



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Escola Politécnica e Escola de Química
Programa de Engenharia Ambiental

Kerlency Maria Farias Santos

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LINHAGENS DE FUNGOS
FILAMENTOSOS ISOLADOS DA MATA ATLÂNTICA NA
BIODEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS E AVALIAÇÃO DOS
POSSÍVEIS EFEITOS DE TOXICIDADE

Rio de Janeiro

2025



Kerlency Maria Farias Santos

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LINHAGENS DE FUNGOS
FILAMENTOSOS ISOLADOS DA MATA ATLÂNTICA NA
BIODEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS E AVALIAÇÃO DOS
POSSÍVEIS EFEITOS DE TOXICIDADE

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica e Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadores: *Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto*
Rodrigo Pires do Nascimento

Rio de Janeiro
2025

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, Kerlency Maria Farias.

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LINHAGENS DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DA MATA ATLÂNTICA NA BIODEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS E AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS EFEITOS DE TOXICIDADE / Kerlency Maria Farias Santos. – 2025.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola Politécnica e Escola de Química, Programa de Engenharia Ambiental, Rio de Janeiro, 2025.

Orientador: Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto e Rodrigo Pires Nascimento

1. Corantes Azo. 2. Fungo filamentoso 3. Atividade enzimática. 4. Ecotoxicidade I. Couto, Maria Antonieta Peixoto Gimenes. Nascimento, Rodrigo Pires. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola Politécnica e Escola de Química. III. Potencial biotecnológico de linhagens de fungos filamentosos isolados da mata atlântica na biodegradação de corantes têxteis e avaliação dos possíveis efeitos de toxicidade/ Kerlency Maria Farias Santos.



POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LINHAGENS DE FUNGOS
FILAMENTOSOS ISOLADOS DA MATA ATLÂNTICA NA
BIODEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS E AVALIAÇÃO DOS
POSSÍVEIS EFEITOS DE TOXICIDADE

Kerlency Maria Farias Santos

Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto
Rodrigo Pires Nascimento

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica e Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovada pela Banca:

Documento assinado digitalmente
gov.br MARIA ANTONIETA PEIXOTO GIMENES COUTO
Data: 10/11/2025 11:56:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Presidente, Prof Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, Doutorado, UFRJ.

MARIA FERNANDA SANTOS
QUINTELA DA COSTA
NUNES:60352612720

Assinado por: MARIA FERNANDA SANTOS
QUINTELA DA COSTA NUNES:60352612720
Data: 2025-11-10 12:02:34 BRT

Prof. Maria Fernanda Santos Quintela da Costa Nunes, Doutorado, UFScar.

Documento assinado digitalmente
gov.br ELIANA FLAVIA CAMPORESE SERVULO
Data: 11/11/2025 21:24:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Eliana Flavia Camporese Servulo, Doutorado, UFRJ.

Prof. Ana Maria Mazotto de Almeida, Doutorado, UFRJ.

Rio de Janeiro
2025

Dedico esse trabalho a minha mãe, Alrivete Farias, que em nem um momento deixou de me incentivar e apoiar.

AGRADECIMENTOS

Em minha jornada acadêmica, atribulada mas gratificante, tive a sorte e o privilégio de ser cercada de tantas pessoas que estiveram ao meu lado em diferentes fases, e que às vezes mesmo sem saber me deram o abraço ou a palavra de apoio no momento em que mais precisei, e graças a todas essas pessoas pude chegar até aqui. Agradeço primeiramente à minha família, meus irmãos Ana Caroline e Nicolas, meus avós Valter e Aldenora, meus pais Marinaldo Gomes e Alrivete Farias, e demais familiares que torceram por mim e que foram meus pilares de apoio emocional desde a admissão no programa de mestrado até a finalização da dissertação. Agradeço em especial à minha mãe Alrivete Farias, que tanto me aconselhou e foi meu suporte mesmo à distância todas as vezes que pensei que concluir o programa de mestrado seria um sonho grande demais para alcançar, minha mãe é minha grande inspiração e espero um dia ser pelo menos metade da pessoa forte e incrível que ela é. Agradeço a todos os meus amigos de jornada de vida que me incentivaram em minhas pesquisas, e sempre estiveram prontamente dispostos a me ajudar, principalmente minha amiga Bianca Oliveira que foi minha grande dupla de todos os momentos tristes e felizes e com quem pude dividir o apartamento no meu período de estadia no Rio de Janeiro. Agradeço também aos meus amigos do laboratório LEPM Thais e Matheus, e principalmente a Ana Carolina que me ensinou e aconselhou tanto, e foi fundamental na etapa experimental da pesquisa. Agradeço também à professora Maria Antonieta e ao professor Rodrigo Pires pela disponibilidade e paciência em me orientar. Por fim, agradeço também à UFRJ e aos professores do PEA pela oportunidade, ensinamentos e apoio institucional.

“Aquilo que eu desconheço é a minha melhor parte, porque aquilo que eu ainda não sei é o meu território de renovação, é o terreno em que eu posso fazer de outro modo, em que eu posso crescer, me elevar. O que eu já sei é mera repetição.”

Clarice Lispector

RESUMO

SANTOS, Kerlency Maria Farias. POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LINHAGENS DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DA MATA ATLÂNTICA NA BIODERADUÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS E AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS EFEITOS DE TOXICIDADE. Orientadores: Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto e Rodrigo Pires do Nascimento. Rio de Janeiro, 2025. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Escola Politécnica e Escola de Química – UFRJ

As industriais têxteis ao lançarem seus efluentes nos corpos hídricos necessitam de tratamentos eficientes que garantam que os compostos tóxicos provenientes dos corantes utilizados não se tornem ainda mais tóxicos durante o processo de tratamento e não ofereçam risco ao ambiente e à saúde da população. Nesse cenário, o presente trabalho estuda o tratamento biológico de efluentes em presença de corantes têxteis utilizando os fungos filamentosos *Penicillium* (linhagens I05-01 e I13-07), *Trichoderma* (linhagem IS10-08) e *Aspergillus* (linhagem I05-06). Foram utilizados os corantes azo Direct Yellow 27, Reactive Black 5 e Alaranjado de Metila. A avaliação de descoloração em placa em meio batata por sete dias a 28°C nas concentrações de 50 e 100ppm indicou que as descolorações dos corantes Direct Yellow 27 e Reactive Black 5 se mostraram mais promissoras ao utilizar as linhagens I13-07 e I0-06. Foram realizados ensaios de descoloração de corantes em sistema submerso, tanto com as linhagens puras quanto em consórcio, em Erlenmeyers de capacidade de 500 mL, contendo 125 mL de caldo batata-dextrose, pH 5,5 suplementado com os corantes têxteis. Foi analisado o potencial tóxico dos meios tratados em testes com sementes de *Lactuca sativa* e *Phaseolus vulgaris*, e com o microcrustáceo *Daphnia similis*. Paralelamente avaliou-se a atividade enzimática das enzimas Lipase, Lacase e Manganês Peroxidase em diferentes condições. A linhagem I13-07 destacou-se por apresentar alto potencial para a descoloração dos corantes Reactive Black 5 e Direct Yellow 27, baixo potencial tóxico para as sementes e para o microcrustáceo utilizados no tratamento do corante Direct Yellow 27, e maior atividade enzimática na produção de Manganês Peroxidase, se mostrando uma linhagem de interessante potencial biotecnológico para desenvolvimento de estudos futuros.

Palavras- chave: Corantes Azo, Fungo filamentoso, Atividade Enzimática, Ecotoxicidade.

ABSTRACT

SANTOS, Kerlency Maria Farias. **BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF FILAMENTOUS FUNGI STRAINS ISOLATED FROM THE ATLANTIC FOREST IN THE BIODEGRADATION OF TEXTILE DYES AND EVALUATION OF POSSIBLE TOXICITY EFFECTS.** Advisors: Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto e Rodrigo Pires do Nascimento. Rio de Janeiro, 2025. Dissertation (Master's degree in Environmental Engineering) – Polytechnic school and School of chemistry– UFRJ

When textile industries discharge their effluents into water bodies, they require efficient treatments to ensure that the toxic compounds from the dyes used do not become even more toxic during the treatment process and do not pose a risk to the environment or public health. In this scenario, this work studies the biological treatment of effluents in the presence of textile dyes using the filamentous fungi *Penicillium* (strains I05-01 and I13-07), *Trichoderma* (strain IS10-08), and *Aspergillus* (strain I05-06). The azo dyes Direct Yellow 27, Reactive Black 5, and Methyl Orange were used. The evaluation of plate discoloration in potato medium for seven days at 28°C at concentrations of 50 and 100 ppm indicated that the discoloration of Direct Yellow 27 and Reactive Black 5 dyes was most promising when using lines I13-07 and I0-06. Dye discoloration tests were performed in a submerged system, both with pure lines and in consortia, in 500 mL Erlenmeyer flasks containing 125 mL of potato dextrose broth, pH 5.5, supplemented with textile dyes. The toxic potential of the treated media was analyzed in tests with *Lactuca sativa* and *Phaseolus vulgaris* seeds, and with the microcrustacean *Daphnia similis*. In parallel, the enzymatic activity of lipase, laccase, and manganese peroxidase enzymes was evaluated under different conditions. The I13-07 line stood out for presenting high potential for the biodiscoloration of the Reactive Black 5 and Direct Yellow 27 dyes, low toxic potential for the seeds and microcrustaceans used in the treatment of the Direct Yellow 27 dye, and greater enzymatic activity in the production of Manganese Peroxidase, showing itself to be a line with interesting biotechnological potential for the development of future studies.

Keywords: Azo dyes, Filamentous fungus, Enzymatic activity, Ecotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- CONSUMO MUNDIAL DE FIBRAS TÊXTEIS (MILHÕES DE TONELADAS) DE 1950 À 2021	21
FIGURA 2- DISTRIBUIÇÃO REGIONAL DA PRODUÇÃO BRASILEIRA	24
FIGURA 3- ESTRUTURA PRODUTIVA TÊXTIL E DE CONFECÇÕES	25
FIGURA 4- PRINCIPAIS OPERAÇÕES QUE ENVOLVEM O BENEFICIAMENTO TÊXTIL	27
FIGURA 5- ESTRUTURAS DOS CORANTES REACTIVE BLACK 5 (RB5), DIRECT YELLOW 27 (DY27) E ALARANJADO DE METILA	33
FIGURA 6- <i>LACTUCA SATIVA</i> (A), GERMINAÇÃO DE <i>LACTUCA SATIVA</i> (B) , <i>PHASEOLUS VULGARIS</i> (B), GERMINAÇÃO DE <i>PHASEOLUS VULGARIS</i> (D)	44
FIGURA 7- EXEMPLAR DE DAPHNIA SIMILIS COM 7 A 14 DIAS DE IDADE	45
FIGURA 8- CURVA DE CRESCIMENTO MICROBIANO	48
FIGURA 9- COMPARAÇÃO ENTRE AS ESTRUTURAS DE UM SEGMENTO DA MOLÉCULA DE LIGNINA E ALGUNS POLUENTES.	52
FIGURA 10- ESTRUTURA DA LACASE.....	54
FIGURA 11- CICLO CATALÍTICO DA PEROXIDASE DA LIGNINA (LiP)	56
FIGURA 12- CICLO CATALÍTICO PEROXIDASE DEPENDENTE DO MANGANÊS (MNP)	57
FIGURA 13- FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL	58
FIGURA 14- ESCALA ILUSTRATIVA PARA CLASSIFICAÇÃO DOS NÍVEIS DE DESCOLORAÇÃO.....	60
FIGURA 15- ESQUEMA DE CRESCIMENTO DO VEGETAL	64
FIGURA 16- ESQUEMA DO TESTE COM <i>LACTUCA SATIVA</i> E <i>PHASEOLUS VULGARIS</i>	65
FIGURA 17- CRESCIMENTO DAS LINHAGENS DE FUNGOS EM BDA APÓS SETE DIAS À 28°C	70
FIGURA 18- EVIDÊNCIA DO CRESCIMENTO CONJUNTO DAS LINHAGENS I05-06 E I13-07 EM MEIO BDA APÓS INCUBAÇÃO À 28°C / SETE DIAS	71
FIGURA 19- CURVA PADRÃO REACTIVE BLACK 5.....	71
FIGURA 20- CURVA PADRÃO DIRECT YELLOW 27	72
FIGURA 21- AVALIAÇÃO DO PERCENTUAL DE DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RB-5 NA CONCENTRAÇÃO DE 50 PPM	73
FIGURA 22- AVALIAÇÃO DO PERCENTUAL DE DESCOLORAÇÃO DO CORANTE RB5 A 100 PPM	74
FIGURA 23- DESCOLORAÇÃO DO REACTIVE BLACK A 50 PPM EM (A) CINCO DIAS (B) 10 DIAS E (C) 14 DIAS .	76
FIGURA 24- DESCOLORAÇÃO DO REACTIVE BLACK A 100 PPM EM (A) CINCO DIAS (B) 10 DIAS E (C) 14 DIAS	76
FIGURA 25- FUNGO I13-07 EM PROCESSO DE CULTIVO SUBMERSO NO 14º DIA A 100 PPM	78
FIGURA 26- FUNGO I05-06 EM PROCESSO DE CULTIVO SUBMERSO NO 14º DIA A 100 PPM	78
FIGURA 27- AVALIAÇÃO DO PERCENTUAL DE DESCOLORAÇÃO DO CORANTE DIRECT YELLOW 27 A 50 PPM..	80
FIGURA 28- AVALIAÇÃO DO PERCENTUAL DE DESCOLORAÇÃO DO CORANTE DIRECT YELLOW 27 A 100 PPM	81
FIGURA 29- DESCOLORAÇÃO DO DIRECT YELLOW 27 A 50 PPM EM (A) CINCO DIAS (B) 10 DIAS E (C) 14 DIAS	82
FIGURA 30- DESCOLORAÇÃO DO DIRECT YELLOW 27 A 100 PPM EM (A) CINCO DIAS (B) 10 DIAS E (C) 14 DIAS	82
FIGURA 31- FUNGO I05-06 EM PROCESSO DE CULTIVO SUBMERSO NO 14º DIA A 100 PPM	83

FIGURA 32- FUNGO I13-07 EM PROCESSO DE CULTIVO SUBMERSO NO 14º DIA A 100 PPM.....	83
FIGURA 33- CONSÓRCIO DE FUNGOS EM PROCESSO DE CULTIVO SUBMERSO NO 14º DIA A 100 PPM.....	84
FIGURA 34- ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA LACASE NO CORANTE REACTIVE BLACK 5 AO LONGO DE 14 DIAS DE CULTIVO SUBMERSO PARA AS CONCENTRAÇÕES DE 50 E 100 PPM.....	85
FIGURA 35- ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA LACASE NO CORANTE DIRECT YELLOW 27 ÀS CONCENTRAÇÕES DE 50 E 100 PPM EM 14 DIAS DE CULTIVO SUBMERSO	87
FIGURA 36- ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA MANGANÊS PEROXIDASE NO CORANTE REACTIVE BLACK 5 ÀS CONCENTRAÇÕES DE 50 E 100 PPM EM 14 DIAS DE CULTIVO SUBMERSO.....	89
FIGURA 37- ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA MANGANÊS PEROXIDASE NO CORANTE DIRECT YELLOW 27 ÀS CONCENTRAÇÕES DE 50 E 100 PPM EM 14 DIAS DE CULTIVO SUBMERSO.....	91
FIGURA 38- TAXA DE GERMINAÇÃO DO ALFACE EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM REACTIVE BLACK 5.....	93
FIGURA 39- CRESCIMENTO VEGETATIVO DO ALFACE EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM REACTIVE BLACK 5.....	94
FIGURA 40 - TAXA DE GERMINAÇÃO DO FEIJÃO EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM REACTIVE BLACK 5	95
FIGURA 41- CRESCIMENTO VEGETATIVO DO FEIJÃO EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM REACTIVE BLACK 5	96
FIGURA 42- TAXA DE GERMINAÇÃO DO FEIJÃO EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM DIRECT YELLOW 27	98
FIGURA 43- CRESCIMENTO VEGETATIVO DO ALFACE EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM DIRECT YELLOW 27	98
FIGURA 44- TAXA DE GERMINAÇÃO DO FEIJÃO EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM DIRECT YELLOW 27	100
FIGURA 45- CRESCIMENTO VEGETATIVO DO FEIJÃO EM AMOSTRAS CONTAMINADAS COM DIRECT YELLOW 27	101

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- DETERMINAÇÃO DO CRESCIMENTO DAS LINHAGENS FÚNGICAS (CM) NOS CORANTES DIRECT YELLOW, ALARANJADO DE METILA E REACTIVE BLACK 5, NAS CONCENTRAÇÕES DE 50 PPM E 100 PPM, AO FIM DE 7 E 14 DIAS.....	67
TABELA 2- RESULTADOS ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO DAS AMOSTRAS COM O CORANTE REACTIVE BLACK 5	102
TABELA 3- RESULTADOS ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO DAS AMOSTRAS COM O CORANTE DIRECT YELLOW	27104

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1- PRINCIPAIS PAÍSES EXPORTADORES 2021	22
QUADRO 2- CARACTERÍSTICAS DE ACORDO COM O GRUPO CROMÓFORO	31
QUADRO 3- CLASSIFICAÇÃO DOS CORANTES TÊXTEIS DE ACORDO COM O MÉTODO DE APLICAÇÃO NA FIBRA .	34
QUADRO 4- DEGRADAÇÃO DE CORANTES AZO UTILIZANDO BACTÉRIAS, FUNGOS E ENZIMAS.	40
QUADRO 5- PARÂMETROS PARA LANÇAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS.....	47
QUADRO 6- CLASSIFICAÇÃO DOS FUNGOS SEGUNDO A PODRIDÃO DA MADEIRA	50
QUADRO 7- DESCOLORAÇÃO DE CORANTES A 50 E 100 PPM	68

LISTA SIGLAS E ABREVIações

ABIQUM	Associação Brasileira da Indústria Química
ABIT	Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CNI	Confederação Nacional da Indústria
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
CV	Crescimento Vegetal
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DY27	Direct Yellow 27
FD	Fator de Diluição
FT	Fator de Toxicidade
IEMI	Inteligência de Mercado
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
Lac	Lacase
LEPM	Laboratório de Ecologia e Processos Microbianos
LiP	Lignina Peroxidase
MnP	Manganês Peroxidase
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
RB5	Reactive Black 5
TG	Taxa de Germinação
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 ESTRUTURAÇÃO DA DISSERTAÇÃO.....	19
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3 REVISÃO.....	21
3.1 INDÚSTRIA TÊXTIL	21
3.1.1 Mercado Global.....	21
3.1.2 Mercado brasileiro.....	23
3.2 DESCRIÇÃO DA CADEIA PRODUTIVA TÊXTIL	24
3.2.1 Fiação	26
3.2.2 Tecelagem	26
3.2.3 Beneficiamento/Acabamento.....	27
3.2.4 Confecções	28
3.3 CORANTES TÊXTEIS.....	28
3.3.1 Classificação dos corantes têxteis	29
3.4 EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL	36
3.5 TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL.....	37
3.6 TOXICIDADE DOS EFLUENTES TÊXTEIS COM CORANTE	41
3.6.1 Ensaio de toxicidade	42
3.7 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL.....	46
3.8 CRESCIMENTO MICROBIANO	47
3.8.1 Biodegradação e biodescoloração de corantes por fungos filamentosos	49

3.8.2 Enzimas envolvidas no processo de biodegradação	51
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
4.1 MICRORGANISMOS UTILIZADOS	58
4.2 SELEÇÃO DAS LINHAGENS FÚNGICAS DEGRADADORAS DE CORANTES	59
4.3 CULTIVO SUBMERSO	61
4.4 DETERMINAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE	62
4.5 ATIVIDADE ENZIMÁTICA	63
4.6 TESTE DE FITOTOXICIDADE EM <i>Lactuca sativa</i> E <i>Phaseolus vulgaris</i>	63
4.7 TESTE DE CITOTOXICIDADE EM <i>Daphnia similis</i>	65
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1 ANÁLISE QUALITATIVA DA BIODESCOLORAÇÃO DOS CORANTES EM PLACA	66
5.2 CRESCIMENTO EM PLACA TESTE DE INIBIÇÃO	70
5.3 DESCOLORAÇÃO DOS CORANTES EM MEIO SUBMERSO	71
5.3.1 Espectro de absorção dos corantes	71
5.3.2 Avaliação da descoloração dos corantes.....	72
5.4 ATIVIDADE ENZIMÁTICA	84
5.4.1 Lacase.....	84
5.4.2 Lignina Peroxidase	87
5.4.3 Manganês peroxidase	88
5.5 ENSAIOS DE FITOTOXICIDADE	91
5.5.1 Ensaios utilizando Reactive Black	92
5.5.2 Ensaios utilizando Direct Yellow	97
5.6 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE	101
5.6.1 Sobrenadante da Linhagem I13-07 em Reactive Black 5	102

5.6.2 Amostras contendo Direct Yellow 27 tratadas por I13-07	103
6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	105
6.1. CONCLUSÕES.....	105
6.2 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	106
REFERÊNCIAS.....	107

1 INTRODUÇÃO

A Indústria Têxtil desempenha um papel econômico e social relevante em todo o mundo, contribuindo para a geração de empregos em diversos setores. No Brasil, o crescimento dessa indústria foi mais acentuado na década de 1930, principalmente na região Sudeste (FUJITA, 2015). Atualmente, embora o setor enfrente uma balança comercial desfavorável, ele mantém posições importantes, sendo o maior exportador de têxteis da América Latina e o décimo segundo no ranking mundial (IEMI - Inteligência de Mercado, 2022).

Essa relevância econômica, no entanto, traz consigo desafios ambientais que precisam ser enfrentados. Os processos de produção têxtil estão associados a problemas sérios, como a emissão de gases poluentes e o lançamento de efluentes nos corpos hídricos, que podem comprometer a qualidade do solo e da água (DUARTE, 2021). Além disso, a grande quantidade de água utilizada e a diversidade de substâncias químicas empregadas no tingimento e beneficiamento das fibras têxteis representam um desafio considerável. A adoção de práticas mais sustentáveis é crucial para reduzir a quantidade de efluentes gerados e mitigar os riscos ambientais associados a essas atividades.

Embora pesquisadores estejam desenvolvendo métodos de tingimento que utilizam recursos biológicos, como bactérias, esses processos ainda não são amplamente acessíveis economicamente, o que faz com que os corantes sintéticos continuem predominantes na indústria (DUARTE, 2021; GOMES e RIBEIRO, 2016). Os corantes azo, por exemplo, constituem o maior grupo de corantes têxteis utilizados globalmente, representando cerca de 70% do total (KNACKMUSS, 1996). Caracterizados por sua alta solubilidade e capacidade de formar ligações covalentes com fibras celulósicas e protéicas, esses corantes são projetados para serem resistentes à água e à luz UV, mas apresentam grande dificuldade de degradação em ambientes naturais, tornando-se compostos recalcitrantes quando descartados inadequadamente (GOMES e RIBEIRO, 2016).

Atualmente, os tratamentos de efluentes na Indústria Têxtil baseiam-se em processos físico-químicos, como precipitação e coagulação, seguidos de tratamentos biológicos com sistemas de lodos ativados (DO NASCIMENTO, 2019). Contudo, esses processos são onerosos e não são eficazes para a ampla gama de corantes

residuais que precisam ser tratados (GONDIM et al., 2007). Nesse contexto, a biodegradação tem se destacado como uma alternativa promissora. Esse método utiliza microrganismos como agentes degradadores de substâncias tóxicas, como os corantes, permitindo que esses microrganismos utilizem os corantes como fonte de nutrientes e energia, por meio das enzimas que secretam (BURATINI, 2008).

A aplicação de fungos e bactérias, isoladamente ou em consórcio, tem se mostrado eficaz no tratamento de efluentes líquidos e sólidos provenientes de diversos setores industriais. As razões para o crescente interesse em técnicas biológicas incluem o custo reduzido e a capacidade de tratar uma variedade maior de substâncias recalcitrantes (DO NASCIMENTO, 2019). Os fungos, em particular, apresentam um grande potencial para a degradação de poluentes, devido à sua alta capacidade de produção e secreção de enzimas, além de sua adaptabilidade a diferentes meios, permitindo-lhes utilizar diversas substâncias tóxicas como fontes de nutrientes e energia (GOMES e RIBEIRO, 2016).

Diante da necessidade urgente de desenvolver métodos eficazes para o tratamento de efluentes contaminados por corantes, o presente trabalho investiga o potencial biotecnológico de fungos filamentosos na biodegradação de corantes têxteis, além de avaliar os efeitos fitotóxicos e ecotóxicos dos sobrenadantes resultantes desse processo, utilizando microrganismos selecionados e isolados previamente de área de Mata Atlântica.

1.1 ESTRUTURAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

A dissertação está estruturada em sete capítulos. Além do capítulo introdutório, no Capítulo 2 estão descritos o objetivo geral e cinco objetivos específicos. No Capítulo 3 é apresentada a revisão que traz o estado da arte do tema, e aborda o panorama da indústria têxtil globalmente e nacionalmente, adicionalmente, é abordada a cadeia têxtil e os corantes em sua origem, estrutura e aplicação, e por fim o efluente gerado pela indústria têxtil. No Capítulo 4 Material e Métodos são descritos os fungos utilizados, e como foram realizados os ensaios para determinação daqueles mais promissores para descoloração dos corantes selecionados, e que também evidenciassem atividade enzimática, e baixa toxicidade para vegetais e microcrustáceo. No capítulo 5 são descritos os resultados de todos os ensaios, e no

Capítulo 6 são descritas 10 conclusões relevantes sobre a pesquisa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Vários estudos vêm sendo conduzidos no âmbito da biodegradação de corantes por micro-organismos. Desta forma, a presente dissertação propõe uma avaliação do processo de biodegradação de corantes têxteis, utilizando fungos filamentosos previamente isolados da Mata Atlântica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar o potencial de biodegradação e descoloração de diferentes linhagens de fungos filamentosos em relação a diversos corantes têxteis, selecionando e identificando aquelas que apresentarem maior capacidade de descoloração para a etapa de cultivo submerso.
- Analisar o processo de cultivo submerso sob diferentes parâmetros, avaliando a possível interação entre os microrganismos selecionados na etapa anterior.
- Realizar uma análise comparativa da descoloração dos corantes durante o cultivo submerso, utilizando espectrofotometria como método de avaliação.
- Avaliar a fitotoxicidade do extrato enzimático obtido a partir dos sistemas que evidenciaram biodegradação ou descoloração.
- Conduzir uma análise enzimática das enzimas lacase (Lac), manganês peroxidase (MnP) e lignina peroxidase (LiP).

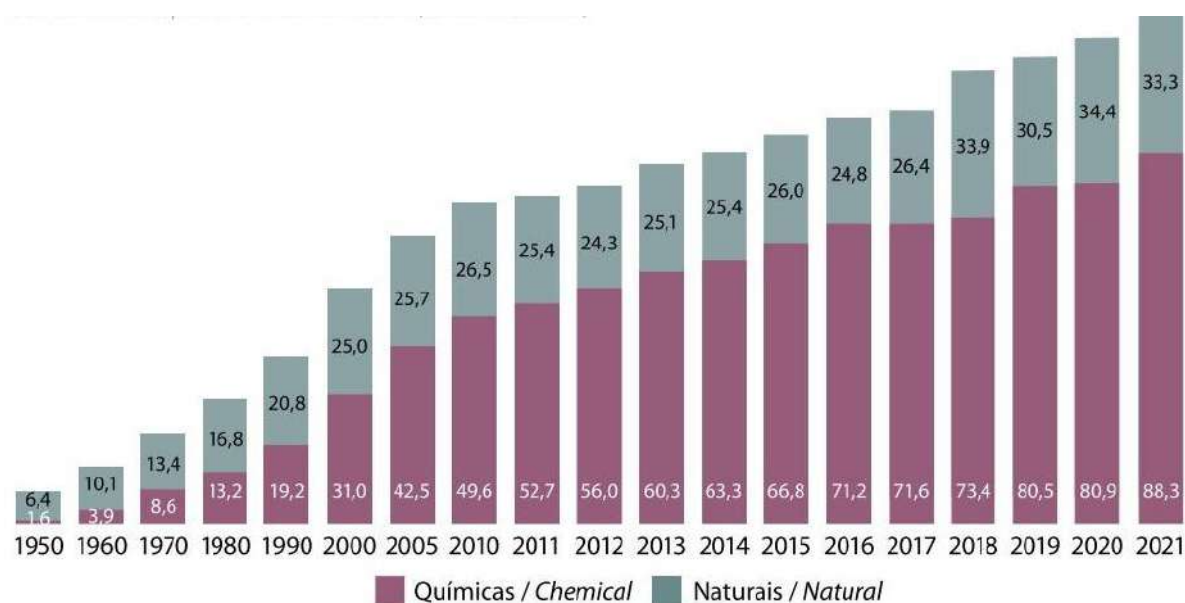
3 REVISÃO

3.1 INDÚSTRIA TÊXTIL

3.1.1 Mercado Global

A Indústria Têxtil é uma das mais relevantes no mercado mundial, desempenhando um papel crucial no segmento de vestuário. Influenciando não apenas o modo como as pessoas se vestem, mas também dita tendências e possui uma força econômica que envolve vários setores produtivos. Mesmo em meio a crises mundiais, como guerras e pandemias, essa indústria encontra espaço para crescimento, como evidenciado na Figura 1.

