Elżbieta. Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 285-295, 2018.

RAJA, M. Mohamed Mahroop *et al.* Studies on effect of marine actinomycetes on amido black (azo dye) decolorization. **J Chem Pharmac Res**, v. 8, n. 8, p. 640-644, 2016.

RANI, B. I. N. A. *et al.* Resolution to provide safe drinking water for sustainability of future perspectives. **Res J Chem Environ Sci**, v. 1, p. 50-54, 2013.

RATHER, L. J.; AKHTER, S.; HASSAN, Q. P. Bioremediation: green and sustainable technology for textile effluent treatment. **Sustainable Innovations in Textile Chemistry and Dyes**, p. 75-91, 2018.

RATHI, B. Senthil; KUMAR, P. Senthil. Sustainable approach on the biodegradation of azo dyes: a short review. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 33, p. 100578, 2022.

RECK, I. M.; PAIXÃO, R. M. Impactos ambientais dos corantes azo e tratamentos de remoção: uma revisão. **Uningá Review**, v. 28, n. 2, 2016.

SANDHYA, S. Biodegradation of Azo Dyes Under Anaerobic Condition: Role of Azoreductase. In: **Biodegradation of Azo Dyes**. Springer, Berlin, v. 9, p. 39–57, 2010.

SANTOS, E. M. A. *et al.* Anaerobic reactor type UASB conjunction with process Fenton to remove color and chemical oxygen demand textile industry of synthetic wastewater. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 2, p. 285-292, 2017.

SEN, Sudip Kumar *et al.* Fungal decolouration and degradation of azo dyes: a review. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 3, p. 112-133, 2016.

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

SENTHIVELAN, T. *et al.* Screening and production of a potential extracellular fungal laccase from *Penicillium chrysogenum*: media optimization by response surface methodology (RSM) and central composite rotatable design (CCRD). **Biotechnology Reports**, v. 23, p. e00344, 2019.

SIDDIQUI, S. I. *et al.* Investigation of Congo Red Toxicity towards Different Living Organisms: A Review. **Processes**, v. 11, n. 3, p. 807, 2023.

SILVA, R. L. A. *et al.* Fungi of Biotechnological Interest in the Decolouration of Textile Effluents. **Ann Biomed Technol Eng.** 1 (1), v. 1002, 2018.

SINGH, Garima; DWIVEDI, S. K. Mechanistic, adsorption kinetics and confirmatory study of Congo red dye removal by native fungus *Aspergillus niger*. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-19, 2022.

SINGH, Garima; DWIVEDI, S. K. Biosorptive and biodegradative mechanistic approach for the decolorization of Congo Red Dye by *Aspergillus* Species. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, p. 1-11, 2022.

SINGH, R. K. *et al.* Fungi as potential candidates for bioremediation. **Abatement of Environmental Pollutants**, p. 177-191, 2020.

SHANMUGAM, Sabarathinam *et al.* Bi-model cationic dye adsorption by native and surface-modified *Trichoderma asperellum* BPL MBT1 biomass: from fermentation waste to value-added biosorbent. **Chemosphere**, v. 277, p. 130311, 2021.

SHARMA, J.; SHARMA, S.; SONI, V.. Classification and impact of synthetic textile dyes on Aquatic Flora: A review. **Regional Studies in Marine Science**, v. 45, p. 101802, 2021.

SHEAM, M. M. *et al.* Mycoremediation of reactive red HE7B dye by *Aspergillus salinarus* isolated from textile effluents. **Current Research in Microbial Sciences**, v. 2, p. 100056, 2021.

SHI, Yaqi *et al.* Recent advances in the biodegradation of azo dyes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p. 1-18, 2021.

SKANDA, S. *et al.* Bioremoval capacity of recalcitrant azo dye Congo red by soil fungus *Aspergillus arcoverdensis* SSSIHL-01. **Bioremediation Journal**, p. 1-12, 2021.

SOLÍS, M. *et al.* Microbial decolouration of azo dyes: a review. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 1723-1748, 2012.

SOSA-MARTÍNEZ, J. D. *et al.* Synthetic dyes biodegradation by fungal ligninolytic enzymes: Process optimization, metabolites evaluation and toxicity assessment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123254, 2020.

SOCIETY OF DYERS AND COLOURISTS AND AMERICAN ASSOCIATION OF TEXTILE CHEMISTS AND COLORISTS - **COLOUR INDEX**™. Disponível em: <<https://colour-index.com/introduction-to-the-colour-index>>. Acesso em 09 de abr. 2023.

SUN, Su; LIU, Pengyang; ULLAH, Mati. Efficient Azo Dye Biodecolorization System Using Lignin-Co-Cultured White-Rot Fungus. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 91, 2023.

SURYADI, H. *et al.* Biodelignification of lignocellulose using ligninolytic enzymes from white-rot fungi. **Heliyon**, p. e08865, 2022.

SREEDHARAN, Veena; BHASKARA RAO, Kokati Venkata. Biodegradation of textile azo dyes. **Nanoscience and biotechnology for environmental applications**, p. 115-139, 2019.

SRINIVASAN, Asha; VIRARAGHAVAN, Thiruvenkatachari. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: a review. **Journal of environmental management**, v. 91, n. 10, p. 1915-1929, 2010.

VAKILI, Mohammadtaghi *et al.* Regeneration of chitosan-based adsorbents for eliminating dyes from aqueous solutions. **Separation & Purification Reviews**, v. 48, n. 1, p. 1-13, 2019.

WANG, Bae et al. Bioaccumulation of azo dye using immobilised beads of *Aspergillus fumigatus*. **International Journal of Environment and Pollution**, v. 37, n. 2-3, p. 327-338, 2009.

WHITELEY, C. G.; LEE, D.-J. Enzyme technology and biological remediation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, n. 3-4, p. 291-316, 2006.

ZAFAR, S.; BUKHARI, D. A.; REHMAN, A.I. Azo dyes degradation by microorganisms - An efficient and sustainable approach. **Saudi Journal of Biological Sciences**, p. 103437, 2022.