Figura 1- Consumo mundial de fibras têxteis (milhões de toneladas) de 1950 à 2021



Fonte: IEMI (2022)

O consumo de fibras têxteis pode ser classificado em duas categorias principais: fibras naturais e fibras químicas. Como pode ser observado, o consumo de ambas as categorias tem crescido significativamente desde a década de 1950. As fibras naturais são subdivididas conforme sua origem, que pode ser vegetal, animal ou mineral. Por outro lado, as fibras químicas se dividem em artificiais e sintéticas; as artificiais são polímeros obtidos a partir da transformação da celulose, enquanto as fibras químicas sintéticas derivam de subprodutos do petróleo, como o náilon, a poliamida e o poliéster (KON, 2005).

Nos últimos 10 anos, o consumo global de fibras apresentou uma taxa média de crescimento de 4,7% ao ano. As fibras naturais foram responsáveis por aproximadamente 3,6% desse crescimento, enquanto as fibras sintéticas contribuíram com 5,2% ao ano (IEMI, 2022). O aumento do uso de fibras no setor têxtil pode ser atribuído ao crescimento populacional e à disseminação do padrão de produção rápida, conhecido como “fast fashion”.

Mesmo durante o período da pandemia de COVID-19, entre 2020 e 2022, a China se manteve como a principal exportadora tanto de têxteis quanto de vestuário, representando 35% das exportações totais em 2021(IEMI, 2022). Ao se analisar o cenário global, os países asiáticos se destacam significativamente nas exportações do setor. Bangladesh foi responsável por 6% das exportações, enquanto o Vietnã contribuiu com 5,4%. Juntos, esses três países foram responsáveis por 46,4% das exportações de têxteis e vestuário (IEMI, 2022). O quadro 1 apresenta os maiores exportadores mundiais de componentes têxteis e vestuário, e sua representatividade em 2021.

Quadro 1- Principais países exportadores 2021

Têxteis		Vestuário		Total		
País	US\$ milhões	Países	US\$ milhões	Países	US\$ milhões	Partic. %
1. China	91.737	1. China	123.984	1. China	215.721	35,0%
2. Índia	11.934	2. Bangladesh	35.995	2. Bangladesh	36.874	6,0%
3. Itália	9.791	3. Vietnã	25.948	3. Vietnã	33.293	5,4%
4. Alemanha	9.395	4. Itália	18.306	4. Itália	28.097	4,6%
5. Estados Unidos	8.952	5. Alemanha	18.087	5. Alemanha	27.483	4,5%
6. Turquia	8.061	6. Turquia	15.706	6. Índia	25.162	4,1%
7. Vietnã	7.345	7. Índia	13.228	7. Turquia	23.767	3,9%
8. Coreia do Sul	6.859	8. Espanha	12.748	8. Espanha	16.304	2,6%
9. Taiwan	6.656	9. Países Baixos	10.064	9. Estados Unidos	12.921	2,1%
10. Japão	4.795	10. França	8.612	10. Países Baixos	12.531	2,0%
11. Hong Kong	4.781	11. Polônia	8.279	11. França	11.741	1,9%
12. Brasil	4.252	12. Camboja	7.542	12. Hong Kong	11.622	1,6%
13. Espanha	3.556	13. Bélgica	6.915	13. Polônia	9.874	1,6%
14. França	3.129	14. Indonésia	6.880	Indonésia	9.765	1,6%
15. Indonésia	2.885	15. Hong Kong	6.840	15. Bélgica	9.364	1,5%
16. Países Baixos	2.467	83. Brasil	339	26. Brasil	4.592	0,7%
Subtotal	186.597	Subtotal	319.474	Subtotal	489.112	79,4%

Outros	35.548	Outros	74.732	Outros	127.238	20,6%
Total	222.145	Total	394.206	Total	616.351	100%

Fonte: IEMI (2022)

Em 2012 o Brasil ocupava a 23ª posição no ranking de exportadores, com os dados mais recentes de 2021 caiu para a 26ª posição mundial. O que significa que o comércio internacional ainda é tímido, apesar disso, o Brasil importou em 2021 apenas 1,1% de têxteis e de vestuário, e ainda assim é um dos grandes produtores mundiais. O que nos leva a concluir que nesse segmento industrial, o Brasil se enquadra no perfil de “produtor-consumidor”, ou seja, produz o suficiente para si, sem grande expressividade de exportação ou necessidade de importação (ABIT- Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção, 2013; IEMI, 2022).

3.1.2 Mercado brasileiro

O setor têxtil ocupa uma posição de destaque na economia nacional. Em 2021, foram gerados 1,3 milhão de empregos, correspondendo a 19,3% dos trabalhadores alocados na produção industrial, além de uma produção total de aproximadamente R\$ 190,3 bilhões, o que representa 6% do valor total da produção da indústria brasileira de transformação, a qual abrange 24 setores e corresponde a 12% do PIB do Brasil (IEMI, 2022; CNI - Confederação Nacional da Indústria, 2023).

Além da presença de indústrias têxteis em todos os estados do país, a ABIT (2013) destaca a existência de grandes polos regionais de produção têxtil e confecção no Brasil. Os principais polos estão localizados na região Sudeste, nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo; na região Sul, nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul; e na região Nordeste, nos estados do Ceará e Pernambuco (MUNIZ, 2022). A região Sudeste é a principal responsável pela produção têxtil no Brasil, como pode ser observado na Figura 2.

Figura 2- Distribuição regional da produção brasileira

Fonte: IEMI (2022)

São Paulo é o principal polo brasileiro de confecções; são mais de 15 mil indústrias, distribuídas por várias regiões e atuando em todos os segmentos. Minas Gerais possui o segundo maior polo brasileiro confeccionista, abrigando aproximadamente 5 mil indústrias, distribuídas em duas regiões. Já o Rio de Janeiro, foi um dos maiores polos têxteis e de moda do Brasil até os anos 1980. O estado responde por 10% da produção nacional, com cerca de 5.700 indústrias. É o segundo maior polo lançador de moda feminina (MUNIZ, 2022; ABIT, 2013).

3.2 DESCRIÇÃO DA CADEIA PRODUTIVA TÊXTIL

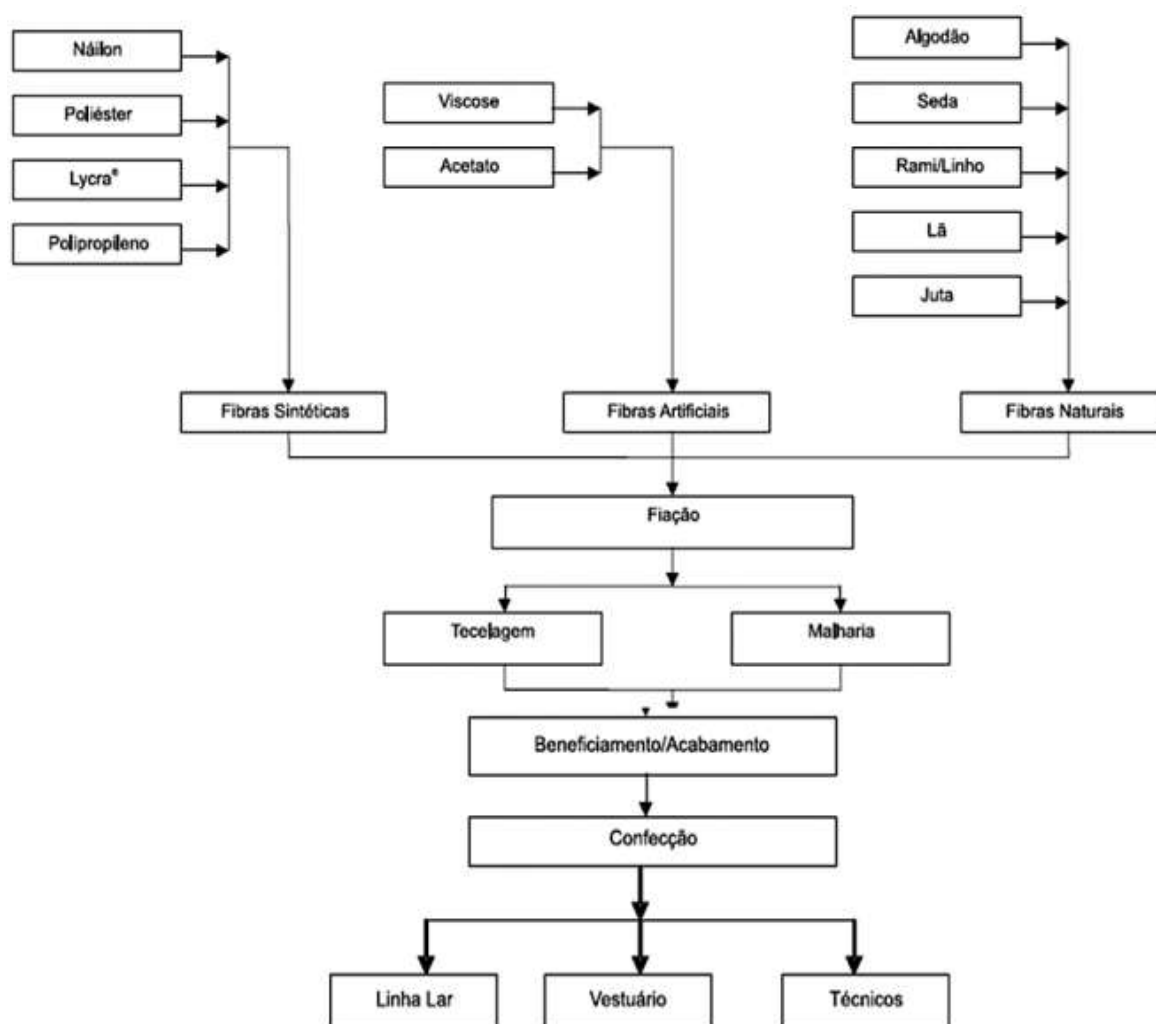
De acordo com Muniz (2022), a Indústria Têxtil é constituída por quatro segmentos industriais:

- **Fiação:** produção de fios ou filamentos que serão preparados para a etapa de tecelagem;
- **Tecelagem:** fabricação de tecidos planos ou tecidos de malha (malharia);
- **Beneficiamento/Acabamento:** operações que conferem ao produto conforto, durabilidade e propriedades específicas;

- **Confecções:** desenho, confecções de moldes, gradeamento, encaixe, corte e costura.

A Figura 3 apresenta os tipos de tecidos produzidos bem como as etapas envolvidas durante a produção. As atividades produtivas do segmento têxtil são atividades interdependentes, porém com relativa independência dentro do processo produtivo, o que permite a coexistência de empresas especializadas e com diferentes graus de atualização tecnológica. O resultado de cada etapa de produção pode alimentar a etapa seguinte, independentemente de fatores como escala e tecnologia de produção (PEREIRA, 2017).

Figura 3- Estrutura produtiva têxtil e de confecções



Fonte: BNDES- Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2009)

Até chegar ao produto final, existe ainda uma interface com a indústria química em razão da necessidade de insumos (corantes têxteis, pigmentos têxteis, produtos auxiliares etc.) para diversos tipos de tratamento, desde as fibras (além das fibras naturais, há as manufaturadas) até os bens acabados (MUNIZ, 2022).

3.2.1 Fiação

Segundo Pereira (2017), o processo de fiação consiste nas operações pelas quais as fibras são abertas, limpas e orientadas em uma mesma direção, paralelizadas e torcidas de modo a se entrelaçarem por meio do atrito. As propriedades físicas da matéria-prima fibrosa condicionam e definem o processo de fiação a ser utilizado, bem como a relação de massa por unidade de comprimento, conhecida como título, do fio a ser produzido (ALMEIDA, 2018).

De acordo com as estatísticas do Textile Exchange (2020), em milhões de toneladas (Mt), o poliéster foi a fibra mais produzida em 2019, respondendo por menos de 60 Mt, ou aproximadamente 52% da produção global de fibras. O algodão ocupa a segunda posição, com mais de 25 Mt, correspondendo a cerca de 23%. As fibras menos consumidas incluem lã de ovelha (1 Mt), seda (0,16 Mt) e lã de outros animais (0,05 Mt). Outras fibras vegetais somam aproximadamente 6,5 Mt, enquanto outros sintéticos e poliamida representam 6,4 Mt e 5,6 Mt, respectivamente.

3.2.2 Tecelagem

O processo de tecelagem é composto por duas etapas principais: o urdimento e a engomagem. Na etapa de urdimento, os fios são transformados em rolos de urdume por meio de um equipamento denominado urdideira. Esses rolos são, então, encaminhados à tecelagem, onde os teares entrelaçam a trama, resultando na formação do tecido. No processo seguinte, o objetivo é engomar o fio, ou seja, torná-lo mais resistente por meio da adição de goma e aquecimento (COGO, 2011; CHAIM, 2014).

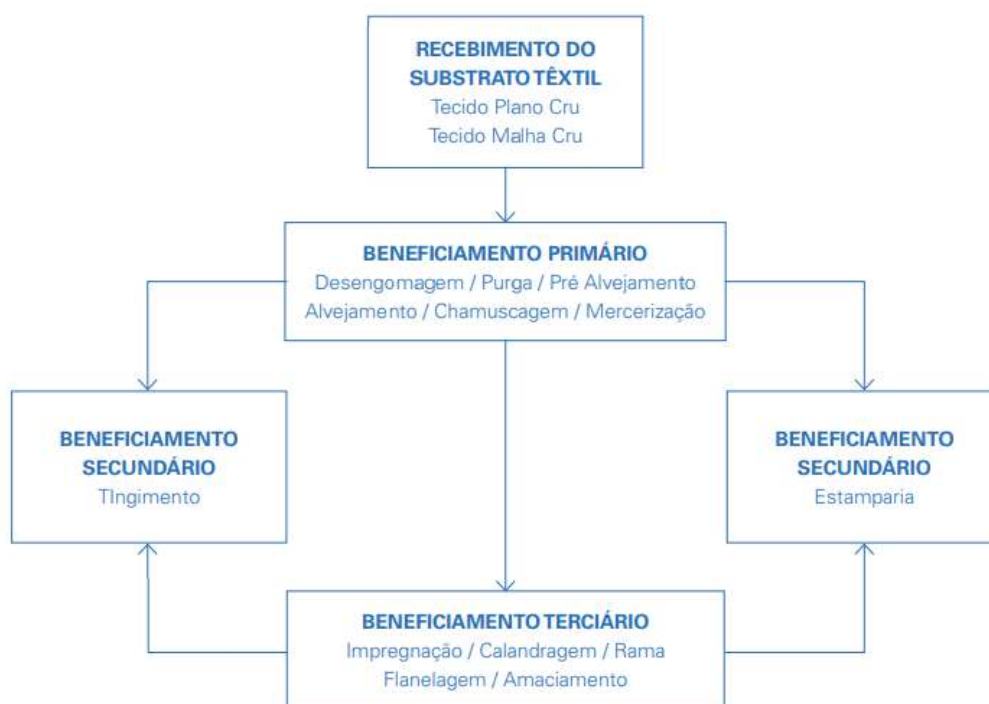
A etapa de engomagem gera dois produtos: o tecido plano e a malha. A principal diferença entre esses produtos reside na estrutura e na geometria específicas de cada um, que resultam da aplicação de processos de produção

distintos. Por exemplo, a malha apresenta maior flexibilidade e elasticidade, enquanto os tecidos planos se destacam pela sua maior resistência (CHAIM, 2014).

3.2.3 Beneficiamento/Acabamento

A etapa de beneficiamento tem como objetivo aprimorar diversas características do material têxtil, como aparência, resistência, toque e capacidade de absorção de água. Para atingir esses resultados, diversas operações podem ser realizadas, uma vez que cada substrato requer uma preparação específica, dependendo das necessidades de seu aproveitamento (ALMEIDA, 2018). As etapas do processo de beneficiamento podem ser observadas na Figura 4.

Figura 4- Principais operações que envolvem o beneficiamento têxtil



Fonte: Chaim (2014)

O beneficiamento primário é o conjunto de operações realizadas sobre o substrato têxtil visando colocá-lo em condições de receber tintura (parcial ou total) e acabamento final, em conformidade com sua aplicação, e consiste em operações de limpeza para eliminar do tecido todos os óleos e aditivos que foram utilizados no

processo de tecelagem ou malharia (PEREIRA, 2017).

Dentro dessa etapa, a descoloração é um método utilizado para remover a cor natural da fibra, fio ou tecido. Para esse fim, são empregados produtos à base de cloro ou peróxido de hidrogênio, que possuem propriedades branqueadoras. Atualmente, esses produtos estão sendo gradativamente substituídos por enzimas da classe das lacases, que são biodegradáveis e, portanto, mais sustentáveis (DUARTE, 2021).

A segunda etapa é o beneficiamento secundário, que envolve o tingimento do tecido, ou seja, a aplicação de corantes com o intuito de modificar ou adicionar cor ao material. Como essa etapa requer uma ampla variedade de corantes e auxiliares de tingimento, é responsável pela geração de uma significativa parte dos efluentes têxteis (BASTIAN e ROCCO, 2009).

No processo de tingimento, a superfície têxtil é imersa em um banho aquoso que contém o pigmento correspondente à cor desejada para o produto final, além de aditivos químicos, como ácidos, eletrólitos e óleos emulsificantes, que ajudam a uniformizar a cor absorvida (CHEQUER et al., 2013).

O tingimento é a etapa que mais contribui para a poluição durante o processamento têxtil. Uma variedade de corantes, surfactantes, sais e efluentes ácidos é utilizada nesse processo, que demanda uma quantidade considerável de água. Assim, uma grande quantidade de efluentes têxteis é gerada, contendo corantes, sais, surfactantes e metais pesados (MADHAV et al., 2018; KALLIALA e TALVENMAA, 2000; AMICARELLI et al., 2022).

3.2.4 Confeções

A última etapa do processo de produção do setor têxtil consiste na confecção de peças de vestuário, sendo sua atividade fundamentada especificamente na prestação de serviços de corte, costura e acabamentos diversos (CHAIM, 2014).

3.3 CORANTES TÊXTEIS

Segundo Barcellos (2004), um corante pode ser definido como toda substância capaz de conferir cor a um determinado substrato, que pode incluir tecidos,

papel, couro ou outros materiais. Esses corantes podem ser obtidos a partir de fontes naturais ou de forma sintética, podendo ser de origem orgânica ou inorgânica. Eles são insumos coloridos de alta concentração, solúveis no meio de tingimento ou estampagem, geralmente água (PEREIRA, 2017).

Atualmente, os corantes sintéticos predominam no processo de tingimento devido ao menor custo de produção, à infinidade de possibilidades de síntese com grupos cromóforos e auxocromáticos¹ diferenciados, além de apresentarem maior grau de pureza, fidelidade da cor e maior fixação. No entanto, esses corantes também são responsáveis por uma significativa parte da poluição e contaminação das águas em nosso planeta (ZANONI e YAMANAKA, 2016; DUARTE, 2021).

Apesar do potencial poluidor e dos riscos à saúde, a utilização de corantes na Indústria Têxtil tem aumentado, impulsionada pelas exigências dos consumidores por uma maior diversidade de cores, resistência à exposição à luz, lavagem e transpiração (GUARATINI e ZANONI, 2000).

3.3.1 Classificação dos corantes têxteis

Os corantes têxteis podem ser classificados de diversas maneiras, onde as mais usuais são: origem, estrutura química e método de aplicação. (GOMES e RIBEIRO, 2016).

3.3.1.1 Origem

Quanto à origem, os corantes podem ser classificados em naturais – de origem vegetal ou animal - e sintéticos, geralmente oriundos de carvão mineral e de produtos petroquímicos. O baixo custo de síntese, a estabilidade e a variedade de cores são fatores que tornam favorável o uso dos corantes sintéticos em detrimento dos naturais (GONG et al., 2005).

¹ Grupos cromóforos são sistemas conjugados capazes de absorver energia na faixa do visível (MARTINS, SUCUPIRA e SUAREZ, 2015). Já os auxocromáticos são grupos ionizáveis, que conferem aos corantes a capacidade de ligação ao material têxtil, sendo eles o grupo amina ($-NH_2$), carboxila ($-COOH$), sulfônico ($-SO_3H$) e hidroxila ($-OH$) (SUTEU et al., 2009).

3.3.1.2 Estrutura Química

Segundo Hunger (2003), a forma mais apropriada de classificar um corante é por sua estrutura química, ou pelo seu grupo cromóforo. Essa classificação permite a rápida identificação dos corantes, agrupando-os em categorias com características semelhantes, o que facilita seu reconhecimento no setor têxtil.

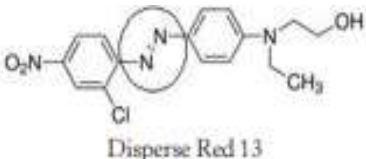
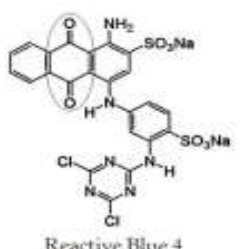
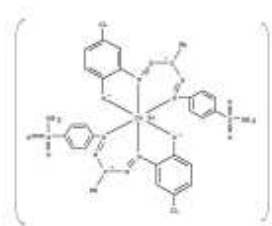
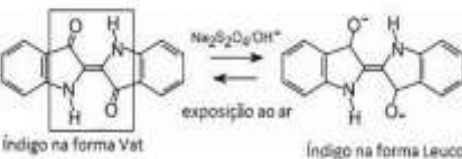
Um grupo cromóforo é a estrutura responsável pela coloração apresentada pelo corante, possuindo absorção na região ultravioleta e visível do espectro, especialmente devido às transições eletrônicas de um sistema conjugado de duplas ligações (ZOLLINGER, 2003).

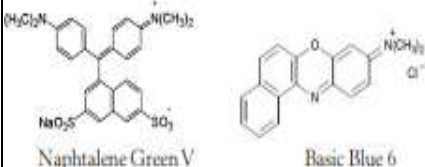
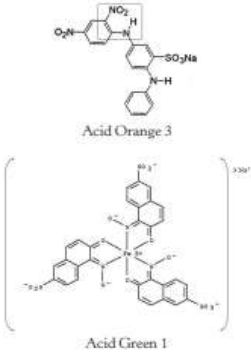
Em relação à estrutura química, os corantes podem ser divididos nas seguintes categorias: azo, antraquinona, metalizados, indigoide, ftalocianinas, metina, polimetina, polienos, di e triarilmetina, oxazina, nitro e nitrosos, e sulfurosos (GUARATINI e ZANONI, 2000; HUNGER, 2003; SHORE, 2002; ZOLLINGER, 2003).

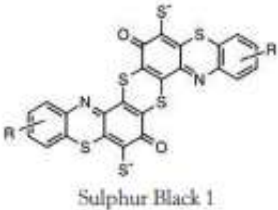
Essa diferenciação está diretamente relacionada ao grupo cromóforo presente na molécula do corante. Os grupos mais usuais incluem $-C=C-$, $-C=N-$, $-C=O-$, $-N=N-$ e $-NO_2$, geralmente ligados a anéis aromáticos (DOS SANTOS et al., 2007), uma vez que esse sistema conjugado possibilita a absorção de radiação na faixa da luz visível (ALMEIDA, 2018).

No quadro 2, podem ser observadas as principais características dos corantes classificados de acordo com a estrutura do grupo cromóforo.

Quadro 2- Características de acordo com o grupo cromóforo

Cromóforo	Estrutura química (exemplos de corantes)	Principais classes	Principais propriedades
Azo	 Disperse Red 13	Reativos, ácidos, dispersos, diretos, básicos, catiônicos, pré-metalizados, azoicos	Ampla variedade de cores, resistência à exposição luminosa, brilho, boa relação custo-benefício
Antraquinona	 Reactive Blue 4	Reativos, dispersos, ácidos, básicos, pré-metalizados, à Tina	Brilho, estabilidade, resistência à exposição luminosa, ampla variedade de cores, baixo custo-benefício em função da baixa fixação
Metalizados	 Acid Black 180	Ácidos, diretos e reativos	resistência à exposição luminosa, resistência à lavagem, pouco brilho, maior toxicidade, cores com tonalidades mais fortes
Indigoide	 Índigo na forma Vet Índigo na forma Leuco	Ácidos, à Tina	Baixa solubilidade, tonalidades sólidas, resistência à exposição luminosa e ao calor, alta fixação, baixa resistência à lavagem

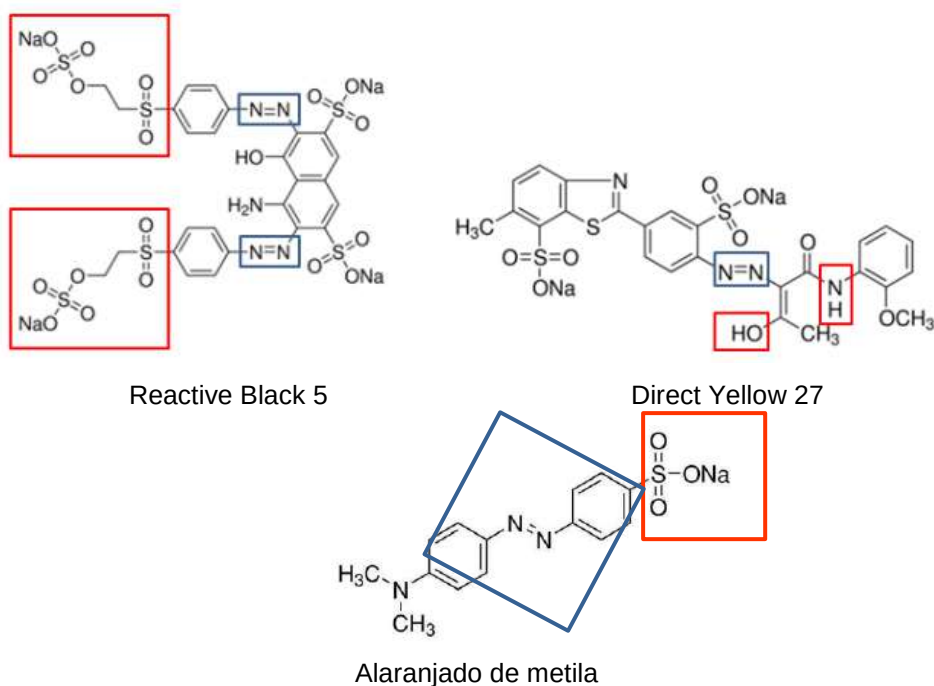
Ftalocianinas	 Direct Blue 86	Reativos, diretos, ácidos, básicos	Resistência ao calor e exposição luminosa, brilho e boa fixação, boa relação custo- benefício, cores intensas
Metina, polimetina e polienos	 Basic Red 12 β-caroteno	Básicos, dispersos, catiônicos	cores brilhantes, ampla variedade de cores, eventualmente fluorescência
Di e triarilmetina e oxazina	 Naphtalene Green V Basic Blue 6	Ácidos, básicos, diretos, dispersos	Resistência à luz, brilho, cores intensas, alguns apresentam toxicidade
Nitro e nitrosos	 Acid Orange 3 Acid Green 1	Ácidos, básicos, dispersos	Baixo custo, boa resistência à luz e bom rendimento no tingimento

Sulfurosos	 Sulphur Black 1		Baixo custo, tonalidades escuras, insolúveis em água
------------	--	--	--

Fonte: Zanoni e Yamanaka (2016).

Na Figura 5 podem ser observadas as estruturas dos corantes têxteis utilizados no presente trabalho, com destaque para o grupo cromóforo em azul e os grupos auxiliares em vermelho.

Figura 5-Estruturas dos corantes Reactive Black 5 (RB5), Direct Yellow 27 (DY27) e Alaranjado de metila



Fonte: Almeida (2018) com adaptações.

3.3.1.3 Método de aplicação

Os corantes classificados de acordo com a fixação à fibra são denominados de: Corantes Reativos, Diretos, Azoicos, Ácidos, à Cuba (ou Vat), de Enxofre,

Catiônicos, Dispersos, Pré-Metalizados (Mordentes), Solventes e Branqueadores (GUARATINI e ZANONI, 2000; HUNGER, 2003; SHORE, 2002; ZOLLINGER, 2003).

Na Quadro 3 pode ser observada uma abordagem sobre os principais aspectos destas classes de corantes têxteis em que é feita uma correlação entre o substrato (fibra têxtil), ao modo de aplicação empregado (ZOLLINGER, 2003).

Quadro 3- Classificação dos corantes têxteis de acordo com o método de aplicação na fibra

Classe	Principais substratos	Método de aplicação	Aspectos relevantes do tingimento
Reativos	Algodão, lã, seda e poliamida	Sítios reativos do corante reagem com os grupos funcionais da fibra através de ligações covalentes sob influência do calor e pH	Alta solubilidade, resistência à lavagem; processo de tingimento simples e cores brilhantes
Diretos	Algodão, viscose, seda e poliamida	Tingimento por adsorção via interações de Van der Waals em banhos neutros ou ligeiramente alcalinos contendo eletrólitos adicionais ou mordentes	Alta solubilidade; alto rendimento do processo de tingimento, melhorado pelo uso de eletrólitos, pela planaridade da molécula ou duplas ligações conjugadas na estrutura do corante
Azoicos	Algodão, viscose, acetato de celulose e poliéster	Corantes insolúveis em água formados sobre os poros de fibra entre um agente de acoplamento	Alto padrão de fixação; alta resistência à luz e umidade
Dispersos	Poliéster, acetato de celulose	Tingimento sob a forma de fina dispersão aquosa, muitas vezes aplicadas com alta temperatura/pressão usualmente com auxílio de agentes dispersantes ou por processo de termofixação	Custo baixo, praticamente insolúveis em água e não iônicos, ampla gama de tonalidades, resistência à lavagem e luz; apresentam moléculas pequenas
Ácidos ou aniônicos	Poliamida, lã, seda, couro e acrílico modificado	A fixação do corante à fibra acontece em meio neutro ou ácido através dos sítios aniônicos do corante com os sítios catiônicos da fibra via interação iônica, interação de Van der Waals ou pontes de hidrogênio	Podem ser de 3 tipos; apresentam-se como corantes aniônicos portadores de 1 a 3 grupos sulfônicos e por esta razão solúveis em água e que conferem a carga negativa ao corante; observa-se semelhante efeito com grupos carboxílicos; extensa gama de coloração e boa fixação
À tina	Algodão, viscose e lã	Insolúveis em água são reduzidos à forma leuco solúvel com ditionito de sódio e meio alcalino. Após interação com fibra são oxidados a forma insolúvel quando em contato com ar fixando-se à fibra	Conhecidos como corantes Vat; boa fixação com cores sólidas, porém baixa resistência à lavagem

À cuba	Algodão, viscose	Devido à falta de solubilidade são reduzidos à forma leuco (solúvel) com ditionito de sódio em banho alcalino com outros agentes (eletrólitos e sulfetos de hidrogênio ou de sódio). Após interação com fibra são oxidados a forma insolúvel quando em contato com ar fixando-se à mesma	Insolúveis em água; fornecem tons preto, verde oliva, azul marinho e marrom; baixo custo; boa fixação e resistência à lavagem, porém a tintura gera resíduos tóxicos
Pré-metalizado	Lã, couro	Possui pouca ou nenhuma afinidade com fibra, porém se fixa a ela com adição de um mordente, produto químico que se combina com o corante e a fibra. Os principais mordentes modernos são derivados de crômio, como o dicromato	Cores diferenciadas em função do mordente; formação de complexo metálico; rejeitos tóxicos
Branqueadores ópticos	Aplicado a todas as fibras	Estes corantes são aplicados na forma de dispersão ou suspensão. As fibras têxteis sofrem inicialmente tratamento para descolorimento e acabam assumindo tonalidade amarelada, necessitando de tratamento com corantes brancos ou fluorescentes, que neutralizam o tom amarelo, pela absorção de radiação no ultravioleta (UV), entre 300-380 nm, transmitindo ou emitindo na região visível do espectro (400-450 nm)	Estas fibras quando expostas a radiação UV brilham no escuro; estes corantes provocam reações alérgicas e rejeitos tóxicos
Catiônicos	Lã, seda, algodão, couro e fibras acrílicas. Pouca afinidade com fibras celulósicas	A fixação do corante à fibra acontece através dos sítios catiônicos (positivos) do corante com os sítios aniônicos (negativos) da fibra via interação iônica, interação de van de Waals ou pontes de hidrogênio. O tingimento ocorre empregando usualmente ácido acético que colabora para fixação do corante à fibra e solubilidade em água	O termo “corantes básicos” é também usada para esta classe pelo Colour Index, embora segundo Zollinger (1991), este termo não esteja correto, são corantes solúveis em água; apresentam vasta variedade de cores; apresentam brilho; pouca resistência à luz; boa resistência à umidade; bom rendimento; baixo custo

Fonte: Alcântra e Daltin (1995); Christie (2014); Guaratini e Zanoni (2000); Gordon e Gregory (1987); Hunger (2003); Shore (2002); Zollinger (2003).

3.4 EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL

A Indústria Têxtil gera, em seus efluentes, enormes quantidades de resíduos perigosos e tóxicos, que incluem corantes, sais de acabamento e produtos químicos, além de apresentarem temperaturas e pH elevados. A composição destes efluentes é complexa, contendo substâncias como corantes, nitratos, cromo, enxofre, naftol, sabões, ácido acético e metais. As substâncias coloidais presentes nas tintas e camadas gordurosas elevam a opacidade dos efluentes, conferindo-lhes cores e odores desagradáveis (KHAN et al., 2023).

Os efluentes da Indústria Têxtil, sejam tratados ou não, frequentemente contêm corantes azo e contaminantes orgânicos, que podem se decompor antes ou após a remoção. As águas residuais tratadas podem transportar aminoácidos e substâncias significativamente mais nocivas do que os materiais inacabados (KHAN et al., 2023). Portanto, a toxicidade desses efluentes depende da forma que assumem no ambiente (COSTA et al., 2008).

Dessa forma, o ambiente aquático torna-se o receptor final dos corantes, estando sujeito aos impactos causados por essas substâncias (USEPA, 1990; GUARATINI e ZANONI, 2000; OLIVEIRA et al., 2007; BAFANA et al., 2011). No entanto, dados estatísticos sobre a quantidade de corantes ou sais descartados nos efluentes são raros no Brasil (ZANONI e YAMANAKA, 2016).

As aminas geradas durante a degradação dos corantes podem apresentar propriedades mutagênicas, oncogênicas, alergênicas e/ou teratogênicas, causando danos severos à órgãos vitais, como rins, cérebro, fígado, além de afetar os sistemas reprodutivo e nervoso central (GOWRI et al., 2014).

Por isso, os estudos sobre os diferentes tipos de tratamento têm se intensificado, especialmente no desenvolvimento de métodos que sejam ecologicamente corretos e econômicos, que apresentem boa capacidade de descoloração com mínima ou nenhuma produção de lodo e que possam biotransformar corantes tóxicos em subprodutos não tóxicos em águas residuais (MISHRA e MAITI, 2018).

3.5 TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL

No processo de tratamento de efluentes em uma Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) há, basicamente, quatro etapas de tratamento: preliminar, primária, secundária e terciária (ANDREOLI et al., 2001). O tratamento primário consiste em decantadores primários, nos quais materiais menos densos que a água, tais como óleos e graxas (O&G), flutam na superfície e sólidos com maior densidade decantam (VON SPERLING, 2005). Já no tratamento secundário, ocorre a remoção de matéria orgânica pelos microorganismos, por via aeróbia (na presença de oxigênio dissolvido) ou anaeróbia (na ausência de oxigênio) (CHERNICHARO, 2007).

Sabe-se que os efluentes da Indústria Têxtil são constituídos por uma diversidade de componentes decorrente do tipo de processo empregado. Entretanto, devido à produção em grande escala e aplicação extensiva, os corantes sintéticos têm se tornado motivo de preocupação pública e um sério desafio para cientistas e ambientalistas (ZANONI e YAMANAKA, 2016).

Um grave problema que as indústrias enfrentam é o descarte dos efluentes contendo corantes, pois nas indústrias têxteis são perdidos no processo de tingimento. Aproximadamente 50% dos corantes e cerca de 10 a 15% deles são descartados nos efluentes (YANG et al., 2009).

Além disso, há três diferentes tipos de fibras utilizadas na manufatura de produtos têxteis: fibras de celulose, proteínas e sintéticas. Cada tipo de fibra é tingida com um tipo diferente de corante: fibras de celulose com corantes reativos, diretos, naftol e índigo; fibras de proteínas com corantes ácidos e lanaset²; e fibras sintéticas com corantes dispersos, básicos e diretos (GHALY et al., 2014; GUARATINI e ZANONI, 2000).

A biotransformação destes corantes com grupamento azo-aromático pode ser responsável pela formação de aminas aromáticas, benzidinas e outros intermediários com potencialidade carcinogênica (GUARATINI e ZANONI, 2000) cuja toxicidade pode ser mais elevada do que a do composto original.

Tratamentos convencionais, do tipo, lodos ativados e cloração de efluentes

² Os corantes Lanaset são um grupo popular de corantes, classificados como corantes reativos e ácidos usados para tingir fibras proteicas (como lã, angorá, mohair, caxemira e seda) (GHALY et al., 2014).

contendo corantes podem remover a cor, porém, também podem gerar produtos de degradação mais tóxicos, tais como os fenilbenzotriazóis, conhecidos como PBTA, reconhecidamente mutagênicos (KUMMROW e UMBUZEIRO, 2008).

Diante deste desafio, diversas técnicas de tratamento primárias, secundárias e terciárias desses efluentes vêm sendo investigadas no intuito de minimizar danos provocados pelo lançamento desses resíduos em águas superficiais. No entanto, esses tratamentos não são eficazes na remoção de todos os tipos de corantes e outros químicos usados pela indústria (GHALY et al., 2014; ROBINSON et al., 2001).

Muitas técnicas podem ser utilizadas para a identificação e quantificação de corantes como a cromatografia líquida que é muito utilizada. As técnicas de espectrofotometria de UV-vis, infravermelho e Raman também são opções interessantes para detecção de corantes (CAMPOS, 2014; SKROBOT, 2020)

Em relação à essas técnicas, a considerada mais simples, rápida e de baixo custo é a espectrofotometria de UV-Vis (ROCHA e TEIXEIRA, 2004). Esta permite investigar a transferência de elétrons que ocorre entre orbitais ou bandas de átomos, íons e moléculas (HUNGER e WEITKAMP, 2001). Quando uma radiação contínua passa por uma amostra, uma parte da radiação pode ser absorvida. Se isto ocorre, a radiação residual gera o chamado espectro de absorção que pode variar de 190 a 800 nm (PAVIA et al., 2009).

Apesar de ser uma técnica simples, rápida e de baixo custo quando comparada às técnicas mais avançadas, um dos pontos fracos da espectrofotometria de UV-Vis é a falta de sensibilidade a baixas concentrações. De acordo com Ashaduzzaman e Kunitake (2013), não é possível realizar a detecção de corante em concentrações menores que $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ usando a técnica. Outra desvantagem da espectroscopia de UV-Vis é a impossibilidade de se afirmar a estrutura do corante apenas observando o espectro obtido (MARÇO et al., 2008).

Os métodos eletroanalíticos podem ser uma boa alternativa para tal finalidade, uma vez que estes são capazes de identificar diversos grupos por meio das reações de oxidação e/ou redução que ocorrem na superfície do eletrodo (BARD e FAULKNER, 2001). Além disso, estes métodos apresentam características intrínsecas das técnicas como elevada sensibilidade, seletividade, repetibilidade, reprodutibilidade e a possibilidade de análises da amostra bruta com simples ou nenhum prévio tratamento (HUNDARI et al., 2013).

3.5.1 Microrganismos na degradação de corantes

O avanço da Microbiologia tem estimulado o uso de fungos, bactérias e algas no tratamento de poluentes, especialmente por meio de técnicas de biorremediação e biodegradação (CAIRES, 2018). A biodegradação refere-se à transformação de moléculas xenobióticas por microrganismos, enquanto a biorremediação diz respeito ao uso desses organismos para desintoxicar áreas contaminadas. A degradabilidade é considerada um atributo desejável, pois a persistência prolongada de contaminantes pode levar à contaminação de outros ambientes, incluindo águas subterrâneas (DE MELO e SILVA, 2021).

As técnicas biológicas de degradação incluem o uso de micróbios, fungos, algas, bactérias e vegetação, bem como suas enzimas, que estão ganhando popularidade devido ao seu baixo custo e à sua compatibilidade com o meio ambiente (SOLOVCHENKO, 2020).

As bactérias desempenham um papel importante na degradação de corantes, pois apresentam uma taxa de descoloração mais rápida em comparação com a degradação fúngica. São aplicáveis a uma ampla gama de corantes, têm um custo reduzido e são ecologicamente corretas, além de gerarem mínima quantidade de lodo e apresentarem alta eficiência na degradação e mineralização de corantes (SARATALE et al., 2011).

Diversos autores têm utilizado bactérias na degradação de corantes. Por exemplo, Singh et al. (2022) empregaram um consórcio bacteriano de *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter cloacae* para descoloração e degradação do corante azo Reactive Yellow-145 em efluentes da Indústria Têxtil, obtendo resultados promissores. A pesquisa revelou que 98,78% do corante foi descolorido sob condições estáticas, na concentração de 500 mg L⁻¹, a 35 °C e pH 7,0, durante um período de contato de 12 horas. Os ensaios de toxicidade apontaram que o extrato não teve efeitos tóxicos na germinação de grão-de-bico e feijão moyashi.

Resultados promissores também foram obtidos por Hussain et al. (2013), que isolaram cepas bacterianas de um dreno de esgoto da Indústria Têxtil. A cepa do gênero *Pseudomonas* resultou em eficácia na degradação de até 98,5% do corante Reactive Black 5 em pH 8 e a 25 °C, na presença de até 30 g L⁻¹ de NaCl, em apenas

48 horas de incubação.

Embora haja uma preferência pelo uso de bactérias na degradação de corantes devido ao seu ciclo de vida relativamente curto e ao processo de descoloração mais rápido, os fungos apresentam um grande potencial biotecnológico. Eles possuem características metabólicas que os tornam capazes de degradar diversos compostos químicos recalcitrantes, como metais pesados, pesticidas e corantes (ALMEIDA, 2018).

Em estudos de biodegradação de quinze corantes azo utilizando bactérias, fungos e consórcios, Abd el-Rahim et al. (2021) identificaram que as cepas fúngicas e seu consórcio foram mais eficazes na biodegradação de todos os corantes azo testados, com dez deles sendo completamente degradados pelo consórcio fúngico.

As algas e enzimas bacterianas também têm mostrado potencial na degradação de corantes, com resultados apreciáveis. Zhang (2022) obteve uma eficiência de até 95% na degradação do corante Acid Orange 2 ao utilizar biofilmes em meio com concentrações variando de 50 a 600 mg/L em períodos de 12 e 24 horas.

O Quadro 4 apresenta comparações entre as degradações de corantes azo utilizando bactérias, fungos e enzimas (Quadro 4).

Quadro 4- Degradação de corantes azo utilizando bactérias, fungos e enzimas.

Corantes	Bactéria/ Fungo/ Enzima	Remoção (%)	Autores
Reactive orange 16	<i>Bacillus</i> sp. VITAKB20	92.38	PANDEY, K.; SAHA, P.; RAO, K.B. (2020)
Reactive blue 250	<i>Lysinibacillus</i> sp. KPB6	95.36	
Acid red 3 R	<i>Trichoderma tomentosu</i>	99.2	HE, X.L. et al (2018)
Reactive yellow	<i>Aspergillus niger</i> D2-1	98.62	DE LIMA, D.P. et al (2018)
Reactive red		92.42	
Congo red	Enzimas lignolíticas	45.5	LIU, S. X. et al (2020)
Congo red	<i>Oudemansiella canarii</i> laccase	80	IARK D., A.J. et al (2019)

Fonte: Rathi (2022).

Em estações de tratamento de esgoto, os microrganismos que atuam na degradação ou descoloração do corante estariam inseridos na etapa de tratamento secundário, o qual por meio de processos biológicos, visa acelerar os mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente nos corpos receptores. Assim, a decomposição dos poluentes orgânicos degradáveis é alcançada, em condições controladas, em intervalos de tempo menores do que nos sistemas naturais (VON SPERLING, 1996).

3.6 TOXICIDADE DOS EFLUENTES TÊXTEIS COM CORANTE

Durante a etapa de aplicação do corante no substrato, o corante se dissolve ou tem sua estrutura cristalina destruída, sendo mantido no substrato por meio de adsorção, solvatação, ou ligação iônica ou covalente. Essas características podem refletir, posteriormente, em diferentes perfis toxicológicos e ambientais para essas substâncias (SHORE, 2002).

Para avaliar a toxicidade dos ambientes, surgiu a ecotoxicologia, que estuda os efeitos dos poluentes e a forma como eles interagem com os organismos em seu habitat. A ecotoxicidade, portanto, indica o quão tóxico um poluente pode ser para os organismos vivos (BLAISE, 1984). Em contrapartida, a toxicologia analisa o mecanismo de ação dos efeitos tóxicos em organismos específicos (BLAISE, 1984; HOFFMAN et al., 2003; ZAGATTO, 2008).

A avaliação da ecotoxicidade de corantes em organismos de água doce é de suma importância, considerando que esses compostos já foram encontrados em ambientes aquáticos (UMBUZEIRO et al., 2005; ZOCCOLO et al., 2015). Um fator relevante é que as ocorrências de corantes relatadas na literatura foram ocasionadas pelo descarte inadequado de efluentes têxteis (DE LIMA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2007; CARNEIRO et al., 2010).

Os dados sobre a toxicidade de corantes são predominantemente encontrados na literatura relacionada a organismos de água doce, enquanto as informações sobre organismos marinhos e estuarinos são escassas (ZANONI e YAMANAKA, 2016).

3.6.1 Ensaio de toxicidade

Os ensaios de toxicidade têm como objetivo avaliar o impacto que os efluentes podem causar aos corpos receptores, especialmente no que diz respeito aos sistemas biológicos. Atualmente, tais ensaios são exigidos por órgãos ambientais, regulamentados por portarias e resoluções que garantem o cumprimento dos limites de toxicidade estabelecidos para efluentes (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011).

A aplicação desses ensaios na análise ambiental é ampla e de extrema relevância, especialmente diante da crescente complexidade das transformações químicas no meio ambiente (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008). Essa importância se intensifica porque as atividades biológicas e toxicológicas dos corantes podem variar significativamente, mesmo entre compostos que pertencem a grupos químicos similares com estruturas químicas equivalentes (CHEN et al., 2018).

De acordo com Almeida (2013), os ensaios toxicológicos devem ser rápidos, de baixo custo e de fácil execução. No procedimento desses ensaios, os efluentes são diluídos sucessivamente para simular o processo de diluição que ocorre naturalmente no corpo receptor após o descarte. Os organismos-teste são expostos a diferentes diluições por períodos específicos, e os efeitos avaliados incluem mortalidade, redução na fecundidade, imobilidade, inibição do crescimento, entre outros.

Há uma variedade de metodologias disponíveis para a avaliação de toxicidade, como fitotoxicidade, ecotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade, toxicidade aguda, toxicidade microbiana e toxicidade em invertebrados (SOLÍS et al., 2012). Segundo Solís et al. (2012), as metodologias baseadas em fitotoxicidade, que utilizam vegetais como indicadores de toxicidade, têm ganhado destaque por serem menos onerosas e de mais fácil execução em comparação com outras abordagens. Por essa razão, a fitotoxicidade foi escolhida como uma das metodologias abordadas neste estudo.

Os invertebrados são amplamente utilizados na avaliação dos efeitos tóxicos de poluentes em matrizes aquosas. No caso de efluentes da Indústria Têxtil, ensaios ecotoxicológicos frequentemente utilizam várias espécies do gênero *Daphnia* (VILLEGAS-NAVARRO et al., 2001; IMMICH et al., 2009). *Daphnia* spp. são organismos planctônicos de água doce e possuem protocolos de teste padronizados pela ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), conforme estabelecido na

norma NBR 12713:2016, atualizada em 2022. Durante os ensaios, os organismos são expostos a contaminantes-alvo ou matrizes aquosas sob condições controladas, e a contagem de indivíduos vivos (móveis) é realizada após o período de incubação estipulado (SOLÍS et al., 2012).

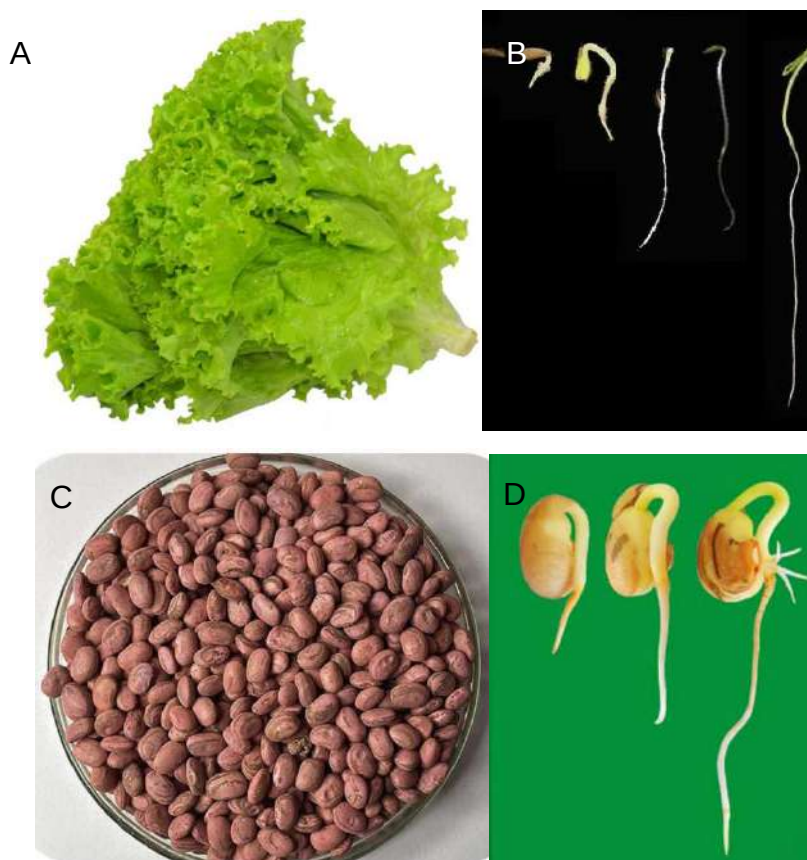
A escolha do método de avaliação de toxicidade utilizando invertebrados depende das características específicas da amostra e do corpo receptor que, em uma situação real, receberia o efluente tratado. No presente trabalho, foi adotada a espécie *Daphnia similis*, identificada como a mais adequada para as condições adotadas.

3.6.1.1 Fitotoxicidade: Modelos *Lactuca sativa* (alface) e *Phaseolus vulgaris* (feijão)

Os vegetais superiores formam um importante grupo de organismos utilizados em ensaios de toxicidade e de alterações genéticas provocadas por poluentes ambientais, sendo reconhecidos como excelentes indicadores de efeitos mutagênicos de ambientes com presença de substâncias tóxicas (FISKESJÖ, 1985; YI; MENG, 2003). Por serem altamente sensíveis e representativos, os ensaios de fitotoxicidade servem como um primeiro alerta para detectar a presença de perigo ambiental ocasionado pelos diferentes tipos de poluentes descartados no ambiente diariamente (ALMEIDA, 2013).

Entre os bioindicadores utilizados nos ensaios de fitotoxicidade, os organismos como *Chlorella vulgaris*, *Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus subspicatu*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris*, *Cucumis sativus* são comumente utilizados como fitoindicadores de toxicidade (COSTA et al., 2008; FRITZKE et al., 2020; LEGERSKÁ; CHMELOVÁ; ONDREJOVIČ, 2018; MOTA et al., 2015; SCHITTLER et al., 2018; SOBRERO; RONCO, 2008). Na figura 6 podem ser observadas as espécies *Lactuca sativa* e *Phaseolus vulgaris* em seu estado adulto e germinativo.

Figura 6- *Lactuca sativa* (A), Germinação de *Lactuca sativa* (B) , *Phaseolus vulgaris* (B), Germinação de *Phaseolus vulgaris* (D)

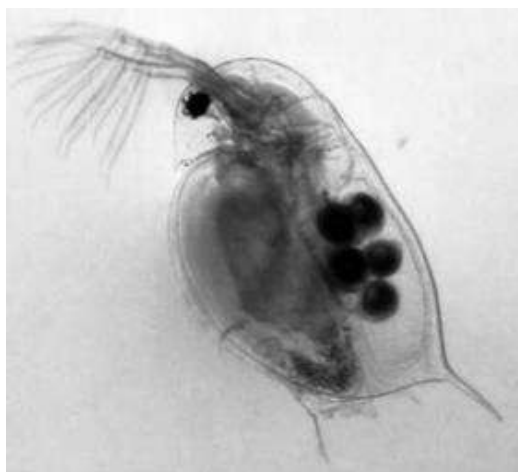


Fonte: Ceagesp (2024), Rossetti (2020), BRSeeds (2024), Embrapa (2018).

3.6.1.2 Citotoxicidade: Modelo *Daphnia similis*

A ecotoxicologia aquática avalia os efeitos de substâncias químicas sobre os organismos representativos do ecossistema aquático. Engloba o transporte, a distribuição, a transformação e o destino final dos contaminantes no ambiente aquático (COSTA et al., 2008). *Daphnia similis* é um microcrustáceo planctônico, com comprimento máximo de 3,5 mm, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão (ABNT, 2022). Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulga d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte (Figura 7). O efeito observado é a mobilidade dos organismos-teste expostos às amostras líquidas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água em um período de 48 h.

Figura 7- Exemplar de *Daphnia similis* com 7 a 14 dias de idade



Fonte: ABNT (2022)

O uso de dafnídeos apresenta diversas vantagens para ensaios de toxicidade de rotina, incluindo sua alta sensibilidade a substâncias tóxicas, ciclo reprodutivo curto e reprodução partenogenética (TOTHILL e TURNER, 1996).

No Brasil, os ensaios de ecotoxicidade com *Daphnia similis* seguem os critérios estabelecidos pela norma ABNT NBR 12713:2016 (edição atualizada em 2022). Segundo essa norma, os organismos utilizados devem ser neonatos com idade entre 6 e 24 horas, provenientes de fêmeas com idade entre 7 e 28 dias. A água de cultivo utilizada para o teste deve apresentar pH entre 7,0 e 7,6 e dureza total de 40 a 48 mg CaCO_3/L , garantindo condições ideais para a sobrevivência e reprodução dos organismos. Cada litro de água de cultivo pode conter até 25 indivíduos.

Os plânctons do gênero *Daphnia* são alimentados diariamente com algas, e as amostras de efluentes são submetidas a várias diluições para os ensaios de toxicidade. Ao final do período de exposição, é calculado o Fator de Toxicidade (FT), que é expresso pelo Fator de Diluição (FD) correspondente à maior concentração da amostra na qual a imobilidade dos organismos não excede 10% (ABNT, 2022).

Os resultados do teste são registrados em um Laudo Técnico que contém informações detalhadas, como o resultado do ensaio, o intervalo de confiança de 95% (quando aplicável) e o método estatístico utilizado. Além disso, o resultado pode ser expresso de forma qualitativa, conforme os critérios estabelecidos pela norma (ABNT, 2022).

3.7 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL

Muitos países permitem emissões com níveis de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) de até 200 a 600 mg/L e de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) entre 40 e 4.000 mg/L. No entanto, poucos têm critérios bem definidos para esses tipos de efluentes. A França, por exemplo, exige um rigoroso controle das tinturarias em relação tanto aos poluentes orgânicos quanto aos inorgânicos, monitorando parâmetros como pH, temperatura, cor, DBO, COD, enxofre, nitrogênio, cloreto, fluoreto, sulfato, hidrocarbonetos, óleos e graxas, detergentes, cianetos, boro, fenóis, halogênios, compostos orgânicos, cromo total, cromo (VI), cobre, manganês, níquel, chumbo, estanho e zinco (ZANONI e YAMANAK, 2016).

Quanto à exportação de produtos têxteis e de couro, a Diretriz 2004/21/CE da União Europeia (que trata sobre limitações ao uso de corantes azóicos em artigos têxteis e de couro) e adotada pelo INMETRO, em vigor desde janeiro de 2005, limita a comercialização de artigos acabados que contenham corantes azo que, por clivagem redutora, possam liberar aminas aromáticas em concentrações superiores a 30 ppm (CBI, 2011). A diretriz visa atender às exigências da comunidade europeia para proteger a saúde pública, já que a exposição prolongada a essas substâncias pode induzir à instabilidade genômica e à formação de tumores. Preocupadas com possíveis prejuízos para os exportadores brasileiros, a ABIT (Associação Brasileira de Têxteis e Confecções) e a ABIQUIM (Associação Brasileira da Indústria Química) têm incentivado as empresas a atenderem essa diretriz, proibindo a produção e comercialização de tais corantes para têxteis e couro (INMETRO, 2004; ZANONI e YAMANAK, 2016).

No Brasil, a Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005 define os padrões para lançamento de efluentes, classificação dos corpos d'água e limites para a presença de compostos, incluindo corantes (BRASIL, 2005). Para águas doces de classe 2, destinadas ao consumo, lazer e irrigação, o artigo 15 estabelece que não é permitida a presença de corantes de origem antrópica que não possam ser removidos por coagulação, sedimentação e filtração convencionais, limitando a concentração a até 75 mg Pt/L (miligramas de platina por litro).

Além disso, os estados brasileiros têm autonomia para definir parâmetros

mais específicos conforme suas particularidades geográficas, econômicas e sociais. O Quadro 5 apresenta os parâmetros nacionais e estaduais vigentes no Brasil.

Quadro 5- Parâmetros para lançamento de efluentes líquidos

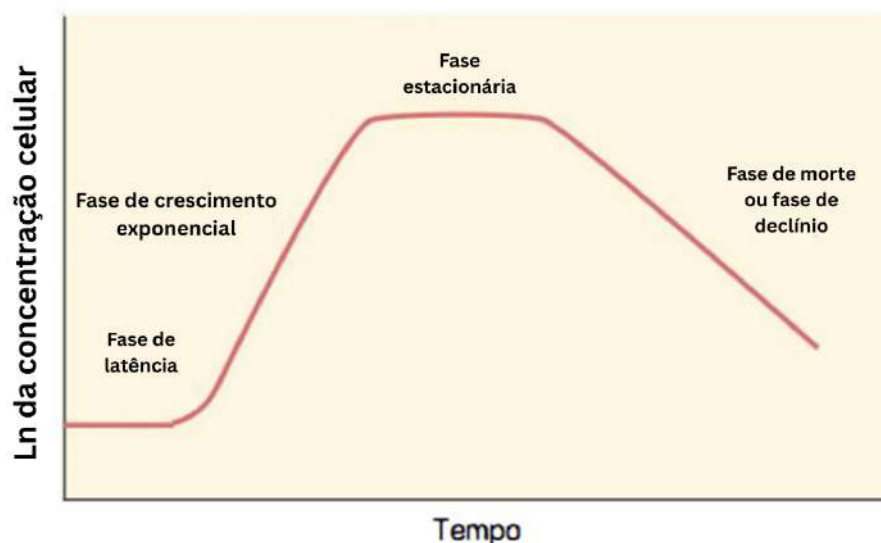
	Federal	RJ		SP	SC	PE
Parâmetro	CONAMA 357	DZ- 205	NT- 202	Dec. Lei 8468	Dec. Lei 14250	Dec. Lei 7269
pH	5,0- 9,0	-	5,0-9,0	5,0-9,0	6,0-9,0	5,0-9,0
Sólidos Sedimentáveis (ml/L)	1,0	-	1,0	1,0	< 1,0	< 1,0
Sólidos flutuantes (mg/L)	Ausente	-	Ausente	-	-	Ausente
DBO _{5,20} (%)	-	-	-	Máx. 60 (red. 80)	60	-
DQO (mg/L)	-	200	-	-	-	-
Cor (mg Pt/L)	75	-	Ausente	-	-	-

Fonte: BILA (s.d.) adaptado de Cprh (2001)

3.8 CRESCIMENTO MICROBIANO

O crescimento consiste no aumento ordenado da soma de todos os componentes de um organismo, o que leva a um aumento no número de indivíduos que compõem uma população ou cultura (RIEDEL, et al., 2020). O crescimento dos microrganismos ocorre somente quando certas condições físicas e químicas são satisfeitas, tais como: pH, temperatura e nutrientes (VIEIRA e FERNANDES, 2012).

O crescimento microbiano possui quatro fases básicas de crescimento: a fase lag, a fase log, a fase estacionária e a fase de morte celular (Figura 8).

Figura 8- Curva de crescimento microbiano

Fonte: Adaptado de Riedel, et al. (2020)

A fase lag é uma etapa de ajuste que representa o período necessário para quadro das células ao novo ambiente, especialmente em casos de substratos tóxicos, como os corantes. Durante essa fase, as células aumentam seu volume total em até duas a quatro vezes, mas não se dividem. Elas sintetizam DNA, novas proteínas e enzimas, que são essenciais para a divisão celular (UFS - Universidade Federal de Sergipe, 2023).

Na exponencial, ocorre uma rápida divisão celular, e os microrganismos crescem em progressão geométrica (VIEIRA e FERNANDES, 2012). Essa fase tende a terminar devido à depleção de nutrientes essenciais, diminuição de oxigênio em culturas aeróbias, ou acúmulo de produtos tóxicos (UFS, 2023).

A fase estacionária ocorre quando há uma escassez de nutrientes, e o número de mortes celulares se iguala ao de novas células, resultando em um equilíbrio populacional (VIEIRA e FERNANDES, 2012). A energia necessária para manter as células nessa fase, chamada de energia de manutenção, é obtida pela degradação de produtos de armazenamento celular, como glicogênio, amido e lipídios (UFS, 2023).

Por fim, a fase de morte ou declínio é o período em que a taxa de morte dos microrganismos supera a de formação de novas células (VIEIRA e FERNANDES, 2012).

3.8.1 Biodegradação e biodescoloração de corantes por fungos filamentosos

Fungos e bactérias são reconhecidos como agentes essenciais na decomposição de matéria orgânica na natureza devido à sua digestão extracorpórea. Suas enzimas digestivas são excretadas no ambiente, permitindo que os nutrientes sejam absorvidos posteriormente, desempenhando assim um papel fundamental no ciclo da vida (SILVA e COELHO, 2006). De acordo com Tortora et al. (2017), os fungos apresentam várias vantagens em relação às bactérias, o que pode torná-los preferíveis para biodegradação, especialmente pelas seguintes características:

- Tendem a crescer melhor em ambientes com pH próximo a 5,0, o que é muito ácido para a maioria das bactérias comuns.
- Quase todos os fungos filamentosos são aeróbios.
- São mais resistentes à pressão osmótica em comparação às bactérias; muitos podem crescer em altas concentrações de sal ou açúcar.
- Podem se desenvolver em substâncias com baixo grau de umidade, nível que impede o crescimento bacteriano.
- Requerem menos nitrogênio para crescer em quantidade equivalente ao das bactérias.
- São frequentemente capazes de metabolizar carboidratos complexos, como a lignina (componente da madeira), que a maioria das bactérias não consegue usar como nutriente.
- Fungos filamentosos têm alta capacidade de secretar um conjunto diversificado de proteínas, o que impulsiona seu uso intensivo na produção de enzimas industriais (RIGO, 2020).

Além disso, os fungos que decompõem madeira podem ser classificados em três tipos principais, dependendo do tipo de podridão que causam: fungos de podridão branca, fungos de podridão parda e fungos de podridão mole. Essa classificação é

ilustrada no Quadro 6.

Quadro 6- Classificação dos fungos segundo a podridão da madeira

Grupo	Filo	Degradação da lignina	Ambiente	Alguns gêneros
Fungos de podridão branca	Basidiomicetos	Mineralização da lignina, deslignificação seletiva ou não seletiva	Principalmente madeiras folhosas	<i>Phanerochaete, Phlebia, Trametes</i>
Fungos de podridão parda	Basidiomicetos	Modificação da lignina	Principalmente coníferas	<i>Poria, Polyporus</i>
Fungos de podridão mole	Ascomicetos	Degradação limitada de lignina	Ambientes aquáticos, madeira com umidade elevada, serrapilheira	<i>Chaetomium, Paecilomyces, Fusarium</i>

Fonte: Almeida (2018) adaptado de Tuomela et al. (2000).

Fungos de podridão branca formam um grupo heterogêneo de fungos pertencentes ao filo Basidiomycota. Estima-se que mais de 90% dos basidiomicetos que decompõem madeira sejam fungos de podridão branca (FARACO et al., 2009; SEN et al., 2016). O complexo ligninolítico produzido por esses fungos vem sendo amplamente estudado, e os resultados indicam que muitas espécies desse grupo são capazes de degradar a lignina e suas ligações resistentes, além de promover a biodegradação de corantes (ISROI et al., 2011; ANASTASI et al., 2011).

No entanto, o tratamento de águas residuais da Indústria Têxtil com fungos de podridão branca apresenta algumas limitações, como a necessidade de valores de pH baixos, uma longa fase de crescimento, maior tempo de retenção hidráulica para a descoloração completa e o grande tamanho do reator necessário (SINGH e ARORA, 2011; NILSSON et al., 2006; BLÁNQUEZ et al., 2008; ŁEBKOWSKA e ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ, 2014).

Os fungos de podridão parda, por outro lado, degradam apenas parcialmente a lignina. Durante essa degradação, o teor de hidroxila fenólica na mistura de reação aumenta devido à oxidação parcial e à produção de novos grupos carbonila e carboxila, resultando na degradação da lignina por um processo de humificação.

Nesse processo, os resíduos de lignina são convertidos em ácidos fúlvico e húmico. Ao final da degradação, os anéis aromáticos permanecem preservados, enquanto os carboidratos são removidos, deixando um resíduo de lignina de cor marrom escura (HATAKKA; HAMMEL, 2011; GOODELL, 2003).

A utilização dos fungos na biodegradação e descoloração de corantes quando comparada aos Processos Oxidativos Avançados, demonstra vantagens principalmente com relação aos custos para operação do sistema. Os processos oxidativos avançados apresentam como desvantagem o uso de energia elétrica e a necessidade de manutenção dos reatores (LOCATELLI, 2011).

3.8.2 Enzimas envolvidas no processo de biodegradação

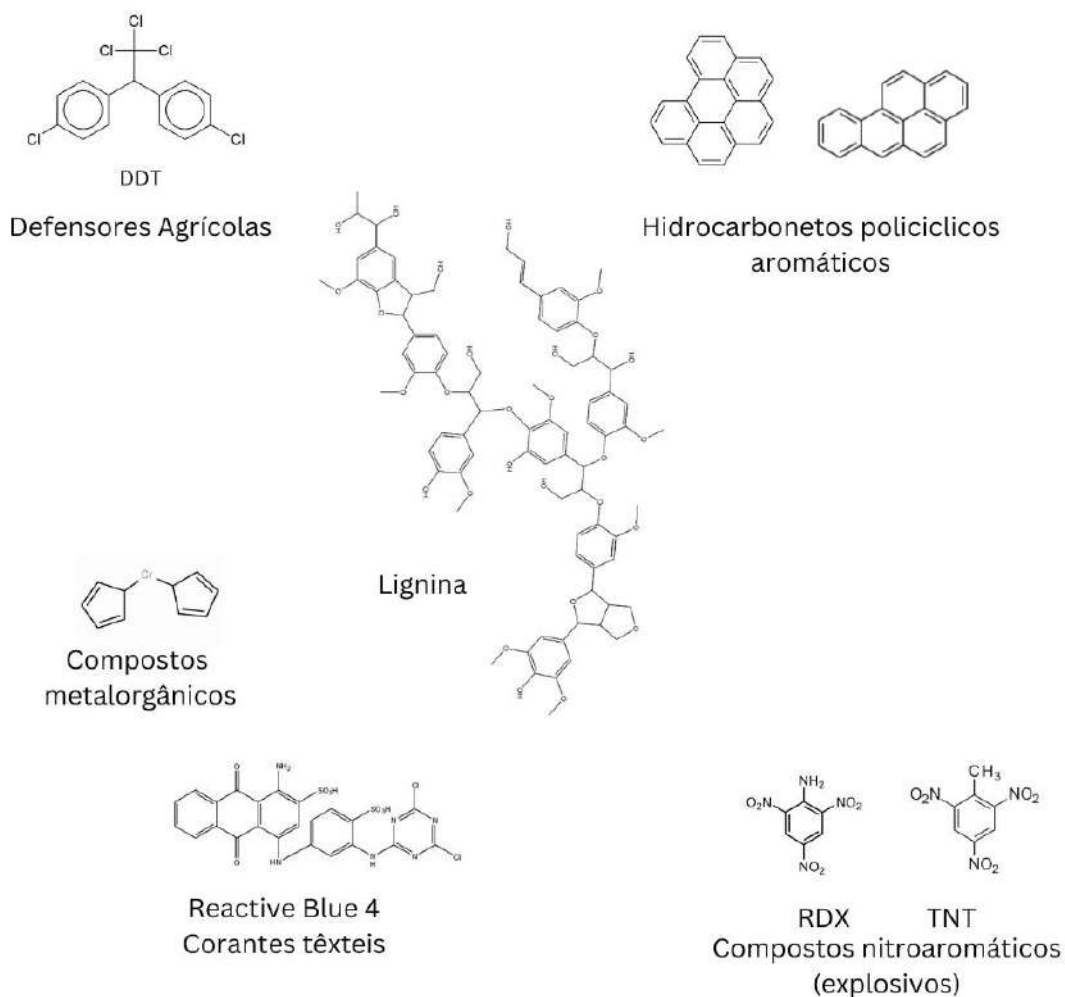
Enzimas são biocatalisadores de natureza proteica extraídos de células que aceleram a taxa de reações químicas, reduzindo a energia de ativação necessária. Sua ampla aplicabilidade desperta o interesse de setores como as indústrias química, farmacêutica e alimentícia (HETTIARACHCHY et al., 2018; ASHKAN et al., 2021; DENTI, 2021). A capacidade das enzimas de acelerar reações sem aumento de temperatura é essencial para os sistemas vivos, pois o aquecimento excessivo poderia danificar as proteínas celulares. Além da temperatura, outros fatores influenciam a atividade enzimática, como pH, concentração de substrato e presença ou ausência de inibidores (TORTORA et al., 2017).

Dentre as espécies fúngicas, os fungos de podridão branca recebem grande atenção na biodegradação devido às suas enzimas oxidativas extracelulares relativamente inespecíficas, como lacase (Lac), lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP) (ANASTASI et al., 2011; KAUSHIK e MALIK, 2009). Esses basidiomicetos iniciam a mineralização da lignina utilizando essas enzimas oxidativas para clivar o biopolímero recalcitrante (HATAKKA e HAMMEL, 2011). A lignina é uma macromolécula aromática altamente resistente à ação química e biológica (WESENBERG et al., 2003).

De acordo com Niebisch (2009), a baixa especificidade das enzimas Lac, LiP e MnP permite que degradem um amplo espectro de poluentes recalcitrantes que possuem similaridades estruturais com a lignina, incluindo corantes têxteis, como

ilustrado na Figura 9. Em função dessa capacidade, essas enzimas foram selecionadas para a avaliação da atividade enzimática no presente estudo.

Figura 9- Comparação entre as estruturas de um segmento da molécula de lignina e alguns poluentes.



Fonte: Niebisch (2009) com adaptações.

Dentre as enzimas destacadas, a lacase (Lac) (EC 1.10.3.2) tem a capacidade de oxidar compostos químicos em águas residuais, processo que ocorre com a liberação de oxigênio molecular (ADAMIAN et al., 2021; HSU et al., 2012; ZHUO e FAN, 2021). Isso tem elevado a demanda por Lac em diversas aplicações biotecnológicas, como biorremediação, biossensoriamento, síntese química e na fabricação de produtos farmacêuticos, cosméticos e papel para celulose (ALAM et al.,

2023).

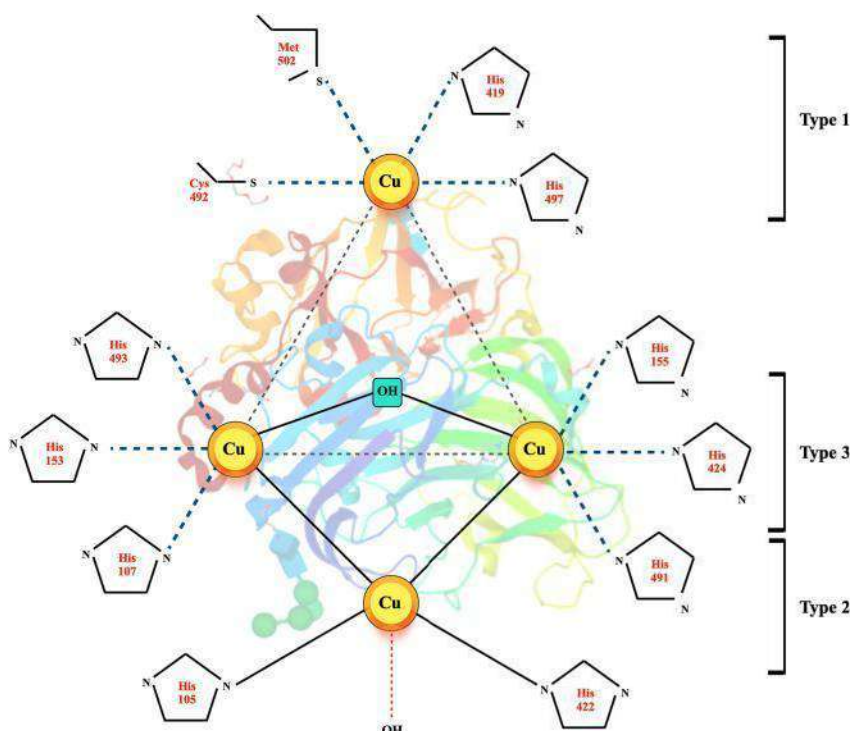
As enzimas manganês peroxidase (MnP) (E.C. 1.11.1.13) e lignina peroxidase (LiP) (EC 1.11.1.7), são glicoproteínas que contêm ferro heme como grupo prostético e requerem H_2O_2 para sua atividade catalítica, compartilhando ciclos catalíticos similares (ESPOSITO e DE AZEVEDO, 2004). De acordo com De Jong et al. (1992), a combinação de MnP com lacase ou lignina peroxidase representa o sistema enzimático mínimo necessário para a degradação eficiente da lignina.

3.8.2.1 Lacase

As lacases são benzenodiol oxidoredutase, metabólitos secundários produzidos sob condições limitadoras de crescimento com nitrogênio, que podem oxidar vários compostos fenólicos e não fenólicos, incluindo fenóis clorados, dioxinas, herbicidas, pesticidas, cresóis, produtos farmacêuticos, corantes sintéticos, produtos de higiene pessoal, etc (SHEKHER et al, 2011; MORSI, et al, 2020).

As lacases são amplamente utilizadas em processos industriais, como biolixiviação na indústria de celulose e papel, branqueamento de corantes têxteis, biotransformação, clarificação de suco de frutas e vinho e detecção de poluentes fenólicos (SHEKHER et al, 2011), e também em aplicações ambientais como descoloração de corantes, entre outras (SHOKRI et al, 2023; ZHANG et al, 2021; AGRAWAL, VERMA, 2019).

Na Figura 10 pode ser observada a estrutura da Lacase. O cobre T1 atua como oxidação do substrato local devido ao seu alto potencial redox com orientação trigonal. O cobre T2 e T3 efetua a liberação de água pela redução de oxigênio (PARDO e CAMARERO, 2015). O cobre localizado no sítio T1 é o responsável pela forte absorção da enzima na faixa dos 600 nm; no entanto já foram descritas lacases deficientes de cobre em T1, chamadas de lacases brancas, devido à ausência da absorbância característica na faixa do azul (BALDRIAN, 2006; DURÁN; ESPOSITO, 2000; MOUGIN et al., 2003).

Figura 10- Estrutura da Lacase

Fonte: Jeyabalan et al (2023)

A lacase destaca-se por sua estabilidade, assegurada pela porção de carboidrato em sua estrutura, que fornece estabilidade conformacional e resistência contra proteólise e radicais livres (MAESTRE-REYNA et al., 2015). Diversos fungos já foram identificados como produtores de lacase, com os fungos da podridão branca sendo os mais comuns entre eles (EL-BATAL et al., 2015). As lacases fúngicas são particularmente eficazes na degradação de compostos, mas sua atividade é restrita a certas condições ambientais, pH na faixa ácida (3,5 a 5,5) e temperatura entre 30 a 55 °C (SENTHIVELAN et al., 2016).

Estudos indicam que o uso de glicose como co-substrato nutricional, em conjunto com fontes de carbono mais complexas, pode potencializar a produção de lacase. Por exemplo, Baptista et al. (2012) utilizaram um meio de cultivo Sabouraud com glicose como controle e óleo diesel como indutor, observando uma variação na atividade enzimática de lacase entre 4.350 U/L e 4.620 U/L, com produção mais alta pelos fungos *Cunninghamella echinulata* e *Penicillium commune*.

Dependendo da técnica de cultivo, as lacases podem sofrer inibição. Mtibaá

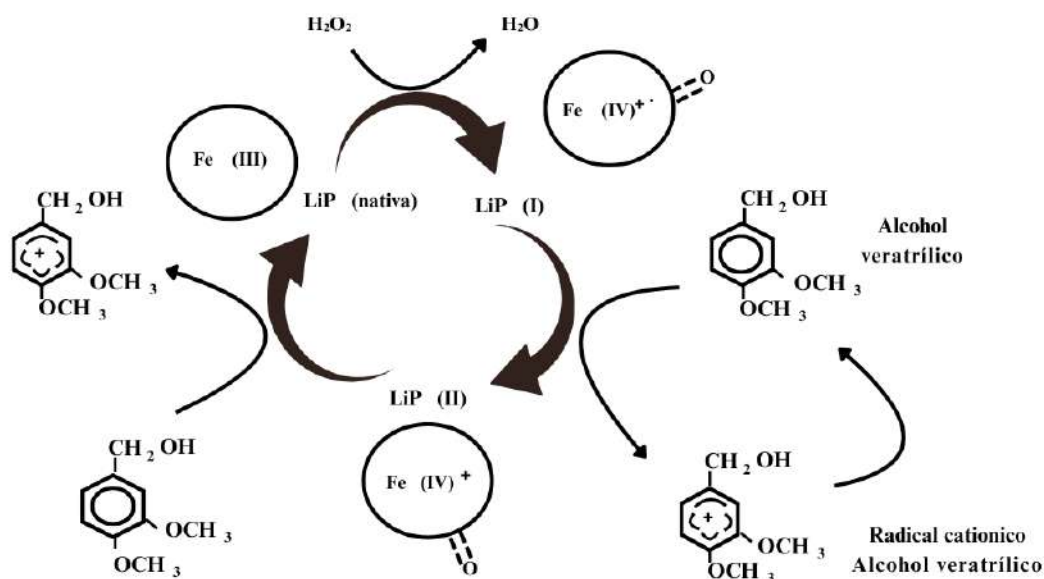
et al. (2018) verificaram que, na fermentação em estado sólido com *Thielavia* sp., o íon Mn^{2+} , nas concentrações de 5 e 10 mM, atuou como um indutor da atividade de lacase, enquanto os íons Hg^{2+} e Fe^{2+} agiram como inibidores. Da mesma forma, YIN et al. (2017), ao utilizarem fermentação submersa com *Abortiporus biennis*, relataram que os íons Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+} , Ag^{+} e Zn^{2+} , na concentração de 10 mM, atuaram como inibidores da atividade de lacase.

Além disso, Schalleberger et al. (2021), em estudos sobre a resistência da lacase a sais da Indústria Têxtil, testaram misturas de efluentes contendo os corantes Vermelho Reativo 158 e Preto Reativo 5. Eles observaram que o sal Na_2SO_4 não inibiu a atividade da lacase, enquanto a inibição causada pelo NaCl foi considerada baixa.

3.8.2.1 Lignina Peroxidase

A Lignina Peroxidase é uma glicoproteína que contém cerca de 20-30% de glicosilação e é dependente do peróxido de hidrogênio, contudo o excesso desta substância pode inativá-la. A inativação também pode ocorrer como consequência de forte agitação. Esta enzima apresenta ferroprotoporfirina IX (heme) como grupo prostético, consegue romper ligações C-C e C-O, polimerizar fenóis (FIECHTER, 1993; DURAN e ESPOSITO, 1997). O ciclo catalítico da LiP pode ser observado na Figura 11.

A molécula contém um grupo prostético heme e sua ação depende da presença de H_2O_2 . O H_2O_2 , primeiramente oxida a enzima e o intermediário oxidado retira um elétron de núcleos aromáticos formando radicais aril, que se decompõem espontaneamente via reações de caráter iônico e radicalar (KIRK e FARREL, 1987). A enzima catalisa a oxidação de um elétron de compostos não fenólicos aromáticos com um alto potencial de redução, através da formação de um substrato com radical catiônico (KERSTEN et al., 1985; SCHOEMAKER et al., 1985).

Figura 11- Ciclo catalítico da Peroxidase da lignina (LiP)

Fonte: Moreira Neto (2006)

No ciclo catalítico da LiP, o ferro (III) é oxidado a ferro (IV), pelo peróxido de hidrogênio, formando o composto I que é capaz de oxidar a lignina e compostos relacionados. Por meio da transferência de um elétron é formado o composto II e, em presença de um agente redutor a enzima volta à condição nativa, entretanto, o excesso de peróxido de hidrogênio torna o composto II inativo (MARTÍNEZ, 2002).

A LiP é um importante componente do sistema ligninolítico dos fungos, pois apresenta o maior potencial redox. Porém, nem todos os fungos ligninolíticos a secretam, pelo menos, em determinadas condições de cultivo (RAGHUKUMAR et al. 1999, CAMELO et al. 1999, D'SOUZA et al. 1999). O Álcool veratrílico é utilizado como o principal mediador redox para a determinação da atividade dessa enzima devido ao fato de apresentar um elevado potencial redox e não possui uma estrutura fenólica (FALADE et al., 2016).

3.8.2.1 Manganês Peroxidase

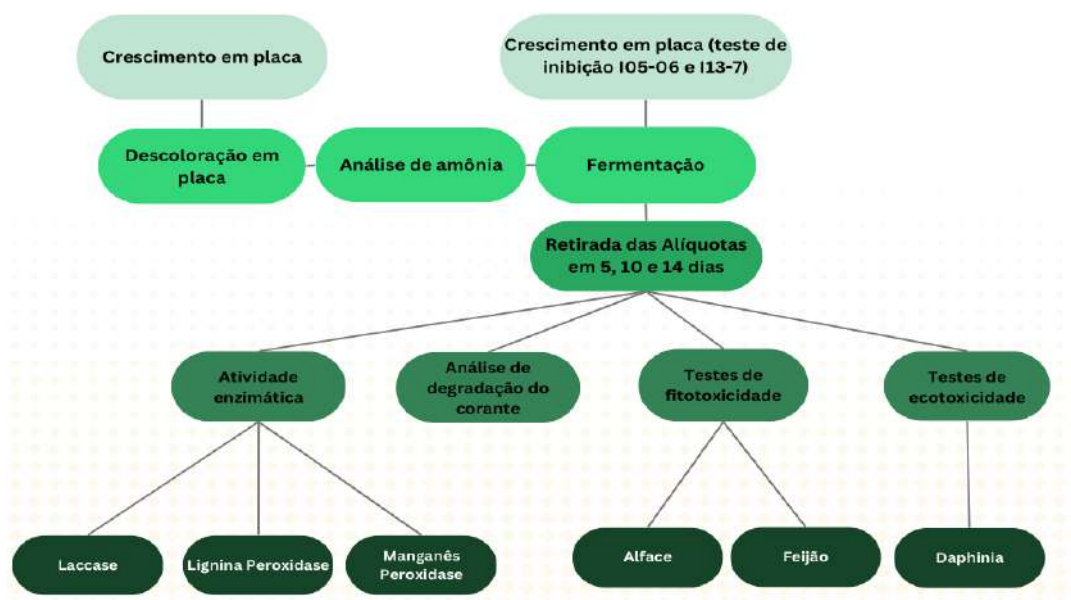
A manganês peroxidase (MnP) é uma enzima extracelular, glicosilada, de massa molecular de 45-47 kDa e possui um grupo prostético heme. É dependente de peróxido de hidrogênio e do íon Mn^{+2} e α -cetoácidos como lactato são responsáveis

Mn²⁺ no sítio ativo da enzima e a liberação de outra molécula de água (HOFRICHTER, 2002).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos deste projeto foram realizados no Laboratório de Ecologia e Processos Microbianos (LEPM) da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). A seguir, apresenta-se um resumo do procedimento experimental adotado (Figura 13).

Figura 13- Fluxograma experimental



Fonte: Autoria própria

4.1 MICRORGANISMOS UTILIZADOS

Os fungos filamentosos utilizados neste experimento foram inicialmente isolados do Parque Nacional de Itatiaia, localizado no município de Itatiaia, Rio de Janeiro, e pertencente ao bioma Mata Atlântica, com localização correspondente as coordenadas 22°22'00"S 44°38'39"W. Os fungos foram selecionados e isolados do local, sem contaminação prévia, pelos alunos do Laboratório de Ecologia e Processos Microbianos (LEPM) e foram utilizados em pesquisas anteriores ao presente trabalho.

Após a coleta, esses fungos foram preservados em água estéril utilizando o método Castellani e armazenados na Coleção de Culturas do laboratório da Escola de Química da UFRJ.

As linhagens foram identificadas por Dos Santos (2018) e Do Nascimento (2019) como sendo pertencentes aos gêneros *Penicillium* (linhagens I05-01 e I13-07), *Trichoderma* (linhagem IS10-08) e *Aspergillus* (linhagem I05-06). A escolha dessas linhagens fúngicas baseou-se no seu potencial para degradar compostos aromáticos, conforme evidenciado por estudos anteriores realizados pela equipe do laboratório.

A ativação das linhagens fúngicas foi realizada conforme a metodologia descrita por Do Nascimento (2019), utilizando meio Ágar Dextrose-Batata (PDA). Este meio é composto por 200 g/L de batata picada, 5 g/L de glicose, 2 g/L de extrato de levedura e 18 g/L de ágar, com o pH ajustado para 5,5. As culturas foram incubadas em estufa a 28°C por um período de sete dias.

4.2 SELEÇÃO DAS LINHAGENS FÚNGICAS DEGRADADORAS DE CORANTES

Inicialmente, foi realizado um *screening* utilizando meio sólido de ágar batata-dextrose (BDA), pH 5,5, suplementado com os corantes têxteis Direct Yellow 27, Reactive Black 5 e Alaranjado de Metila, nas concentrações de 50 e 100 ppm, em sistemas separados e individualizados. Primeiramente as linhagens fúngicas a serem testadas foram ativadas em meio BDA por sete dias a 28°C. Após esse período, a inoculação das placas contendo meio BDA suplementado com os respectivos corantes supracitados, foi realizada com auxílio de cotonetes esterilizados e umedecidos com solução glicerol 30%. Esses cotonetes foram usados para carimbar as placas, na região central, com esporos/hifas das linhagens fúngicas.

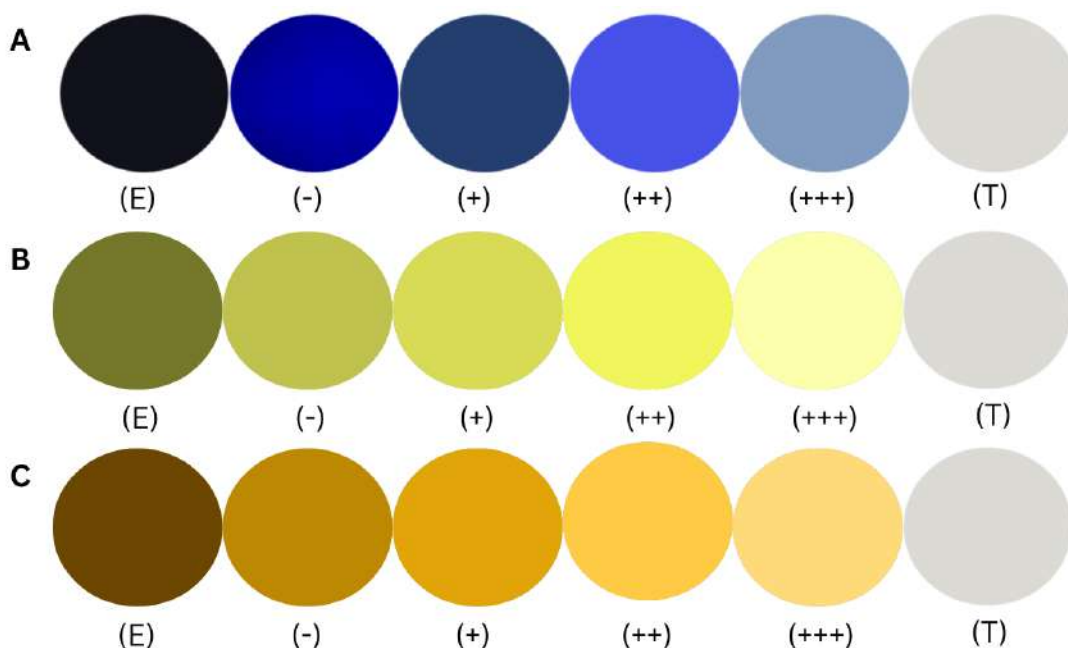
As placas inoculadas com meio BDA e corantes foram incubadas em estufa a 28°C por 14 dias. As avaliações foram realizadas em dois momentos: aos sete dias e aos 14 dias. Durante essas leituras, foram feitas medições do tamanho da colônia e do halo de degradação, além da observação de possíveis mudanças de tonalidade ou descoloração. Em ambos os momentos, foram registrados fotografias das culturas, juntamente com os respectivos controles negativos, que consistiam em placas de meio suplementado com corante sem inóculo microbiano. Todas as linhagens de fungos foram testadas isoladamente para cada um dos três corantes (GOMES e

RIBEIRO, 2016).

A análise da descoloração promovida pelos fungos na etapa de screening foi realizada de forma visual, comparando as placas inoculadas aos respectivos controles negativos. A capacidade de descoloração dos fungos foi classificada em seis níveis: (-) ausência de degradação do corante; (+) fraca degradação do corante; (++) média degradação (transparência parcial); (+++) forte degradação do corante; (E) escurecimento do meio sólido; (T) transparência completa (meio retornou à sua coloração natural).

Essa classificação segue o trabalho de Gomes e Ribeiro (2016) com adaptações de Dos Santos (2018), conforme ilustrado na Figura 13. Na Figura 14(A), está representada a escala para o corante Reactive Black 5; na Figura 14(B), a escala para o Direct Yellow 27; e na Figura 14(C), a escala para o Alaranjado de Metila. Além disso, foram medidos os tamanhos da colônia e do halo em centímetros, a fim de acompanhar o crescimento dos fungos e verificar se apresentaram resistência ao meio.

Figura 14- Escala ilustrativa para classificação dos níveis de descoloração



Fonte: Gomes e Ribeiro (2016) com adaptações

4.3 CULTIVO SUBMERSO

Duas linhagens fúngicas, a I05-06 e a I13-07, consideradas promissoras na etapa de descoloração dos corantes em placa, foram selecionadas para a etapa de cultivo submerso. Primeiramente as linhagens foram crescidas em meio BDA, pH 5,5 por sete dias a 28°C. Visando um possível cultivo misto, as duas linhagens foram crescidas no mesmo ambiente para avaliar o potencial de antibiose entre elas. Como corantes avaliados na etapa de cultivo submerso, foram utilizados os corantes Direct Yellow 27 e Reactive Black 5 em duas concentrações diferentes: 50 e 100 ppm.

Seguindo a metodologia adaptada de Almeida (2018) para ensaios de descoloração de corantes em sistema submerso, foram utilizados frascos cônicos tipo Erlenmeyers de capacidade de 500 mL, contendo 125 mL de caldo batata-dextrose, pH 5,5 suplementado com os respectivos corantes têxteis nas concentrações mencionadas, de forma individual.

O caldo batata-dextrose foi suplementado com 0,5 mL/L de uma solução de elementos traços, que continha 1,0 g/L de CuSO_4 , 0,7 g/L de ZnSO_4 , 2,5 g/L de FeSO_4 e 0,8 g/L de MnSO_4 . Para avaliar a presença de traços de amônia no meio de cultivo antes de adicionar os corantes, foi realizada a metodologia descrita por Do Nascimento (2023), adaptada de De Araújo Batista, Feitosa e Da Silva (2019). Para a montagem da curva de calibração, foi preparada uma solução aquosa de NH_4Cl (0,0108 g em 200 mL de água destilada).

A partir dessa solução “mãe”, foram realizadas diluições em série, com as seguintes concentrações: 1 mM, 0,5 mM, 0,25 mM, 0,125 mM, 0,0625 mM, 0,0313 mM, 0,01563 mM, 0,0078 mM, 0,0039 mM e 0,0020 mM. Cada solução de NH_4Cl foi suplementada com 1 mL de reagente de Nessler e visualmente comparada com o branco (contendo somente água destilada) e com a amostra do caldo batata-dextrose sem corante. Em seguida, alíquotas de 1 mL de cada amostra foram analisadas espectrofotometricamente a 425 nm e consequentemente quantificar a presença de NH_4Cl no meio.

Após esterilização dos frascos em condições de autoclavação e resfriamento a temperatura ambiente, os Erlenmeyers foram inoculados com dois slots (0,5cm de diâmetro) contendo crescimento fúngico (sete dias a 28°C) e os frascos então

submetidos à incubação sob agitação orbital de 180 rpm por 14 dias à 28°C. Os ensaios foram conduzidos em duplicata e como controle negativo foi utilizado um Erlenmeyer contendo meio caldo-dextrose com corante e sem inóculo. Alíquotas de 3,0 mL foram retiradas dos controles no dia 0, e alíquotas de 6,0 mL foram retiradas dos frascos inoculados com as linhagens de fungos após 5, 10 e 14 dias. As alíquotas foram então centrifugadas a 2.900 rpm por 10 minutos e o sobrenadante obtido armazenado para ensaios analíticos posteriores.

O ensaio de cultivo submerso foi dividido em duas bateladas, com o objetivo de avaliar a capacidade de descoloração de corantes têxteis em concentrações diferentes (50 ppm e 100 ppm) pelas linhagens fúngicas pre-selecionadas. Em cada batelada, foram testadas três configurações de cultivo: (1) um consórcio formado pelas duas linhagens fúngicas que apresentaram os melhores resultados no screening de descoloração; (2) cultivo individual da linhagem I05-06; (3) cultivo individual da linhagem I13-07. Cada uma dessas configurações foi realizada em duplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados e comparada com um controle sem a presença de fungos, contendo apenas o meio de cultura suplementado com corantes nas concentrações mencionadas.

4.4 DETERMINAÇÃO DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE

A porcentagem de descoloração dos corantes foi determinada com base na redução do pico de absorbância no comprimento de onda máximo correspondente a cada corante, conforme descrito por Oliveira et al. (2010). As medições foram realizadas utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, com análise espectral dos comprimentos de onda entre 200 e 700 nm, conduzida pelo software UVProbe. A eficiência de descoloração foi calculada de acordo com a Equação 1:

$$\% \text{ descoloração} = 1 - \left(\frac{\text{valor de absorbância da amostra}}{\text{valor de absorbância do controle}} \right) \times 100 \quad (1)$$

A descoloração foi considerada alta para valores superiores a 80%, média para valores entre 50% e 80%, e baixa quando inferior a 50%.

4.5 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Foram realizados ensaios analíticos espectrofotométricos para detectar a presença das atividades enzimáticas de Lacase, Lignina Peroxidase e Manganês Peroxidase nos sobrenadantes obtidos a partir do cultivo submerso.

A determinação da atividade de Lacase foi realizada seguindo a metodologia de Dos Santos (2022). Em cubeta de 1,0 mL foram adicionadas 10,0 µL do sobrenadante, 600,0 µL de solução ABTS (0,4 mM) e 380,0 µL de tampão Citrato (0,15 mM, pH 4,5 e temperatura a 25°C). O sistema reacional foi analisado diretamente no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 420 nm e a alteração da absorvância anotada ao longo de 5 minutos ou até que o mesmo valor se repita por 5 vezes, indicando estabilidade da reação.

A determinação da atividade de Ligninina Peroxidase foi realizada seguindo a metodologia de Roushdy (2011). Em cubeta de 1,0 mL foram adicionados 0,2 mL de sobrenadante, 0,2 mL de solução H₂O₂ (20 mM), 0,2 mL de álcool veratrílico (4 mM) e 0,4 mL de tampão Tartarato (pH 3,0, 9.300 mM cm⁻¹). O sistema reacional foi analisado diretamente no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 310 nm e a alteração da absorvância anotada ao longo de 5 minutos ou até que o mesmo valor se repita por 5 vezes, indicando estabilidade da reação.

A determinação da atividade de Manganês Peroxidase foi realizada seguindo a metodologia de Do Nascimento (2023). Em cubeta de 1,0 mL foram adicionados 0,05 mL de solução H₂O₂ em tampão de Succinato (20 mM e pH 4,5), 0,1 mL de lactato de sódio, 0,2 mL de solução Albumina, 0,5 mL de sobrenadante, 0,1 mL de solução vermelho de fenol, 0,04 mL de solução NaOH (6,5 M) e 0,05 mL de solução MnSO₄ (2mM), analisados a 610 nm após 5 minutos com todos os componentes exceto o NaOH, após os 5 minutos colocado o NaOH e registrado o tempo zero.

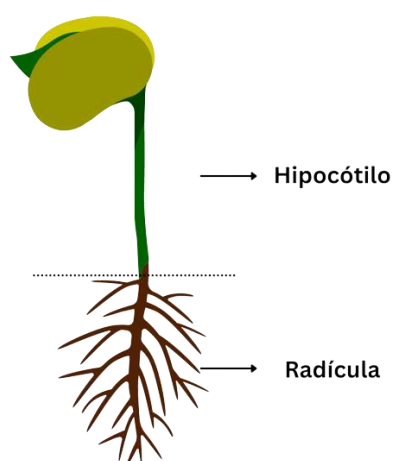
4.6 TESTE DE FITOTOXICIDADE EM *Lactuca sativa* E *Phaseolus vulgaris*

Para a realização do teste de toxicidade com Alface (*Lactuca sativa*), sachês contendo sementes livres de agrotóxicos, da marca KORIN® (validade Setembro/2024) foram utilizados. Os ensaios foram realizados conforme metodologia descrita por Sobrero e Ronco (2004), com adaptação de Almeida (2018). Foram

realizados os ensaios de fitotoxicidade apenas para os sobrenadantes das fermentações mistas (linhagens fúngicas I05-06 e I13-07).

Dez sementes de *Lactuca sativa* foram dispostas igualmente espaçadas em placas de Petri de 9,0cm de diâmetro contendo papel filtro qualitativo embebido em 4,0ml de cada amostra líquida a ser analisada. Os ensaios foram realizados em duplicata e placas contendo água destilada foram consideradas como controle negativo. Após a montagem do sistema em placas, essas foram fechadas com filme plástico para manter a umidade e incubadas no escuro a 28°C por 10 dias. Ao final do tempo de incubação, foram analisados os seguintes parâmetros: (i) taxa de germinação (TG), que representa a percentagem de sementes germinadas em relação ao número total de sementes, e (ii) crescimento vegetal (CV), que corresponde ao comprimento da radícula + hipocótilo (Figura 15).

Figura 15- Esquema de crescimento do vegetal



Fonte: Autoria própria

Para os ensaios de fitotoxicidade com sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), utilizou-se sementes orgânicas da marca Mãe Terra®, seguindo a metodologia de Tiquia et al. (1996) com adaptações. Inicialmente, as sementes foram desinfetadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 1,0% e enxaguadas com água destilada estéril. As sementes foram então dispostas em placas de Petri preparadas com papel filtro embebido em 5,0 mL do sobrenadante das fermentações. Em cada placa, foram colocadas 10 sementes de forma equidistante sobre o papel umedecido. Foram também preparadas placas de controle: uma com 5,0 mL de solução de corante sem

crescimento fúngico (controle positivo) e outra com 5,0 mL de água destilada apenas (controle negativo). Foram realizados os ensaios de fitotoxicidade para feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com os sobrenadantes das fermentações mistas e individuais das linhagens fúngicas I05-06 e I13-07. Todos os ensaios foram realizados em duplicata, a temperatura ambiente ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) por sete dias. Após esse período, três aspectos foram avaliados: percentual de germinação das sementes, percentual de crescimento da raiz e o índice de germinação.

O esquema de preparo das placas para teste de fitotoxicidade tanto com sementes de alface quanto de feijão pode ser observado na Figura 16.

Figura 16- Esquema do teste com *Lactuca sativa* e *Phaseolus vulgaris*



Fonte: Autoria própria

4.7 TESTE DE CITOTOXICIDADE EM *Daphnia similis*

Os ensaios de ecotoxicidade utilizando o organismo-teste *Daphnia similis* foram realizados pelo LABTOX - Laboratório de Análise Ambiental Ltda., seguindo a metodologia descrita na norma ABNT-NBR 12.713:2022 – Ecotoxicologia

aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Ordem: Cladocera, Classe: Branchiopoda, Filo: Arthropoda) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2022). O preparo das amostras seguiu a norma ABNT-NBR 15.469:2021 – Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras.

O ensaio ecotoxicológico agudo avaliou o efeito das amostras na mobilidade dos organismos, com os resultados expressos como CE(I)50;48h (concentração inicial que afeta a mobilidade de 50% dos organismos em 48 horas). O cálculo dos resultados foi realizado pelo método de Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al., 1977). As amostras enviadas para análise consistiam em soluções refrigeradas contendo os corantes Reactive Black 5 e Direct Yellow 27 a 100 ppm, tanto em controle quanto após tratamento com o fungo I13-07. Segundo a norma, a solução teste foi diluída em concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 mg.L⁻¹. Para cada diluição, foram testados 20 organismos, que permaneceram expostos às amostras por 48 horas. Os resultados foram expressos em porcentagem de imobilidade dos organismos.

O ensaio de ecotoxicidade foi conduzido em laboratório, seguindo o protocolo estabelecido. O teste foi realizado em 15 frascos, cada um com um volume aproximado de 50 mL. Primeiramente, foi feita a diluição com NaCl e a substância de referência, em 4 réplicas e 6 concentrações, utilizando tubos de vidro tipo Falcon. Os organismos foram aclimatados em câmara com temperatura controlada entre 18 e 22°C. No dia anterior à aclimação, os organismos foram limpos, os filhotes removidos, e somente as fêmeas adultas foram mantidas. Durante o ensaio, os organismos foram alimentados com alga verde uma vez ao dia, mas não foram realimentados durante o teste. Foram utilizados 20 organismos por concentração, com 4 réplicas para cada teste. O cultivo dos organismos foi realizado com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuridão, enquanto o ensaio propriamente dito foi conduzido totalmente na ausência de luz.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE QUALITATIVA DA BIODESCOLORAÇÃO DOS CORANTES EM PLACA

Todas as linhagens dos fungos avaliados no presente trabalho apresentaram crescimento micelial após 7 e 14 dias em todas as concentrações testadas dos corantes avaliados, conforme indicado na Tabela 1, sugerindo uma tolerância das linhagens fúngicas. Foi possível observar que a linhagem IS10-08 apresentou um crescimento rápido na presença de todos os corantes avaliados, ocupando toda a superfície do meio de cultivo na placa, sugerindo uma possível tolerância aos corantes testados.

Tabela 1- Determinação do crescimento das linhagens fúngicas (cm) nos corantes Direct Yellow, Alaranjado de Metila e Reactive Black 5, nas concentrações de 50 ppm e 100 ppm, ao fim de 7 e 14 dias

Linhagens de Fungos	50 ppm						100 ppm					
	Direct Yellow 27		Reactive Black 5		Alaranjado de metila		Direct Yellow 27		Reactive Black 5		Alaranjado de metila	
	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d
I05-01	3,4	4,8	2,2	5,2	2,3	5,4	3,6	4,5	3,5	6,6	3,3	4,7
I13-07	4,1	7,5	3,85	9,0	3,6	5,9	4,7	8,3	3,7	9,0	3,45	6,4
IS10-08	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
I05-06	9,0	9,0	2,6	6,2	2,4	6,4	2,45	6,4	3,3	5,9	2,45	6,4

Fonte: Autoria própria

No Quadro 7, são apresentados os resultados de descoloração dos corantes em placas nas concentrações de 50 e 100 ppm. Observou-se que os fungos I05-06 e I13-07 tiveram os melhores desempenhos nos corantes amarelo e preto, especialmente na concentração de 100 ppm, onde ocorreu a formação de halos de descoloração. As placas inoculadas com a linhagem I13-07 foram classificadas como de descoloração média para os corantes amarelo e preto, enquanto as placas com o fungo I05-06 exibiram descoloração média a forte para o corante amarelo. Na concentração de 50 ppm, a descoloração não foi tão evidente visualmente, possivelmente devido à baixa concentração de corante. No caso do corante amarelo, a percepção foi ainda mais difícil, possivelmente devido à leve coloração amarelada do meio de cultura batata utilizado. Foi também observado que a linhagem I05-06

adsorveu o corante, conforme indicado pela mudança de coloração do fungo entre os dias 7 e 14. Gomes e Ribeiro (2016) relataram resultados semelhantes para a linhagem I05-06 em relação à adsorção do corante Reactive Black 5, embora em uma concentração de 200 ppm.

Quadro 7- descoloração de corantes a 50 e 100 ppm

Linhagens de Fungos	Houve Adsorção do Corante?	50 ppm						100 ppm					
		Direct Yellow 27		Reactive Black 5		Alaranjado de metila		Direct Yellow 27		Reactive Black 5		Alaranjado de metila	
		7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d
I05-01	NÃO	(+)	(+)	(+)	(++)	(-)	(-)	(+)	(+)	(++)	(++)	(-)	(-)
I13-07	NÃO	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(++)	(++)	(++)	(++)	(-)	(-)
IS10-08	NÃO	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
I05-06	SIM	(-)	(-)	(+)	(+)	(++)	(++)	(++)	(+++)	(+)	(++)	(-)	(-)

(-) ausência de descoloração do corante; (+) fraca descoloração do corante; (++) média descoloração transparência; (+++) forte descoloração do corante;

Fonte: Autoria própria

A linhagem I05-06 foi capaz de promover uma descoloração média do corante alaranjado de metila apenas na concentração de 50 ppm ao final de 14 dias de incubação, sugerindo que, possivelmente, essa linhagem fúngica consegue utilizar o azocorante presente no meio como fonte de carbono quando em concentração baixa (ASSEM, 2017). Contudo, na concentração de 100 ppm não foi possível a observação do efeito de descoloração do meio para essa linhagem. Embora as demais linhagens fúngicas também tenham apresentado crescimento na presença desse corante em diferentes concentrações, não foi possível observar um efeito de descoloração, o que pode ser correlacionado com a impossibilidade dessas linhagens em utilizar esse corante como fonte de carbono e consequentemente promover a sua descoloração nas condições avaliadas.

UDDANDARAO e PIET N.L. (2022), ao utilizarem nanobiohíbridos ZnS-Che e ZnS-Bio obtidos do fungo filamentoso *Aspergillus niger* na ausência de luz UV-A para a degradação do alaranjado de metila, não obtiveram resultados promissores nas

concentrações de 50 mg/L, 100 mg/L e 200 mg/L. Durante os experimentos, observaram que não houve redução significativa na concentração do corante após o 4º dia. A porcentagem de remoção e a capacidade de adsorção registraram valores nulos, indicando ausência de adsorção de superfície em uma dosagem de nanobiohíbridos ZnS de $0,5 \times 10^5$ mol e pH 4.

Em contrapartida, os mesmos autores relataram uma degradação de 97,5% e 98% na presença de luz UV-A, evidenciando a influência positiva da radiação UV-A no processo de degradação. A utilização adicional de luz UV-A no tratamento pode, portanto, ser uma alternativa eficaz para melhorar o processo de descoloração do alaranjado de metila. Os sistemas híbridos inorgânico-biológicos apresentam grande potencial, pois combinam a eficiência de captação de luz de materiais inorgânicos com as vias biossintéticas de células vivas, prometendo uma plataforma sustentável e eficiente para síntese bioquímica (Guo et al., 2018; Ding et al., 2019).

Por outro lado, Yucel (2018), ao investigar os parâmetros que afetam a remoção do alaranjado de metila pelo fungo patogênico *Fusarium acuminatum*, concluiu que este fungo atinge máxima eficiência de descoloração em condições de pH 4 e temperatura de 35°C. Em suas análises, foi observada uma alta porcentagem de descoloração de 60 mg/L do corante em um curto período, além de uma ampla faixa de tolerância às variações de temperatura, pH e concentração inicial do corante. Diferentemente dos experimentos conduzidos com os fungos filamentosos selecionados no presente estudo, que na maioria das vezes não evidenciaram degradação visível do corante, Assem (2017) reportou a formação de halos de descoloração ao utilizar o fungo *Pleurotus ostreatus florida* em três diferentes meios contendo o corante na concentração de 0,01% (m/v). Em meio líquido, Huy et al. (2020) descreveram uma degradação superior a 95% do alaranjado de metila utilizando o fungo *Fusarium oxysporum*, evidenciando a variabilidade de eficiência entre diferentes espécies e condições experimentais.

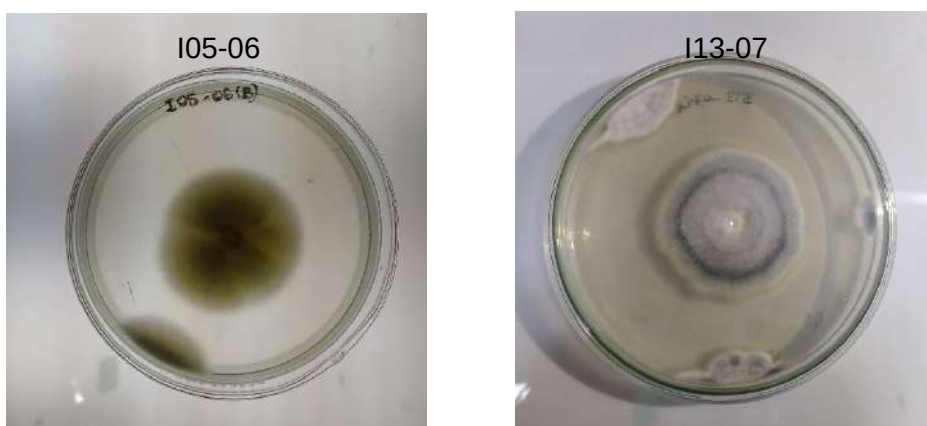
Com base nos resultados de degradação dos corantes em placa, foram selecionados para a próxima etapa de ensaios as duas linhagens de fungo, consideradas as mais promissoras, I05-06 e I13-07. Essa seleção foi fundamentada na intensidade da descoloração observada. Os ensaios de cultivo submerso foram realizados utilizando os corantes Direct Yellow 27 e Reactive Black 5, avaliando o desempenho dos fungos tanto isoladamente quanto em consórcio.

Para viabilizar o uso em consórcio, foi previamente realizado um teste de inibição em placa, a fim de verificar se os fungos apresentavam algum nível de inibição mútua. Essa etapa foi essencial para assegurar que os fungos poderiam coexistir e atuar sinergicamente na descoloração dos corantes sem comprometer o desempenho um do outro, como descrito a seguir.

5.2 CRESCIMENTO EM PLACA TESTE DE INIBIÇÃO

Para avaliar o efeito antagônico das duas linhagens fúngicas pre-selecionadas para os estudos de cultivo submerso, foram realizados crescimentos individualizados e em conjunto na mesma placa. Na Figura 17 podem ser observados as linhagens I05-06 e I13-07 crescidas separadamente ao fim de sete dias à 28°C.

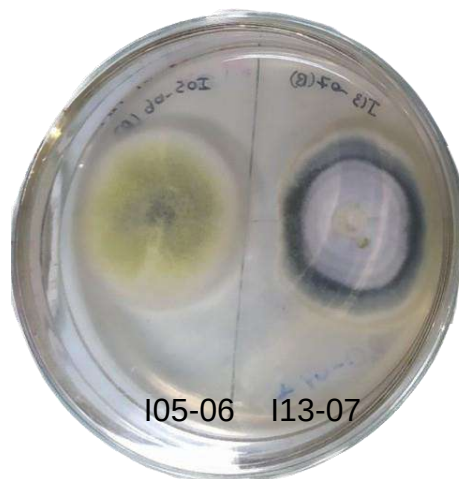
Figura 17-Crescimento das linhagens de fungos em BDA após sete dias à 28°C



Fonte: Autoria própria

Na Figura 18, observa-se o crescimento conjunto das duas linhagens de fungos, permitindo verificar se eles apresentariam algum tipo de inibição mútua, uma consideração importante para o uso em processos fermentativos em consórcio. A imagem indica que ambos os fungos conseguem coexistir sem interferência relevante no crescimento um do outro, sugerindo ausência de efeito antagônico. Dessa forma, o uso dos fungos em consórcio para o sistema fermentativo mostrou-se promissor, potencialmente favorecendo a eficácia do processo de descoloração.

Figura 18- Evidência do crescimento conjunto das linhagens I05-06 e I13-07 em meio BDA após incubação à 28°C / sete dias



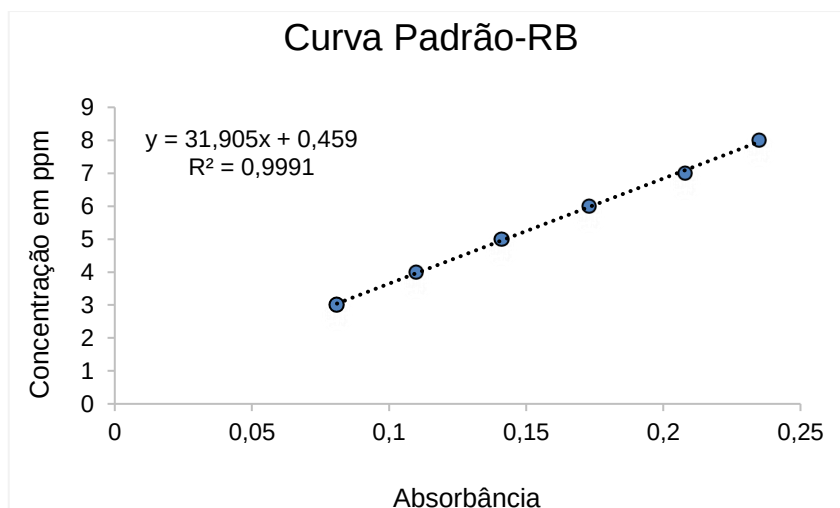
Fonte: Autoria própria

5.3 DESCOLORAÇÃO DOS CORANTES EM MEIO SUBMERSO

5.3.1 Espectro de absorção dos corantes

Para a análise da descoloração dos corantes, foi utilizado a base determinada por Almeida (2018), que identificou os comprimentos de onda de máxima absorção para os corantes Reactive Black 5 (RB-5) e Direct Yellow 27(DY-27) , nas faixas de 597 nm e 393 nm, respectivamente. Com base nesses valores, foi possível definir uma faixa de 500 a 700 nm para as medições no espectrofotômetro, utilizando o programa UVProbe com amostras de RB-5, e obtivemos um comprimento de onda de 600 nm, em concordância com o observado por Almeida (2018). Em seguida, foi gerada uma curva padrão com cinco concentrações distintas, evidenciando a relação entre absorbância e concentração do corante no comprimento de onda máximo. A linearidade observada entre esses parâmetros, indicada por coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,9, confirma a adequação dos dados à Lei de Lambert-Beer (ALMEIDA, 2018). A curva padrão obtida para o corante RB-5 está apresentada na Figura 19, evidenciando essa relação.

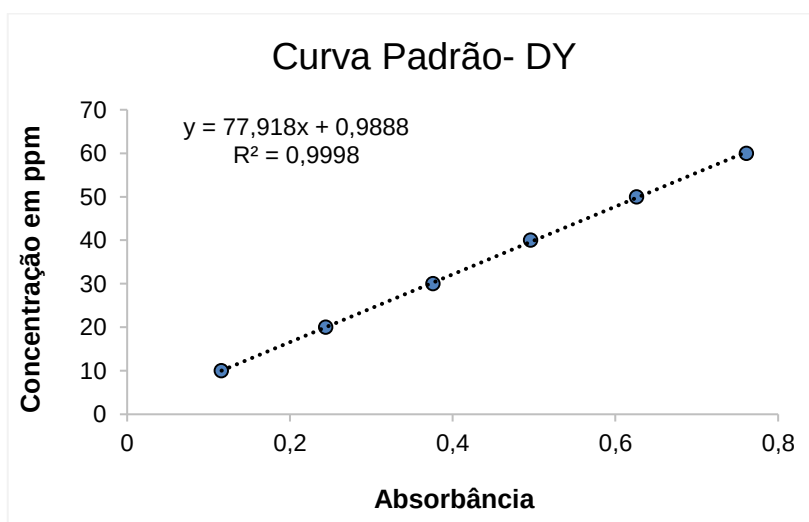
Figura 19- Curva Padrão Reactive Black 5



Fonte: Autoria própria

Já para determinar o intervalo de valores de comprimento de onda para o corante DY-27 foi seguido o mesmo procedimento descrito acima, sendo obtido o valor máximo de 397 nm, que também está em concordância com o observado por Almeida (2018). A curva padrão para o corante DY-27 pode ser observada na Figura 20.

Figura 20- Curva Padrão Direct Yellow 27



Fonte: Autoria própria

5.3.2 Avaliação da descoloração dos corantes

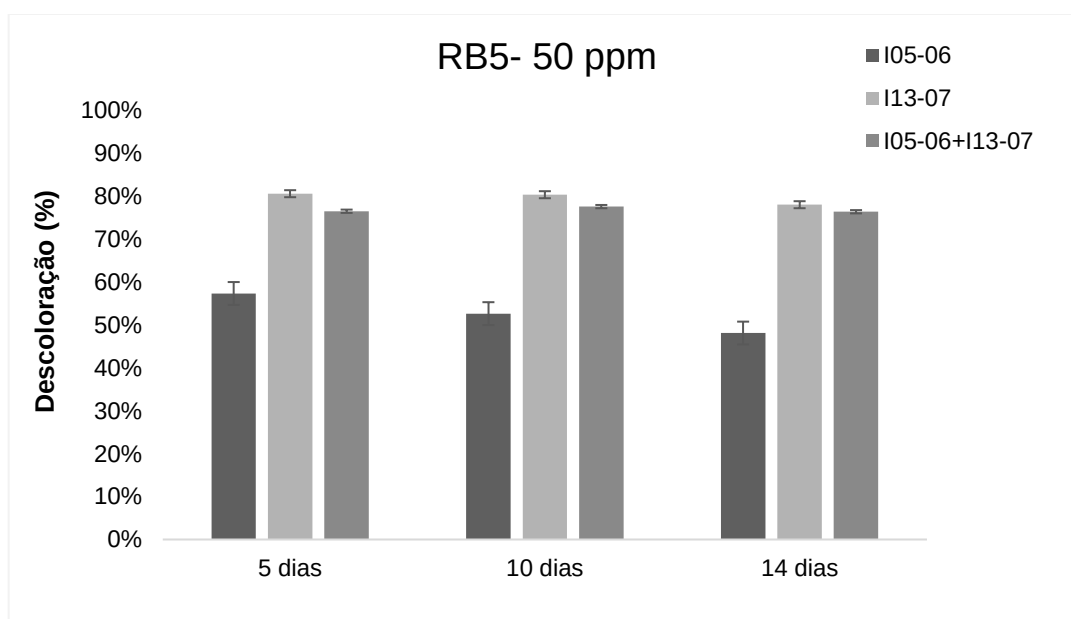
A seguir serão apresentados os resultados tanto de forma qualitativa em que se observou visualmente a descoloração dos meios com corante a partir do processo fermentativo, quanto quantitativamente através dos dados obtidos na análise

espectrofotométrica. Os resultados descritos abaixo estão organizados por corante.

5.3.2.1 Ensaio utilizando Reactive Black 5 (RB-5)

Nos resultados obtidos para o corante RB-5 na concentração de 50 ppm, conforme ilustrado na Figura 21, observa-se que o fungo I13-07 obteve grande potencial para descoloração desde o primeiro dia de experimento. Nos dias 5 e 10, o percentual de descoloração foi superior a 80%, com uma leve queda observada no 14º dia. O consórcio de fungos apresentou uma descoloração média e estável ao longo de todos os dias de medição, enquanto o fungo I05-06 mostrou o menor percentual de bio descoloração, sendo classificado como médio nos dias 5 e 10 e baixo no 14º dia. Os melhores resultados de descoloração foram obtidos com o fungo I13-07 nos dias 5 e 10, com percentuais de descoloração de 80,6% e 80,3%, respectivamente.

Figura 21- Avaliação do Percentual de Descoloração do corante RB-5 na concentração de 50 ppm



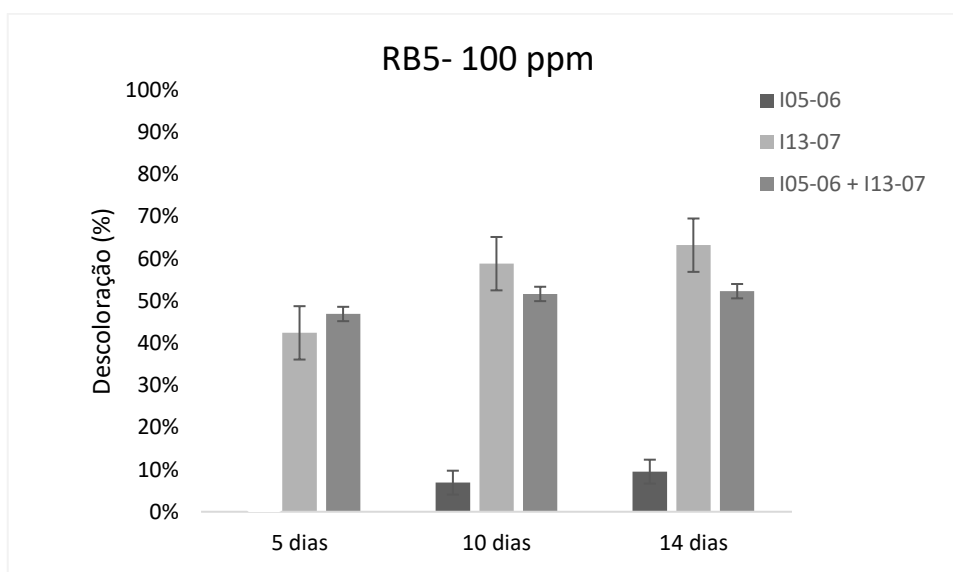
Fonte: Autoria própria

Na análise da descoloração do corante RB-5 a 100 ppm, conforme indicado na Figura 22, observa-se que nenhum fungo alcançou um nível de bio descoloração elevado (acima de 80%) ao longo dos 14 dias de experimento. No entanto, o fungo I13-07 continuou a apresentar o melhor desempenho, sendo o único a superar 60% de descoloração no 14º dia. Vale ressaltar que o consórcio de fungos apresentou sua

melhor taxa de biodescoloração no 5º dia. Por outro lado, a linhagem do fungo I05-06 evidenciou baixa eficiência na descoloração do corante, chegando a apresentar um percentual negativo no 5º dia, o que pode indicar interferências ou processos de reabsorção do corante pelo próprio sistema. Os maiores percentuais de descoloração foram obtidos pela linhagem do fungo I13-07 nos dias 10 e 14, com taxas de 58,8% e 63,2%, respectivamente.

Os resultados esperados para este experimento indicavam um aumento progressivo da porcentagem de descoloração ao longo do tempo, seguido de uma estabilização. Entretanto, observou-se uma queda na descoloração no 5º dia para a linhagem do fungo I05-06. O percentual negativo de descoloração representa, fisicamente, um aumento na coloração do sobrenadante. Não foi identificada produção de pigmentos por esse fungo em meio sólido em placa; portanto, é muito provável que esse aumento na coloração do sobrenadante esteja exclusivamente associado ao corante previamente presente no meio (GOMES e RIBEIRO, 2016).

Figura 22- Avaliação do Percentual de Descoloração do corante RB5 a 100 ppm



Fonte: Autoria própria

Assim, infere-se que, nesse intervalo de cinco dias, a remoção inicial do corante ocorreu, em parte, por mecanismos de adsorção, observados também no teste em placa, onde a adsorção pelo fungo foi evidente. No entanto, após o 5º dia, essa porção de corante adsorvida parece ter sido liberada de volta ao meio, resultando em um aumento na coloração. Posteriormente, o fungo foi capaz de contribuir de maneira modesta para a bio descoloração do corante. Esse mesmo fenômeno foi

relatado por Gomes e Ribeiro (2018) com a linhagem do fungo I05-01 (*Paecilomyces* sp.).

Diversas pesquisas corroboram os resultados obtidos no presente trabalho, indicando a eficácia de fungos na descoloração do corante Reactive Black 5 (RB5). Em um estudo de descoloração do RB5 nas concentrações de 50 e 100 ppm utilizando o fungo *Phanerochaete chrysosporium*, Almeida (2018) relatou percentuais mais expressivos de degradação na concentração de 100 ppm, diferentemente do presente estudo, que apresentou maior eficiência de descoloração em 50 ppm, alcançando 90% de remoção a 100 ppm no 10º dia. Thao et al. (2023) também obtiveram resultados promissores na degradação de RB5 a 100 mg/L utilizando o fungo *Fusarium oxysporum* HUIB02, atingindo um máximo de 89,86% de remoção do corante no 15º dia de cultivo.

Os resultados do presente trabalho foram superiores aos relatados por Do Nascimento (2019), que avaliou a biodegradação de RB5 nas mesmas concentrações utilizando a linhagem *Aspergillus* sp.. Nesse caso, os percentuais de biodegradação não ultrapassaram 26,54% a 50 ppm e 62,8% a 100 ppm em 10 dias.

O bom desempenho de linhagens de *Penicillium* também foi confirmado no trabalho de Saroj et al. (2014), que utilizaram o fungo *Penicillium oxalicum* SAR-3 na biodegradação de corantes azo (Acid Red 183, Direct Blue 15 e Direct Red 75) na concentração de 100 mg/L. Nessa pesquisa, a cepa apresentou níveis de degradação elevados (95-100%) para quase todos os corantes, em 120 horas, sob condições de 30°C e pH 7,0.

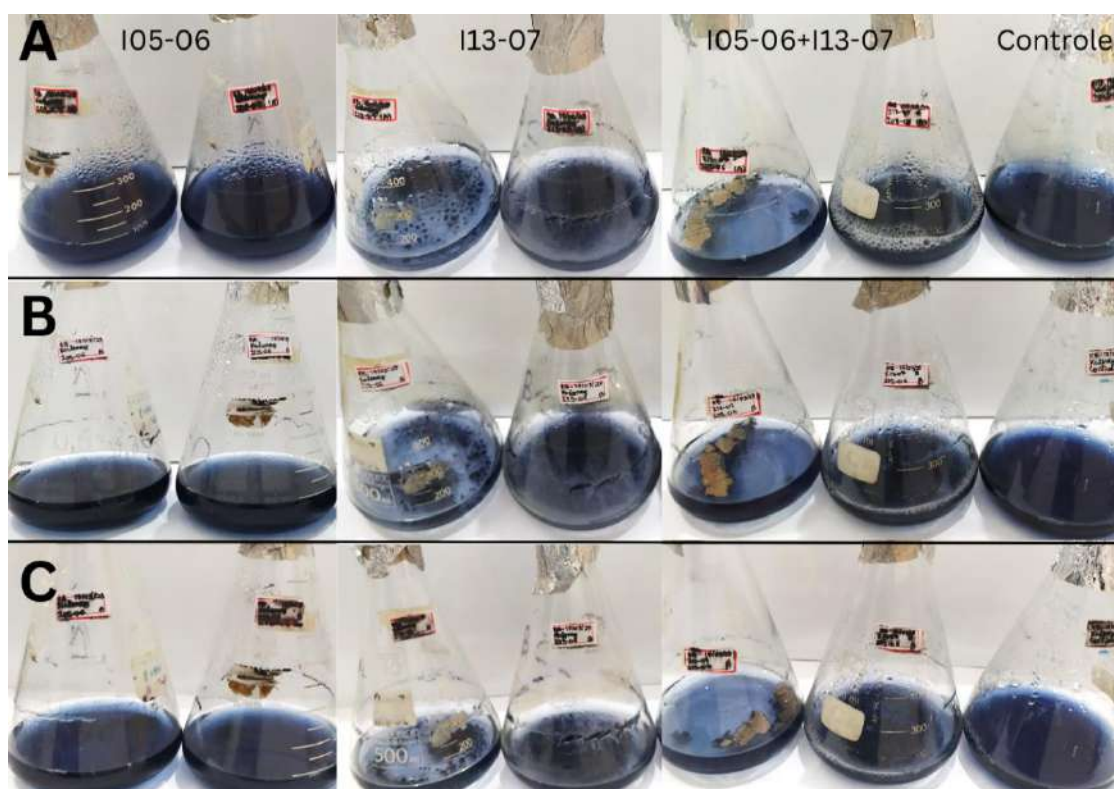
Esses estudos reforçam a eficiência de fungos filamentosos na degradação de corantes azo e destacam o potencial biotecnológico de diferentes linhagens fúngicas para o tratamento de efluentes industriais.

As Figuras 23 e 24, apresentadas a seguir, ilustram a evolução da descoloração dos meios de cultura ao longo dos 14 dias de cultivo, nas concentrações de 50 ppm e 100 ppm, respectivamente. Esses gráficos permitem observar as variações na remoção do corante ao longo do tempo, evidenciando o desempenho do processo de descoloração em diferentes concentrações.

Na avaliação qualitativa da descoloração em meio líquido, em ambas as concentrações, observa-se que a linhagem do fungo I13-07 apresentou o melhor desempenho na descoloração, conforme corroborado pelas análises quantitativas

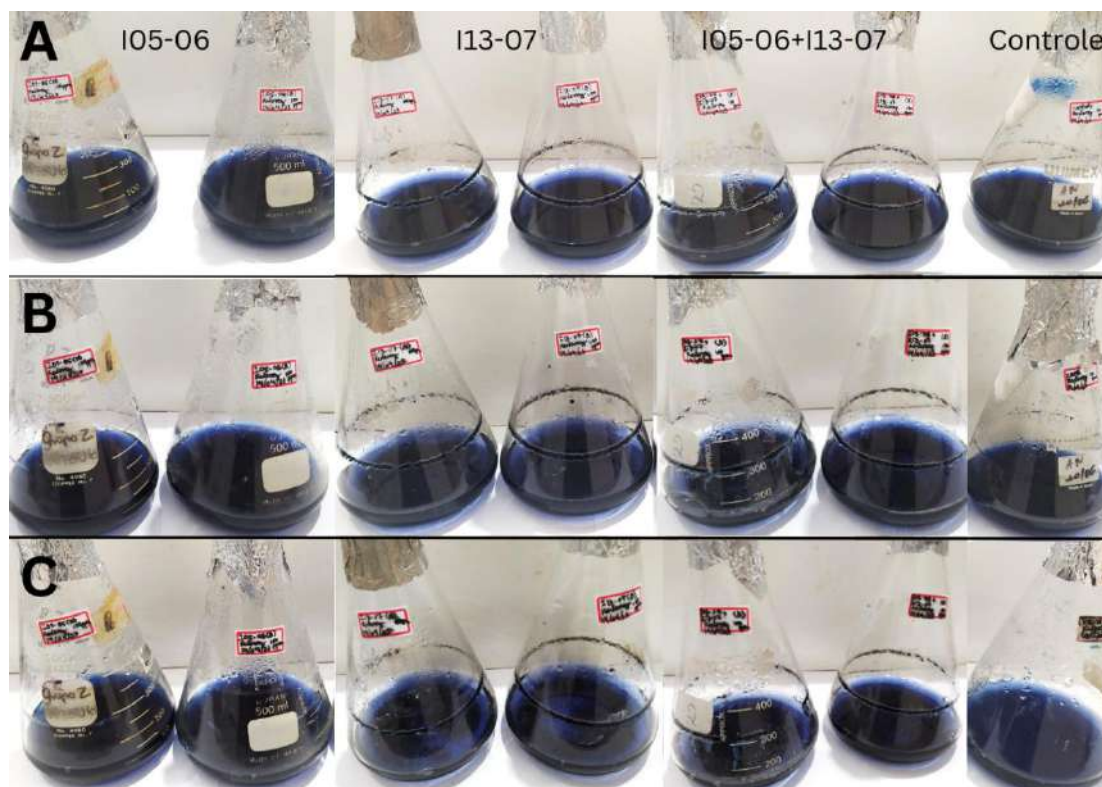
realizadas em espectrofotômetro. A linhagem do fungo I13-07 (Figura 25) mostrou-se mais eficiente na formação de biomassa durante o processo de descoloração, quando comparado a linhagem do fungo I05-06 (Figura 26), resultando em um meio mais límpido em relação ao último. Além disso, a linhagem do fungo I13-07 também apresentou tendência a crescer nas paredes da vidraria, indicando um comportamento característico que pode influenciar a remoção do corante. O consórcio de fungos exibiu um perfil de crescimento que combinou as características individuais dos dois fungos, conforme esperado, refletindo a contribuição sinérgica de ambos no processo de descoloração.

Figura 23- Descoloração do Reactive Black a 50 ppm em (A) cinco dias (B) 10 dias e (C) 14 dias



Fonte: Autoria própria

Figura 24- Descoloração do Reactive Black a 100 ppm em (A) cinco dias (B) 10 dias e (C) 14 dias



Fonte: Autoria própria

De acordo com Almeida (2018), a alta concentração de biomassa, decorrente do elevado crescimento fúngico, sugere que o corante não exerceu efeito tóxico relevante sobre o fungo.

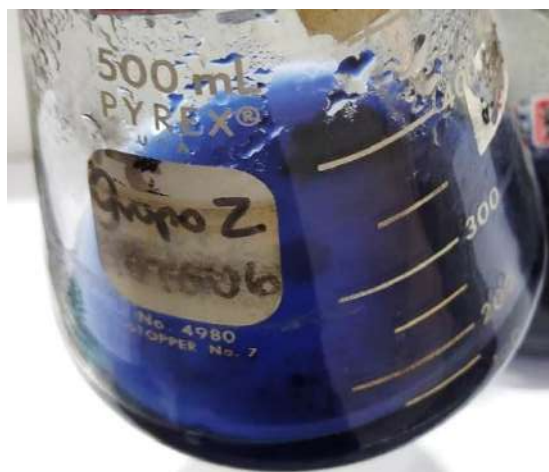
O presente estudo corrobora os achados de Almeida (2018), destacando que as maiores taxas de descoloração foram observadas nos Erlenmeyers onde o crescimento fúngico ocorreu na forma de pequenas esferas. Essa morfologia proporcionou uma maior superfície de contato entre as hifas e o corante, favorecendo uma remoção de cor mais eficiente. Portanto, a morfologia do crescimento fúngico desempenhou um papel crucial no processo de descoloração, evidenciando sua relevância no sucesso do tratamento.

Figura 25- Fungo I13-07 em processo de cultivo submerso no 14º dia a 100 ppm



Fonte: Autoria própria

Figura 26- Fungo I05-06 em processo de cultivo submerso no 14º dia a 100 ppm



Fonte: Autoria própria

A ausência de biomassa em formato de pequenas esferas no caso do fungo I05-06, em comparação com o I13-07, pode estar associada tanto às características intrínsecas do próprio fungo quanto às condições de agitação aplicadas no shaker. Conforme destacado por Pizato (2013), diferentes velocidades de agitação do meio podem influenciar significativamente a morfologia fúngica. Em condições de agitação mais elevada, observou-se a formação de pellets menores e mais finos, enquanto rotações mais baixas resultaram em pellets maiores e mais densos. Essa variação na forma da biomassa impacta diretamente a área de superfície de contato entre o fungo e o corante, o que, por sua vez, afeta a eficiência do processo de remoção de cor da

solução. Portanto, as condições de agitação desempenham um papel determinante na morfologia fúngica e na eficácia da descoloração, indicando que ajustes na velocidade de agitação podem ser uma estratégia importante para otimizar os resultados.

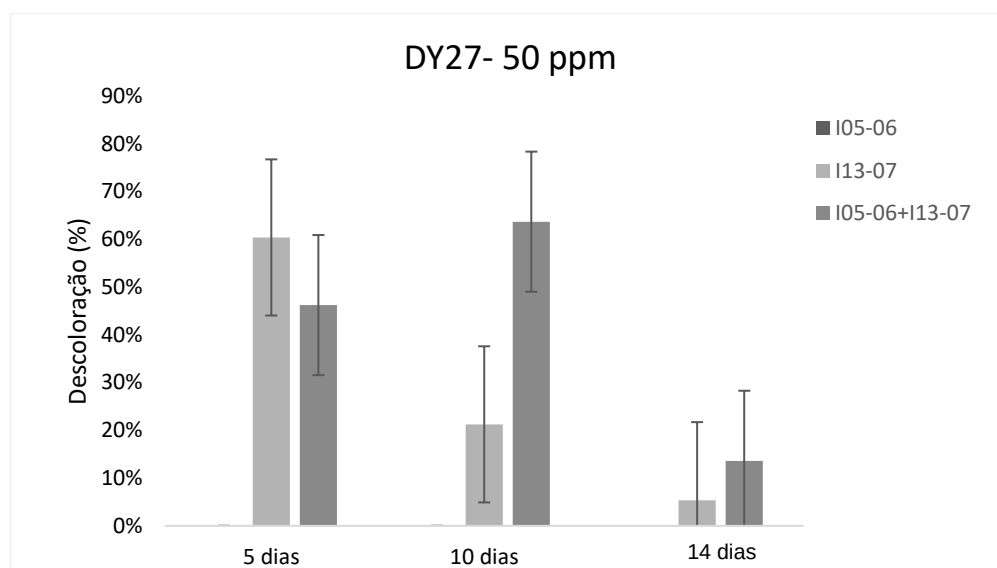
5.3.2.2 Ensaio utilizando Direct Yellow

Os resultados obtidos para a descoloração do corante Direct Yellow 27 na concentração de 50 ppm indicam variação no desempenho dos fungos. Duas medições revelaram alta descoloração, com valores acima de 60%: no 5º dia, o fungo I13-07 alcançou 60,4% de descoloração, enquanto o consórcio de fungos atingiu 63,6% no 10º dia (Figura 27).

A média dos resultados de biodescoloração obtidos pelo consórcio fúngico na concentração de 50 ppm (41,16%) foi similar aos valores relatados por Almeida (2018), que alcançou uma média de aproximadamente 41% na descoloração do corante DY27 utilizando o fungo *P. chrysosporium* sob as mesmas condições de concentração e em um período de 10 dias de cultivo. Esses resultados enfatizam que o consórcio fúngico apresenta desempenho comparável ao de sistemas baseados em fungos individuais, como o *P. chrysosporium*, reforçando sua viabilidade como estratégia para o tratamento de efluentes contendo corantes.

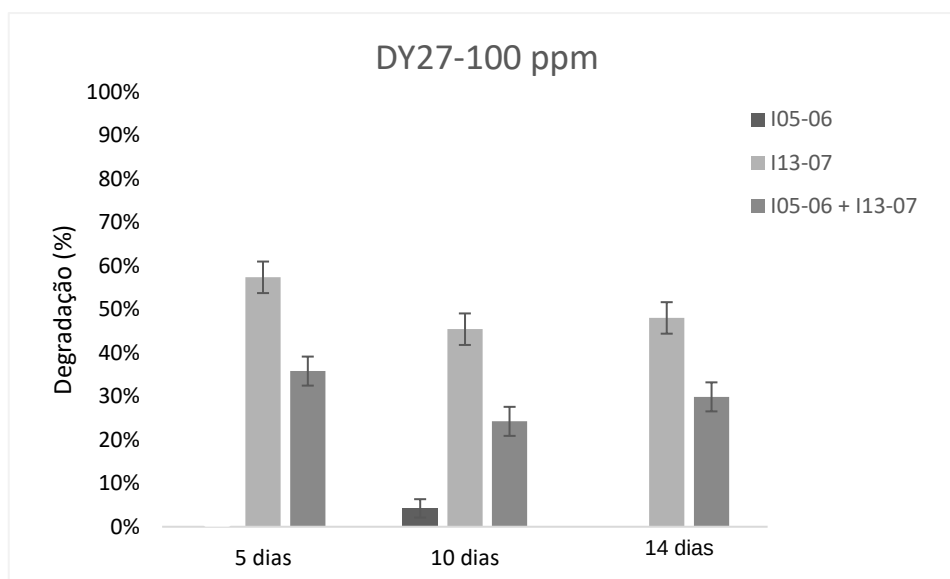
O fungo I05-06 manteve um desempenho similar ao observado nos ensaios com o corante Reactive Black 5 a 100 ppm, apresentando baixa eficiência em todos os dias de medição (5, 10 e 14 dias) e não se mostrando promissor para a descoloração do corante amarelo na concentração de 50 ppm.

Resultados com comportamento de adsorção semelhantes foram encontrados por Gomes e Ribeiro (2016) ao testar a bio descoloração de DY27 com o fungo do gênero *Paecilomyces*, na presença e ausência de Tween 80, um surfactante para influenciar na biodescoloração, em que a percentagem de descoloração na presença de Tween 80 apresentou valores negativos e na ausência de Tween 80 a percentagem de descoloração não foi superior a 8% em 14 dias. A Figura 27 ilustra a descoloração do corante Direct Yellow 27 a 50 ppm.

Figura 27- Avaliação do Percentual de Descoloração do corante Direct Yellow 27 a 50 ppm

Fonte: Autoria própria

À concentração de 100 ppm, o desempenho de descoloração dos corantes pelos fungos foi inferior ao observado em 50 ppm, como era esperado. Esse menor desempenho pode ser atribuído principalmente ao aumento da concentração de corante no meio, o que possivelmente dificultou a ação dos fungos. Nenhuma das medições realizadas ao longo dos dias avaliados apresentou altos índices de descoloração (acima de 60%), prevalecendo, em geral, resultados de descoloração média (acima de 50%), conforme mostrado na Figura 28. Os maiores percentuais de descoloração foram alcançados pelo fungo I13-07 nos dias 5 e 14, com valores de 57,4% e 48,0%, respectivamente.

Figura 28- Avaliação do Percentual de Descoloração do corante Direct Yellow 27 a 100 ppm

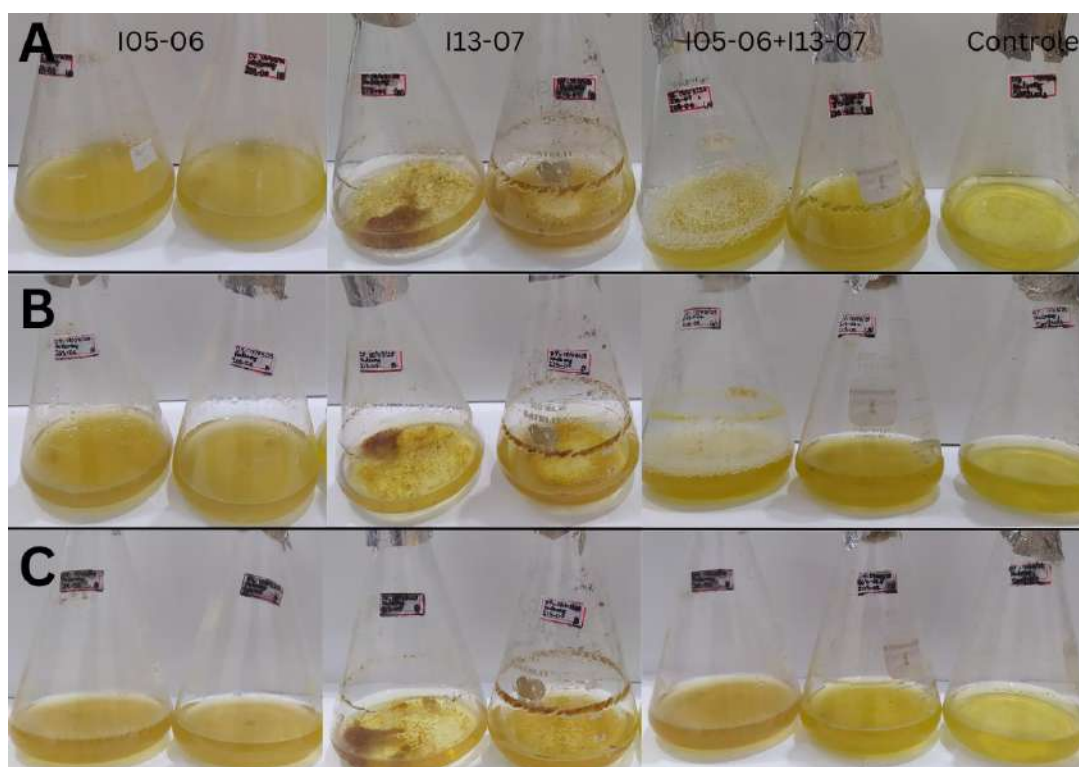
Fonte: Autoria própria

A maior porcentagem de bio decoloração obtida no presente estudo, 57,4% a 100 ppm, foi semelhante aos resultados reportados por Almeida (2018), que alcançou 53% de decoloração no 10º dia de cultivo. No entanto, o fungo I13-07 utilizado neste trabalho apresentou um padrão de crescimento microbiano diferente, com a fase de estabilização ocorrendo entre o 5º e o 10º dia, enquanto no estudo de Almeida (2018), o microrganismo ainda estava na fase de crescimento exponencial no 10º dia.

Apesar dos resultados promissores, os valores de bio decoloração obtidos neste estudo foram inferiores aos reportados por Byberg e Cobb (2012). Esses autores investigaram a biodescoloração do corante DY27 utilizando um reator de fotocatalise com TiO_2 imobilizado e atingiram 91,7% de decoloração em uma concentração inicial de 25 ppm.

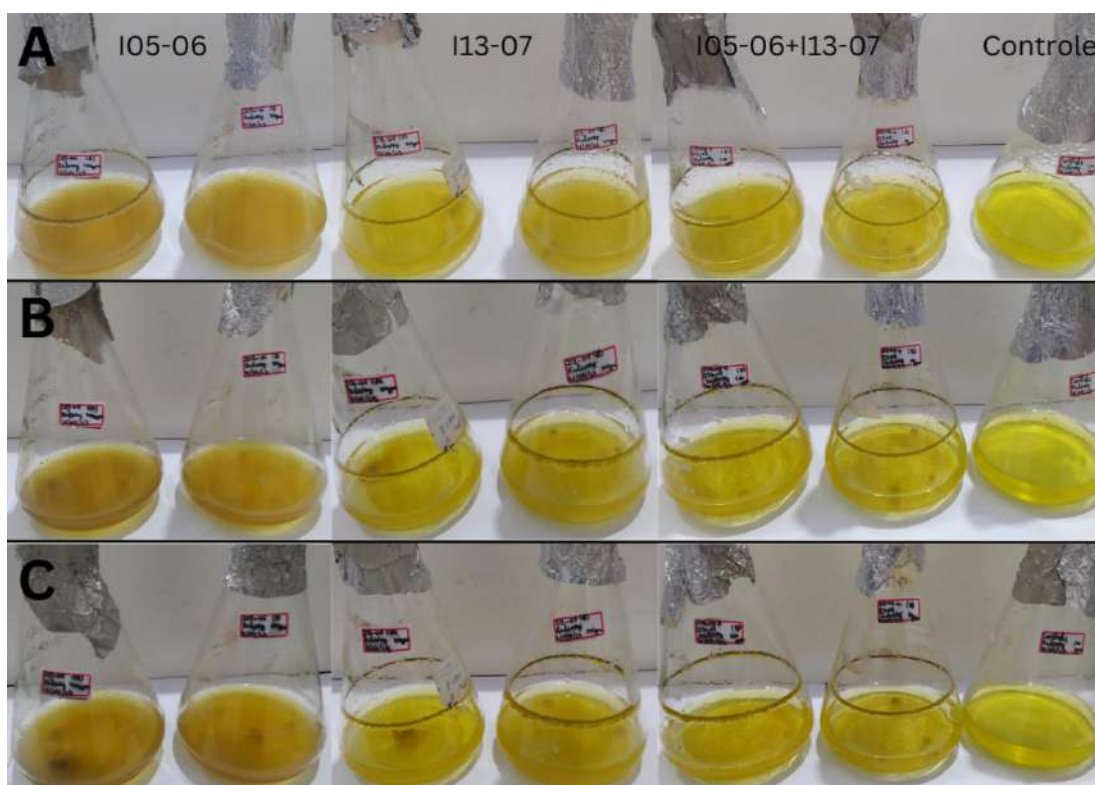
As Figuras 29 e 30 ilustram a evolução da decoloração dos meios durante os 14 dias de cultivo para as concentrações de 50 ppm e 100 ppm, respectivamente.

Figura 29- Descoloração do Direct Yellow 27 a 50 ppm em (A) cinco dias (B) 10 dias e (C) 14 dias



Fonte: Autoria própria

Figura 30- Descoloração do Direct Yellow 27 a 100 ppm em (A) cinco dias (B) 10 dias e (C) 14 dias



Fonte: Autoria própria

Na Figura 31, observa-se que o fungo I05-06 não apresentou resultados promissores para a descoloração do corante Direct Yellow. Houve uma fase inicial de adsorção do corante, seguida pela liberação do corante de volta ao meio, indicando uma baixa eficiência no processo de descoloração. Em contraste, o fungo I13-07 (Figura 32) e o consórcio de fungos (Figura 33) mostraram resultados significativamente mais eficazes, com percentuais de descoloração semelhantes aos obtidos com o corante Reactive Black 5 a 100 ppm, ao longo dos 14 dias de experimento.

Figura 31- Fungo I05-06 em processo de cultivo submerso no 14º dia a 100 ppm



Fonte: Autoria própria

Figura 32- Fungo I13-07 em processo de cultivo submerso no 14º dia a 100 ppm



Fonte: Autoria própria

Figura 33- Consórcio de fungos em processo de cultivo submerso no 14º dia a 100 ppm



Fonte: Autoria própria

5.4 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

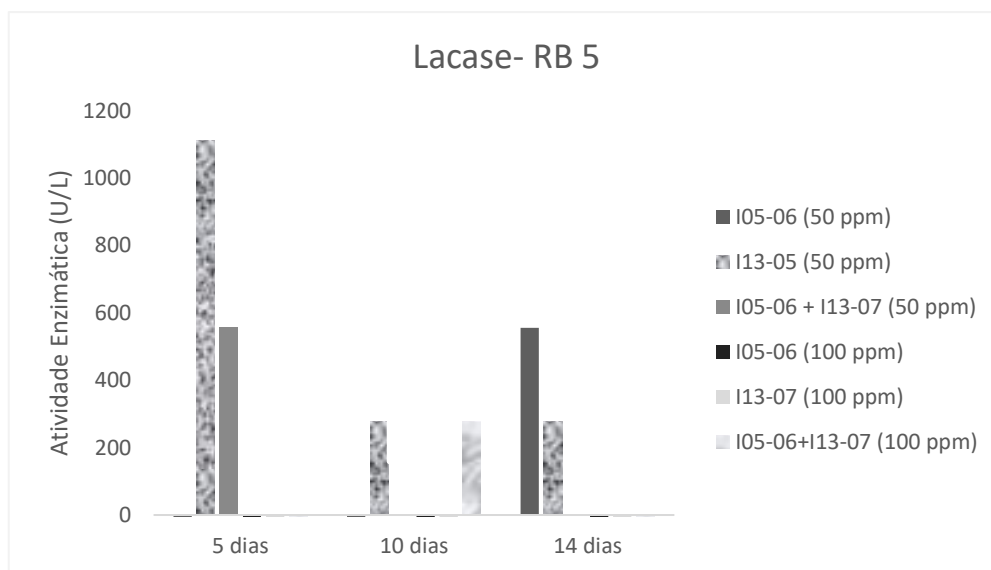
5.4.1 Lacase

5.4.1.1 Ensaio utilizando Reactive Black 5

Conforme ilustrado na Figura 34, apenas a linhagem do fungo I13-07, na concentração de 50 ppm de corante Reactive Black 5, produziu lacase ao longo dos 14 dias de cultivo, com pico de produção no 5º dia, seguido por uma queda nos dias subsequentes. A linhagem do fungo I05-06, por sua vez, apresentou produção de lacase somente no 14º dia, enquanto o consórcio de fungos produziu lacase exclusivamente no 5º dia de cultivo.

Na concentração de 100 ppm de corante, apenas o consórcio de fungos apresentou produção de lacase, restrita ao 10º dia de cultivo. Esses resultados sugerem que a concentração de corante influenciou a produção de lacase durante o processo fermentativo, sendo que a maior concentração de corante (100 ppm) contribuiu para a redução na produção da enzima.

Figura 34- Atividade enzimática da lacase no corante Reactive Black 5 ao longo de 14 dias de cultivo submerso para as concentrações de 50 e 100 ppm



Fonte: Autoria própria

Enayatzamir et al. (2009), ao quantificarem a atividade de lacase em meio contendo o corante Reactive Black 5, encontraram valores máximos entre 1000 e 1200 U/L na concentração de 60 ppm, próxima à concentração de 50 ppm utilizada neste estudo. No estudo de Enayatzamir et al., o pico de atividade enzimática foi observado entre os dias 7 e 13, enquanto neste experimento, a atividade máxima ocorreu no 5º dia. Nos demais dias, a atividade enzimática permaneceu abaixo de 600 U/L, assim como nos resultados obtidos neste experimento. Contudo, no trabalho de Enayatzamir et al. (2009), o percentual de degradação do corante foi diretamente correlacionado ao pico de produção de lacase, o que não foi observado no presente estudo. Essa diferença sugere que a lacase pode não desempenhar um papel relevante no processo de descoloração do corante neste experimento, indicando que outros mecanismos ou enzimas podem estar envolvidos no processo de biodescoloração do Reactive Black 5.

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram-se superiores aos reportados por Santello (2023), que alcançou resultados máximos aproximados de 250 U L⁻¹ no 3º dia de medição da atividade enzimática da lacase (Lac) utilizando o fungo basidiomiceto de origem marinha *Peniophora* sp. para a biodescoloração do corante RB5.

Além disso, estudos sobre a aplicação de lacases comerciais na descoloração de corantes têxteis também estão disponíveis na literatura. Por exemplo, Fontes et al. (2021) investigaram a utilização de lacase comercial (Sigma) proveniente do fungo basidiomiceto *Trametes versicolor* na descoloração do corante têxtil Reactive Blue. Os autores obtiveram resultados promissores, com uma taxa de descoloração superior a 60%.

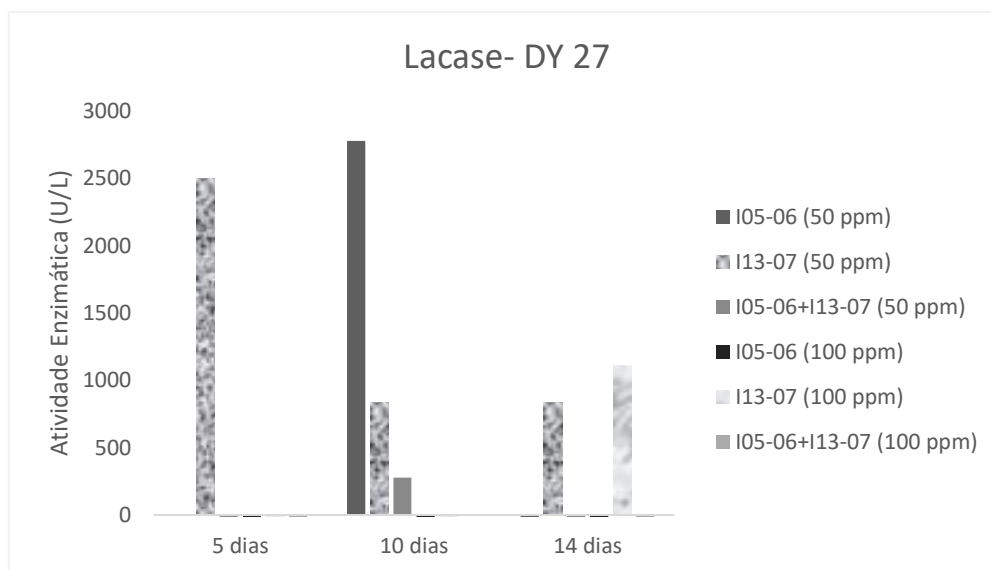
5.4.1.2 Ensaio utilizando Direct Yellow 27

No caso do corante Direct Yellow 27, observou-se uma produção mais elevada de lacase em comparação com o meio contendo o corante Reactive Black 5, embora o comportamento de produção tenha sido semelhante. A linhagem do fungo I13-07 foi, novamente, a única a produzir a enzima de forma consistente ao longo dos 14 dias de cultivo. A principal diferença, contudo, foi que a linhagem do fungo I05-06 apresentou produção de lacase no 10º dia, com uma quantidade superior à produzida pela linhagem do fungo I13-07, mas não houve produção detectável nos outros dias de cultivo (Figura 35).

Esses resultados indicam que o tipo de corante pode influenciar a atividade enzimática, especialmente no caso da linhagem do fungo I05-06, que indicou uma resposta específica ao Direct Yellow 27 com um pico isolado de produção de lacase. O consórcio de fungos apresentou produção da enzima apenas no 10º dia de cultivo e em baixa quantidade.

De acordo com Baldrian (2006), as lacases fúngicas geralmente exibem atividade ótima em pH ácido, pois não apenas a taxa de oxidação é afetada, mas também os produtos da reação podem variar com o pH. Esse comportamento ocorre porque o pH influencia as reações abióticas dos radicais primários gerados pela ação da lacase. Além disso, a estabilidade dessas enzimas é maior em pH ácido (LEONOWICZ, A.; EDGEHILL, R. U.; BOLLAG, J.-M, 1984).

Figura 35- Atividade enzimática da Lacase no corante Direct Yellow 27 às concentrações de 50 e 100 ppm em 14 dias de cultivo submerso



Fonte: Autoria própria

Pramanik e Chaudhuri (2018) investigaram a produção de lacase em cinco meios diferentes, onde todos resultaram em produção da enzima. Em particular, o macrofungo *Podoscypha elegans* obteve máxima produção de lacase em pH 6,5, embora atividade significativa tenha sido registrada em uma faixa de pH entre 5,5 e 7,5. Nas condições ótimas testadas—meio HNHC suplementado com ácido vanílico (0,6 mM), pH 6,5, incubação a 30 ± 2 °C e 50 rpm—os autores aplicaram a lacase para descoloração do corante Direct Yellow 27 em concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5%, obtendo degradações entre 35% e 65%.

Apesar da escolha de um pH em faixa ligeiramente ácida (5,5) no presente estudo, a atividade enzimática da lacase não apresentou estabilidade e não foi detectada em todos os dias de cultivo. Esses resultados sugerem que, embora o pH ácido seja favorável para a produção de lacase, outros fatores, como a composição do meio e as condições específicas de cultivo, podem ter limitado a produção e estabilidade da enzima ao longo do período experimental.

5.4.2 Lignina Peroxidase

As dosagens da enzima Lignina Peroxidase (LiP) resultaram baixa produção, observada apenas na concentração de 100 ppm, com variações na produção e

ausência de estabilidade, sem destaque para nenhum dos fungos ou para o consórcio utilizado. Dessa forma, considera-se a produção de LiP nas fermentações como irrisória e não promissora sob as condições empregadas neste estudo.

Santello (2023), ao avaliar a atividade enzimática de Lacase (Lac), Manganês Peroxidase (MnP) e Lignina Peroxidase (LiP) em amostras de biodescoloração de diferentes corantes com o fungo basidiomiceto de origem marinha *Peniophora* sp., tanto na presença quanto na ausência de indutores, detectou atividade apenas para as enzimas Lac e MnP. Não foi observada atividade da LiP após sete dias de incubação sob condições de 28 °C e 140 rpm. Saroj et al. (2014) também reportaram uma atividade enzimática insignificante de LiP ao investigar a produção de Lac, MnP e LiP por três diferentes cepas fúngicas utilizadas na descoloração de corantes azo. Esses resultados são corroborados por outros estudos que associam a baixa atividade de LiP às características da linhagem fúngica, às condições de cultivo e ao tipo de substrato utilizado (Wesemberg et al., 2003; Levin et al., 2012; An et al., 2021).

Santana (2022), ao analisar a atividade de Lac, MnP e LiP em seis diferentes linhagens fúngicas (*Perenniporia centrali-africana*, *Pleurotus djamor*, *Schizophyllum commune*, *Trametes lactinea* e *Trametes villosa*), detectou atividade enzimática de LiP apenas na linhagem *Perenniporia centrali-africana*. Esses resultados reforçam a influência das condições de cultivo, linhagem e substrato na expressão de LiP, além de destacar os desafios de sua obtenção em quantidades significativas.

5.4.3 Manganês peroxidase

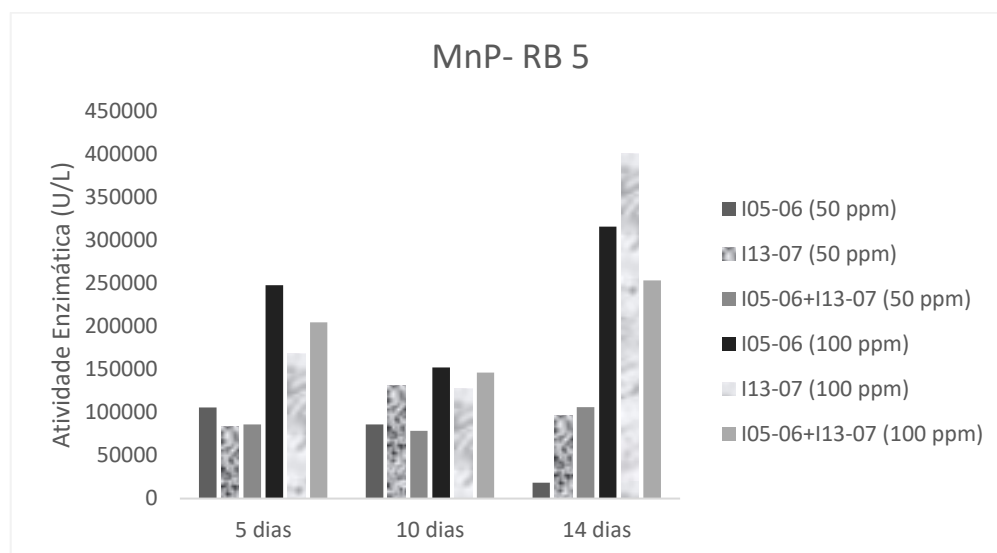
5.4.3.1 Ensaio utilizando Reactive Black 5

Na Figura 36, observa-se a produção da enzima manganês peroxidase nas concentrações de 50 e 100 ppm do corante Reactive Black 5 ao longo dos 14 dias de cultivo. A enzima foi produzida em quantidades significativas tanto pelos fungos isoladamente quanto pelo consórcio.

Em especial, as fermentações com concentração de 100 ppm apresentaram uma atividade enzimática mais elevada nos dias 5, 10 e 14, com uma queda observada no 10º dia seguida de um aumento no 14º dia. No 14º dia, a linhagem do fungo I13-07 destacou-se com a maior produção de manganês peroxidase. Esses

resultados sugerem que a concentração mais elevada de corante (100 ppm) estimulou a produção enzimática de forma mais consistente ao longo dos dias, possivelmente indicando uma resposta adaptativa dos fungos ao corante.

Figura 36- Atividade enzimática da Manganês Peroxidase no corante Reactive Black 5 às concentrações de 50 e 100 ppm em 14 dias de cultivo submerso



Fonte: Autoria própria

Yang et al. (2005), ao quantificarem a produção de manganês peroxidase na presença de RB5, encontraram valores máximos de 1.555,0 U/L às 24 horas, em uma concentração de 200 ppm, com um decréscimo subsequente para valores entre 700,0 e 800,0 U/L entre 24 e 72 horas. Esses dados sugerem que a concentração do corante pode ser um fator crítico no desempenho enzimático, pois, no presente estudo, a atividade de manganês peroxidase foi consideravelmente elevada em concentrações mais baixas, de 50 e 100 ppm. Yang et al. (2005) também observaram que a presença do corante no meio era essencial para a produção significativa de manganês peroxidase, já que, sem o corante, a atividade enzimática foi muito baixa ao longo do cultivo.

No entanto, embora tenha havido uma atividade considerável de manganês peroxidase, os resultados de produção enzimática não corresponderam diretamente aos gráficos de descoloração do corante, em que os melhores resultados foram observados com a concentração mais baixa de corante (50 ppm). No entanto, a maior

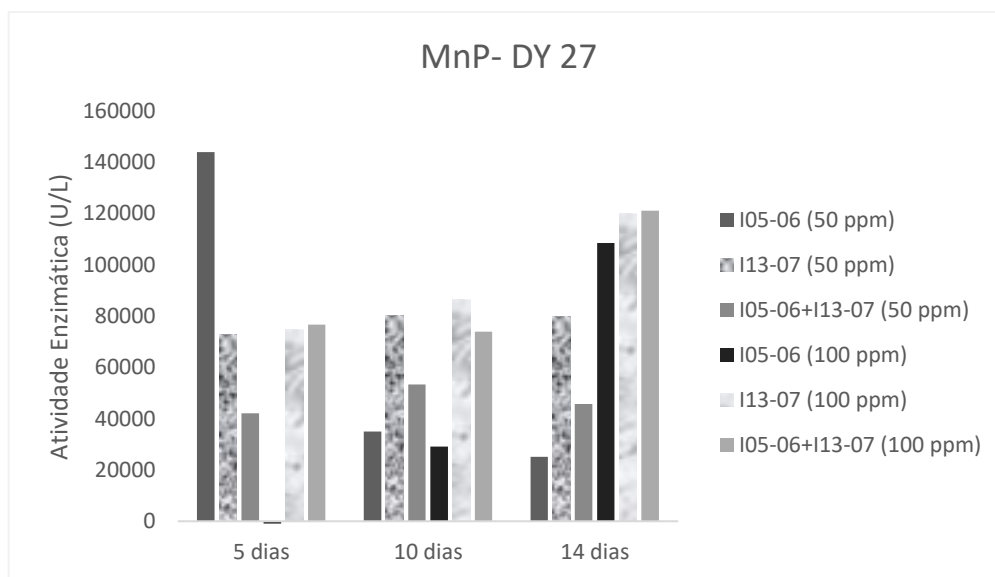
produção enzimática no 14º dia com 100 ppm coincide com os picos de biodescoloração nesse período, o que reforça as conclusões de Yang et al. de que a presença do corante é essencial para a atividade enzimática. Além disso, os dados do presente estudo sugerem que a quantidade de corante também pode influenciar de forma determinante a produção e estabilidade da enzima durante a biodescoloração.

5.4.3.2 Ensaio utilizando Direct Yellow 27

Na Figura 37, observa-se a atividade enzimática da manganês peroxidase em meio com o corante Direct Yellow 27, nas concentrações de 50 e 100 ppm. A produção da enzima foi significativa ao longo dos 14 dias de cultivo em ambas as concentrações, embora inferior à produção observada em meio com o corante Reactive Black 5. Destaca-se a produção da enzima pelo fungo I05-06 no 5º dia de cultivo, embora tenha ocorrido um declínio na produção nos dias subsequentes.

De maneira semelhante ao que foi observado nas fermentações com o corante Reactive Black 5, as maiores atividades enzimáticas de produção de manganês peroxidase ocorreram no 14º dia de cultivo, tanto pelos fungos isolados quanto pelo consórcio, especialmente na concentração de 100 ppm. Esses resultados sugerem que, apesar de uma produção enzimática ligeiramente menor em comparação ao corante Reactive Black 5, a concentração de 100 ppm de Direct Yellow 27 foi capaz de induzir uma resposta enzimática relevante, especialmente no final do período de cultivo.

Figura 37- Atividade enzimática da Manganês Peroxidase no corante Direct Yellow 27 às concentrações de 50 e 100 ppm em 14 dias de cultivo submerso



Fonte: Autoria própria

Diferentemente do estudo de Pramanik e Chaudhuri (2018), que ao dosarem Lacase e Manganês Peroxidase em 5 diferentes meios e avaliarem a descoloração de corantes observaram uma produção consideravelmente maior de Lacase em comparação à Manganês Peroxidase com o macrofungo *Podoscypha elegans*, os resultados do presente estudo mostraram que a produção de Manganês Peroxidase foi substancialmente maior quando comparada à produção de Lacase.

Um fator importante que pode ter influenciado o melhor desempenho na produção de manganês peroxidase, e consequentemente na descoloração do corante, é a quantidade de glicose no meio de cultivo. Yang et al. (2005) observaram que a produção de Lacase e a degradação do corante foram mais eficazes em meio com 5,0 g/L de glicose, concentração que também foi utilizada no presente estudo. Esse fato sugere que a presença de glicose pode ter favorecido a produção enzimática, principalmente de manganês peroxidase, o que pode ter contribuído para o melhor desempenho na descoloração dos corantes analisados.

5.5 ENSAIOS DE FITOTOXICIDADE

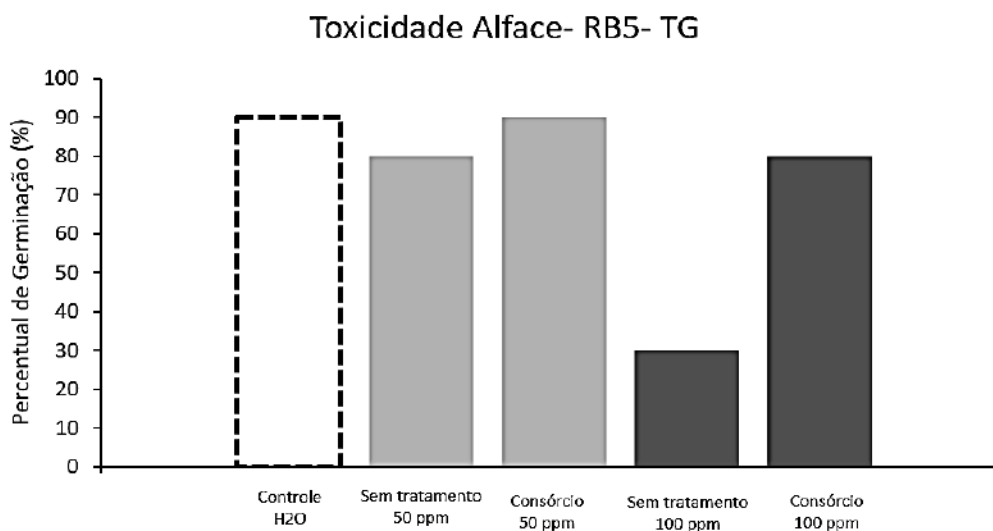
Os ensaios de fitotoxicidade para *Lactuca sativa* (alface) foram realizados exclusivamente com as amostras provenientes do consórcio fúngico, devido à

quantidade limitada de sementes disponíveis nos sachês adquiridos. Já os ensaios realizados com *Phaseolus vulgaris* (feijão) englobaram as amostras dos tratamentos com os fungos I05-06, I13-07 e o consórcio fúngico. Os resultados obtidos para os dois tipos de vegetais estão organizados e apresentados separadamente por corante e tipo de vegetal, conforme detalhado a seguir.

5.5.1 Ensaios utilizando Reactive Black

5.5.1.1 *Lactuca sativa* (Alface)

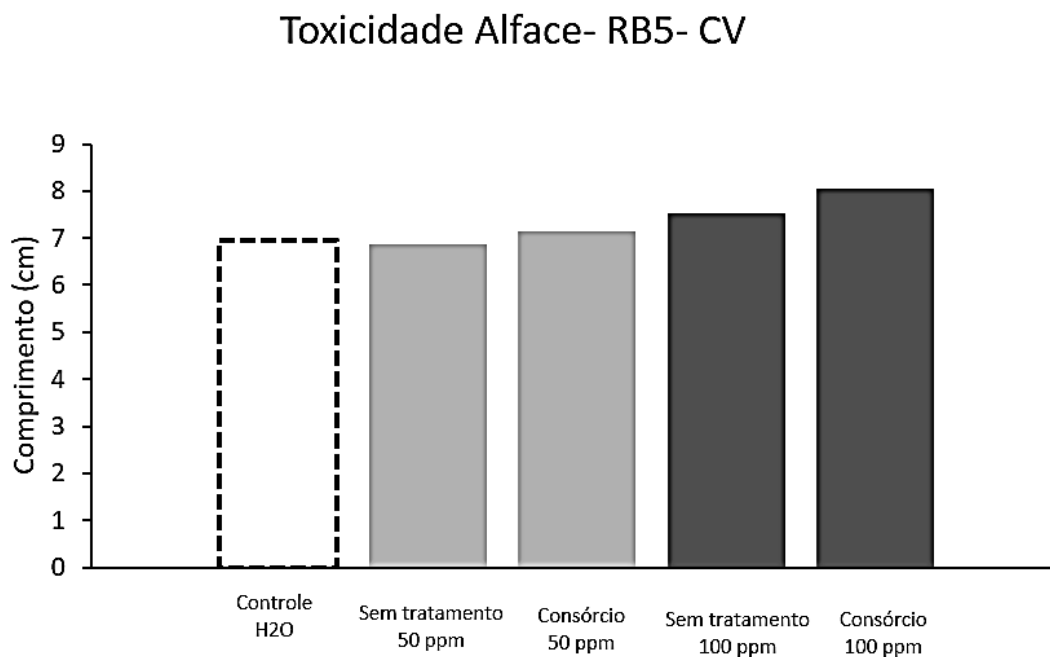
Na Figura 38, observa-se a Taxa de Germinação (TG) das sementes de alface em porcentagem, comparando as amostras tratadas com o consórcio de fungos aos respectivos controles para o corante Reactive Black 5. Nota-se que, em ambas as concentrações testadas (50 e 100 ppm), o percentual de germinação das sementes foi maior nas amostras com o consórcio de fungos em relação aos meios contendo apenas o corante sem tratamento. Em especial, na concentração de 50 ppm, a taxa de germinação nas amostras tratadas igualou-se ao controle com água destilada, o que evidencia que o tratamento com o consórcio de fungos reduz a toxicidade do corante para o alface. Esses resultados reforçam a eficácia do consórcio de fungos como uma abordagem para minimizar os efeitos tóxicos de corantes no meio, favorecendo um ambiente mais seguro para a germinação e o desenvolvimento das plantas.

Figura 38- Taxa de Germinação do alface em amostras contaminadas com Reactive Black 5

Fonte: Autoria própria

Com relação ao crescimento vegetativo, os resultados mostraram variação de aproximadamente 2 cm. Esses dados de crescimento vegetativo estão em consonância com os resultados da taxa de germinação, onde o crescimento das plantas foi superior nas amostras tratadas em comparação com as não tratadas. Observou-se também que, nos ensaios com o meio tratado, o crescimento das plantas ultrapassou o crescimento observado no controle com água destilada. Isso indica que nem o corante nem o consórcio de fungos foram impeditivos para o desenvolvimento das plantas (Figura 39).

Almeida (2018) obteve resultados bastante promissores utilizando o fungo *Phanerochaete chrysosporium* no tratamento do corante Reactive Black 5, nas concentrações de 50 e 100 ppm, com a alface como indicador de toxicidade. Em seu estudo, as amostras tratadas também apresentaram maior germinação e crescimento quando comparadas ao meio sem tratamento.

Figura 39- Crescimento vegetativo do alface em amostras contaminadas com Reactive Black 5

Fonte: Autoria própria

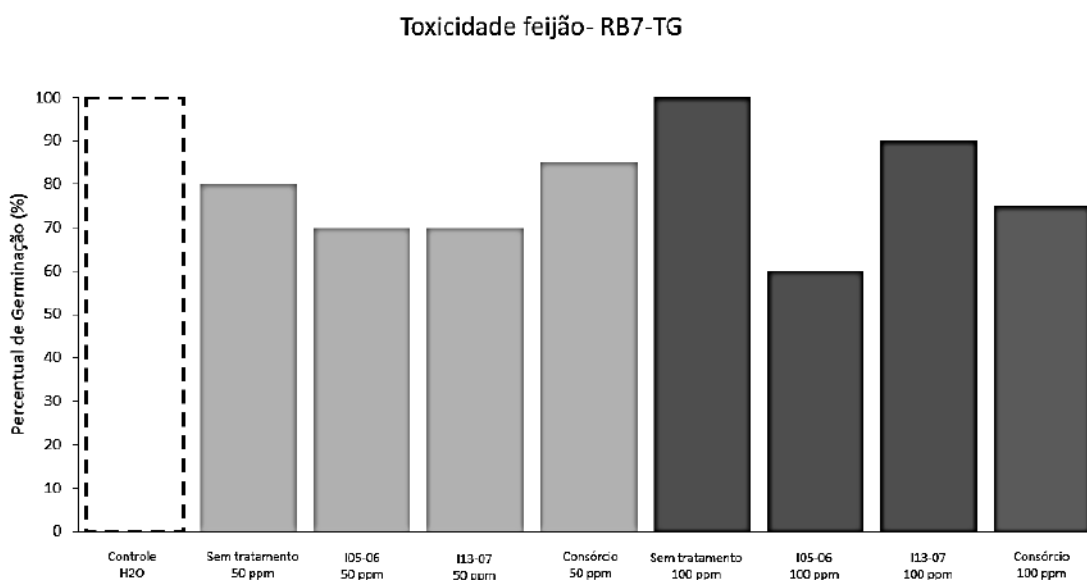
Os resultados obtidos no presente estudo estão alinhados com os de Andrade (2020), que, ao tratarem o corante Vermelho Congo — que possui estrutura química semelhante à do Reactive Black 5 — com *Aspergillus* sp. na concentração de 50 ppm, também observou um crescimento vegetativo superior nas amostras tratadas, em comparação ao controle e ao meio sem tratamento, com a alface como indicador de toxicidade.

5.5.1.2 Phaseolus vulgaris (Feijão)

A Figura 40 apresenta a taxa de germinação das sementes de feijão sob diferentes tratamentos e concentrações de corantes, com seus respectivos controles. Na concentração de 50 ppm, apenas o tratamento com o consórcio de fungos resultou em uma taxa de germinação superior à do meio sem tratamento. Já na concentração de 100 ppm, nenhum dos tratamentos superou a taxa de germinação do meio sem tratamento. Esses resultados sugerem que tanto a concentração do corante quanto a presença do consórcio de fungos desempenham papéis importantes na germinação das sementes. Conclui-se, portanto, que a interação entre o nível de contaminação do

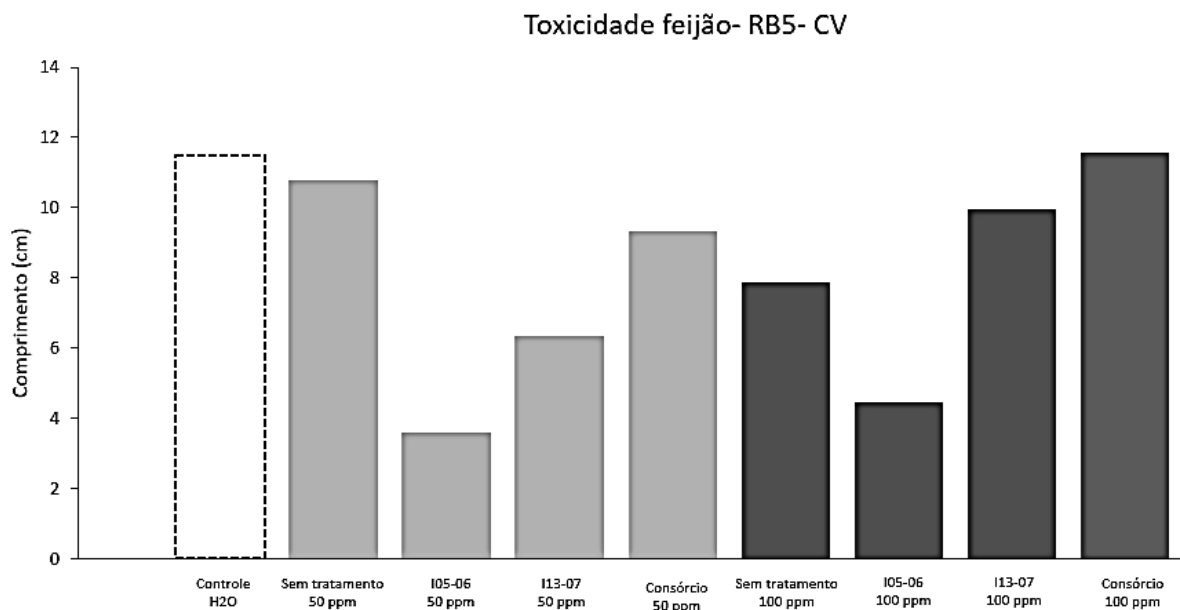
corante e a ação dos fungos é crucial, impactando significativamente o processo germinativo.

Figura 40 - Taxa de Germinação do feijão em amostras contaminadas com Reactive Black 5



Fonte: Autoria própria

A Figura 41 ilustra o crescimento vegetativo em centímetros. Observou-se que os feijões tratados com as amostras do fungo I05-06 apresentaram o menor crescimento em comparação com os outros tratamentos. Por outro lado, as amostras tratadas com o consórcio fúngico evidenciaram o maior crescimento, superando tanto a amostra sem tratamento quanto a amostra com apenas o corante, especialmente na concentração de 100 ppm.

Figura 41- Crescimento vegetativo do feijão em amostras contaminadas com Reactive Black 5

Fonte: Autoria própria

No estudo de Andrade (2020), ao tratar o corante Vermelho Congo com as enzimas HRP e lacase derivadas de *Aspergillus* sp., foi obtido um crescimento médio superior nas amostras tratadas com HRP a 50 ppm, superando tanto o controle quanto a amostra sem tratamento. Esse resultado difere dos tratamentos realizados no presente estudo, onde, para a mesma concentração de corante, não foi observado crescimento superior. Uma possível explicação para a inibição no crescimento das radículas observada aqui pode estar relacionada à diferença no volume das amostras: enquanto Andrade utilizou 3 mL, neste estudo foram aplicados 5 mL, o que indica que o volume proporcionalmente maior de amostra pode ter influenciado negativamente o desenvolvimento.

Observa-se ainda que as amostras tratadas com a linhagem do fungo I05-06 apresentaram os menores percentuais de germinação e menor crescimento das radículas. Esse fungo mostrou também os menores percentuais de descoloração do corante Reactive Black 5 nos ensaios de biodescoloração, o que levanta a hipótese de que a inibição do crescimento e da germinação não tenha sido causada apenas pela toxicidade do corante, mas também pela interação desfavorável com a linhagem do fungo I05-06. Esses resultados sugerem que, além do volume e da concentração

do corante, a escolha do agente biológico é crucial, pois pode potencialmente impactar tanto o processo de descoloração quanto a bioatividade em sistemas de tratamento de efluentes tóxicos.

5.5.2 Ensaios utilizando Direct Yellow

5.5.2.1 *Lactuca sativa* (Alface)

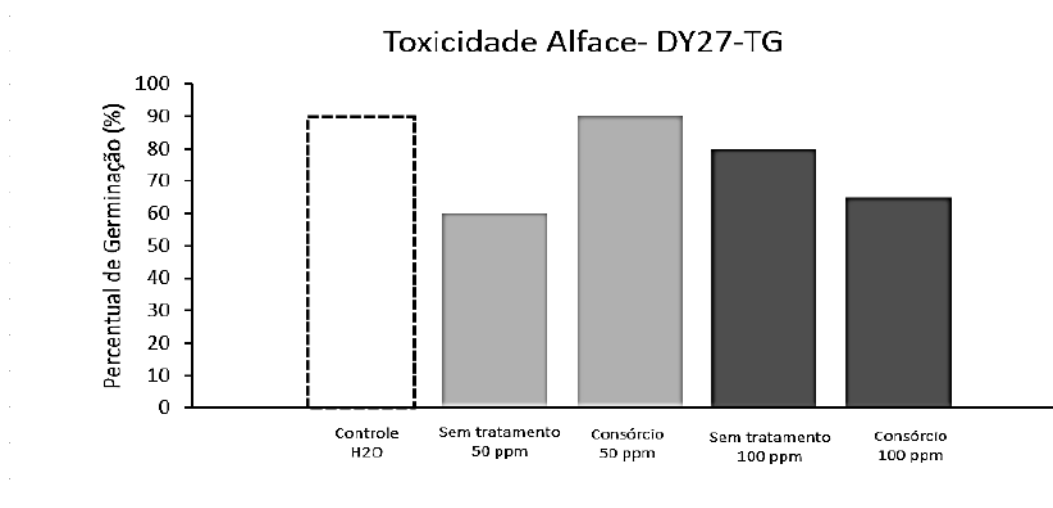
Nas Figuras 41 e 42, são apresentados os resultados da taxa de germinação e crescimento da *Lactuca sativa* (alface) nos corantes Direct Yellow 27 nas concentrações de 50 ppm e 100 ppm. Os dados indicam que, na concentração de 50 ppm, a germinação da alface no meio tratado foi equivalente à germinação do controle. No entanto, à medida que a concentração de corante aumentou, especialmente na presença dos fungos, o percentual de germinação diminuiu, ficando abaixo do observado no meio sem tratamento. Esse decréscimo pode ser atribuído ao aumento da concentração do corante, combinado com a presença do consórcio microbiano, o que eleva a toxicidade do meio e impacta negativamente a germinação do vegetal. Em estudo realizado por Almeida (2018), também foi observada uma maior taxa de germinação nas amostras tratadas com *Phanerochaete chrysosporium* contendo DY27 a 50 ppm, comparado ao controle, mas uma das triplicatas do tratamento a 100 ppm apresentou um percentual de germinação menor do que o controle.

Assim como no presente estudo, Gomes e Ribeiro (2016) também observaram uma taxa de germinação superior a 60% em seus experimentos com o corante DY27 em amostras tratadas e testadas em *Lactuca sativa* (alface) na concentração de 200 ppm. Almeida (2018) também identificou uma redução na taxa de germinação ao aumentar a concentração do corante Preto Biomax em seus experimentos. Na concentração de 100 ppm, a taxa de germinação foi inferior à de 50 ppm, comportamento semelhante ao observado no presente estudo.

Ao avaliar o crescimento vegetativo, os resultados se apresentaram inversos aos observados para a taxa de germinação. O crescimento em centímetros nas amostras tratadas foi inferior ao do meio sem tratamento na concentração de 50 ppm, indicando uma possível interferência dos compostos gerados durante o tratamento na fase inicial de desenvolvimento. Já na concentração de 100 ppm, o crescimento dos vegetais no meio tratado superou o das amostras sem tratamento, sugerindo que, em

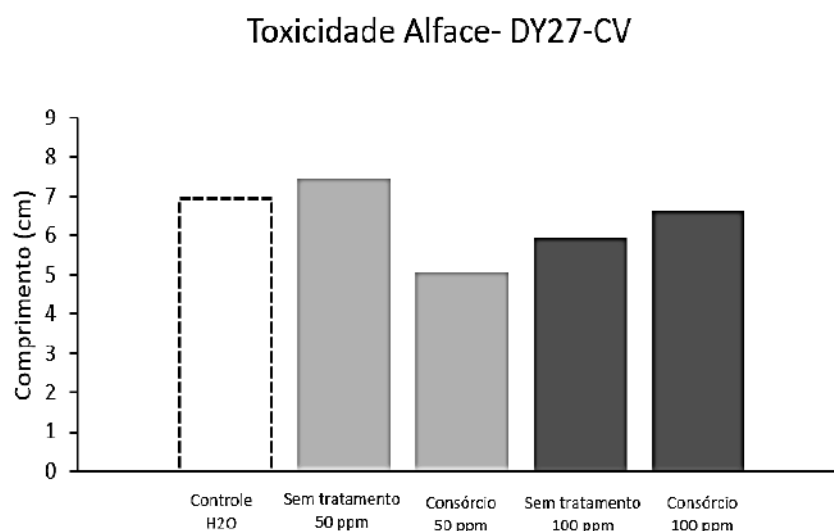
concentrações mais altas, o processo de descoloração promovido pelo tratamento reduziu a toxicidade dos compostos, permitindo um ambiente mais favorável ao crescimento. Esses achados apontam para uma interação complexa entre a concentração do corante, o tratamento aplicado e o desenvolvimento vegetal, variando entre as fases de germinação e crescimento vegetativo.

Figura 42- Taxa de germinação do feijão em amostras contaminadas com Direct yellow 27



Fonte: Autoria própria

Figura 43- Crescimento vegetativo do alface em amostras contaminadas com Direct yellow 27



Fonte: Autoria própria

Almeida (2018) também relatou um percentual de germinação superior nas amostras tratadas com *Phanerochaete chrysosporium* contendo Direct Yellow 27 em comparação ao controle sem tratamento a 50 ppm, embora uma das triplicatas a 100

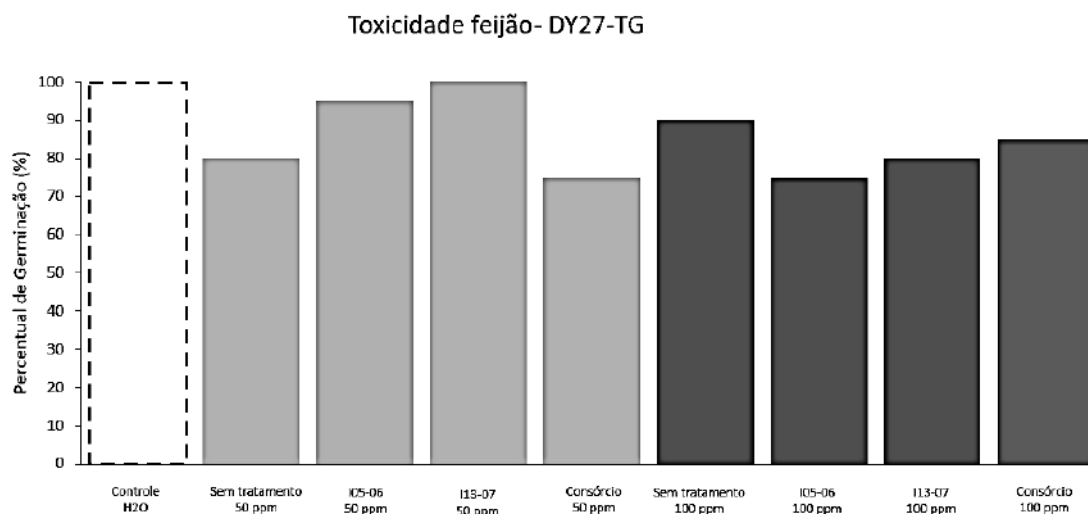
ppm apresentasse germinação inferior ao controle. Em contraste, no presente estudo, o crescimento vegetativo nas amostras tratadas a 50 ppm foi inferior ao observado por Almeida (2018), embora a extensão do crescimento dos vegetais tenha sido maior em termos absolutos. Estes resultados sugerem que o tratamento com o consórcio de fungos a 50 ppm foi mais eficaz na descoloração do corante em relação ao tratamento a 100 ppm, não resultando em compostos mais tóxicos para a germinação das sementes de alface. Entretanto, o efeito sobre o crescimento vegetativo indica que, embora o consórcio tenha favorecido a germinação inicial, pode ter produzido metabólitos que impactaram o desenvolvimento vegetativo subsequente.

5.5.2.2 *Phaseolus vulgaris* (Feijão)

Os meios tratados contendo o corante Direct Yellow 27 mostraram uma taxa de germinação considerável, com algumas diferenças entre as concentrações testadas. No tratamento a 50 ppm, apenas o consórcio de fungos apresentou uma taxa de germinação ligeiramente inferior ao meio não tratado, enquanto a 100 ppm todos os tratamentos resultaram em taxas de germinação abaixo daquela observada para a amostra não tratada. Estes resultados indicam que a concentração do corante exerce um efeito limitante sobre a germinação das sementes.

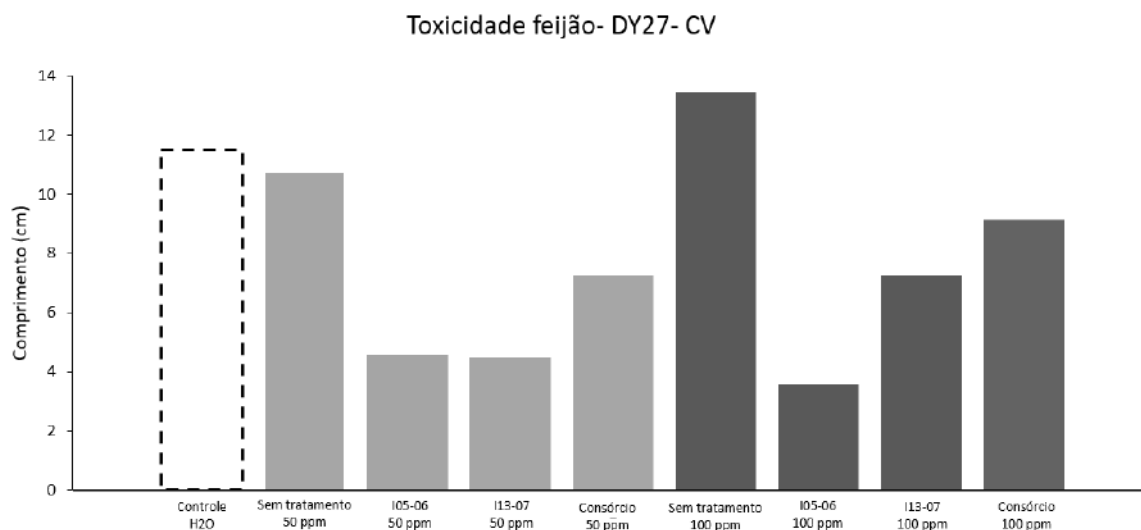
Os resultados obtidos no presente estudo estão em concordância com os de Gopinathan, Kanhere e Banerjee (2015), que utilizaram feijão mungo (*Vigna radiata* – Fabaceae) para teste de toxicidade com amostras de verde malaquita tratadas com *Bacillus subtilis*, *Azotobacter chroococcum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium roqueforti* e *Eisenia fetida*. Nesse estudo, a taxa de germinação do feijão mungo não foi consideravelmente afetada em concentrações inferiores a 100 ppm após 48 horas de exposição.

A Figura 44 a seguir apresenta os valores observados das taxas de germinação e crescimento do feijão nos tratamentos com Direct Yellow nas concentrações de 50 e 100 ppm, permitindo uma comparação visual do desempenho entre os diferentes tratamentos.

Figura 44- Taxa de Germinação do feijão em amostras contaminadas com Direct yellow 27

Fonte: Autoria própria

Em relação ao crescimento vegetativo, observa-se que, nas placas com amostras tratadas, o crescimento dos feijões foi significativamente inferior ao das amostras sem tratamento em ambas as concentrações de corante Direct Yellow 27. Esse crescimento reduzido, comparado até mesmo aos resultados obtidos com o corante Reactive Black 5, sugere que a limitação pode estar associada não apenas ao tratamento aplicado, mas também a uma maior toxicidade intrínseca do próprio corante Direct Yellow 27. Além disso, nos ensaios de descoloração em cultivo submerso, o corante Direct Yellow 27 apresentou menores percentuais de descoloração em relação aos alcançados com o corante Reactive Black 5, reforçando a hipótese de que a persistência e a toxicidade do Direct Yellow 27 impactam diretamente no desenvolvimento das plantas. Esses resultados são ilustrados na Figura 45, que compara a taxa de crescimento vegetativo dos feijões sob as diferentes condições experimentais.

Figura 45- Crescimento vegetativo do feijão em amostras contaminadas com Direct yellow 27

Fonte: Autoria própria

5.6 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE

Os ensaios de ecotoxicidade realizados com as amostras controle e os tratamentos mais promissores (fungo I13-07 em amostras com Reactive Black 5 e Direct Yellow 27) revelaram que, para ambos os corantes, as amostras controle causaram 100% de imobilidade nos organismos expostos em todas as diluições. Isso indica que as amostras com corante sem tratamento se mostraram tóxicas, mesmo nas maiores diluições. Esse comportamento é similar ao observado por Vacchi et al. (2016), que realizaram ensaios de ecotoxicidade agudos e crônicos com o corante azo Disperse Red 1, utilizando *Daphnia similis* como organismo-teste. O estudo constatou que, a partir de uma concentração de 0,5 mg/L, o corante já causava 100% de imobilidade nos organismos.

Resultados semelhantes foram encontrados por Meireles et al. (2014), que avaliaram os efeitos tóxicos do corante azo Disperse Red 73. Seus ensaios com *Danio rerio* (desenvolvimento embrionário e larval) e *Daphnia similis* (toxicidade aguda) indicaram que o corante pode causar efeitos adversos aos organismos mesmo em baixas concentrações, reforçando a alta toxicidade dos corantes azo para organismos aquáticos.

5.6.1 Sobrenadante da Linhagem I13-07 em Reactive Black 5

Na Tabela 2, observam-se as diluições padrão e seus respectivos resultados. Os dados mostram que tanto a diluição a 50 ppm quanto a 100 ppm resultaram em 100% de imobilidade dos organismos, o que indica que ambas as concentrações de amostras tratadas são tóxicas para os organismos-testes.

Além disso, o resultado obtido para a concentração inicial que afeta a mobilidade de 50% dos organismos em 48 horas (CE(I)50; 48h) foi 028,72 mg.L⁻¹. Esse valor revela que, mesmo em concentrações relativamente baixas, as amostras tratadas já apresentavam impactos consideráveis na mobilidade dos organismos, refletindo a alta toxicidade das substâncias presentes nos corantes e reforçando a necessidade de estratégias de tratamento para mitigar seus efeitos ambientais.

Tabela 2- Resultados ensaio ecotoxicológico das amostras com o corante Reactive Black 5

Soluções- teste (mg.L ⁻¹)	Número de organismos móveis	Número de organismos imóveis	Imobilidade (100%)
Controle	20	0	0,0
6,25	20	0	0,0
12,5	20	0	0,0
25	14	6	30,0
50	0	20	100,0
100*	0	20	100,0

Fonte: Autoria Própria

Os resultados indicam que o tratamento foi eficaz em evitar a imobilidade dos organismos até a concentração testada de 25 ppm. Esse achado é relevante, considerando que a imobilidade em certos microcrustáceos, como *Daphnia similis*, é um indicativo precoce que precede a letalidade (CETESB, 1990).

Trevizani (2015), ao tratar o corante Vermelho BR Azo-Reativo com ozônio,

relatou letalidade total em *Daphnia similis* na concentração de 50 ppm, mesmo após alcançar mais de 90% de remoção do corante. De maneira semelhante ao presente estudo, isso indica que, apesar da eficiência do tratamento na descoloração das amostras, as mesmas permaneceram tóxicas para os organismos-teste. Esse fato reforça que reduzir apenas a coloração de um efluente contaminado com corantes têxteis não é suficiente, pois o efluente pode permanecer tóxico, mesmo com concentrações reduzidas e visivelmente imperceptíveis do corante (Da Silva et al., 2021).

Essa toxicidade residual pode ser atribuída à formação de subprodutos gerados durante os processos de descoloração. Em tratamentos que envolvem reações com radicais hidroxila, podem ocorrer reações de hidroxilação de anéis benzênicos, os quais frequentemente apresentam baixa reatividade ao ozônio molecular (Silva, 2008). De Luna (2012), ao utilizar o corante Reactive Black 5 em um processo foto-Fenton, observou resultados semelhantes. Testando a toxicidade em *Daphnia similis*, verificou que, após o tratamento em concentrações de até 60 ppm, ocorreram a formação de subprodutos com toxicidade superior à do corante original.

5.6.2 Amostras contendo Direct Yellow 27 tratadas por I13-07

Na Tabela 3, observa-se que, à concentração de 50 ppm, a amostra tratada causou imobilidade em apenas 10% dos organismos. Entretanto, com o aumento da concentração, o efeito de imobilidade tornou-se completo, afetando 100% dos organismos.

O valor da concentração efetiva inicial capaz de causar imobilidade em 50% dos organismos após 48 horas foi determinado como CE(I)50;48h: 65,98 mg.L⁻¹. Em comparação com a amostra tratada contendo o corante Reactive Black 5, a amostra contendo o corante Direct Yellow 27 apresentou menor toxicidade, uma vez que foi necessária uma concentração aproximadamente duas vezes maior para atingir o mesmo efeito de imobilidade em 50% dos organismos-teste.

Tabela 3- Resultados ensaio ecotoxicológico das amostras com o corante Direct Yellow 27

Soluções- teste (mg.L ⁻¹)	Número de organismos móveis	Número de organismos imóveis	Imobilidade (100%)
Controle	20	0	0,0
6,25	20	0	0,0
12,5	20	0	0,0
25	20	0	0,0
50	18	2	10,0
100*	0	20	100,0

Fonte: Autoria Própria

Nos resultados obtidos para as amostras controle (sem tratamento), todas as diluições foram letais para 100% dos organismos testados. Esses achados reforçam a importância do tratamento, que apresentam uma redução considerável da toxicidade, prevenindo a imobilidade dos organismos nas concentrações testadas até 50 ppm.

Franciscon et al. (2015) relataram resultados promissores ao utilizar o consórcio bacteriano VN-MLKS para biodegradação do corante azo comercial Disperse Red 1 em um reator anaeróbio-aeróbio de dois estágios, em escala piloto. Nesse estudo, os metabólitos gerados após a degradação apresentaram toxicidade significativamente reduzida, sendo 125 vezes menos tóxicos para *Daphnia similis* em comparação ao corante original.

Da Silva et al. (2021) também obtiveram resultados positivos ao investigarem a descoloração do corante Direct Orange 2GL e a ecotoxicidade para *Daphnia similis*. Nesse trabalho, o uso de ramnolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa*

como agentes de adsorção mostrou-se eficaz. Os resultados ideais foram alcançados com a aplicação de $1,25 \text{ mg mL}^{-1}$ de ramnolípídeo, reduzindo significativamente a toxicidade da solução corante. A taxa de mortalidade foi reduzida para 26% na concentração inicial de $100 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de corante antes da adsorção, em comparação à concentração pós-adsorção de $25.603 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$.

Uma opção de pós tratamento complementar por processos oxidativos avançados a ser considerada seria o foto-feton. De Luna (2012) observou em seus tratamentos com amostras do corante azo Acid Orange 7 à 5, 10 e 30 minutos, que após 30 minutos de tratamento tanto a diluição a 30 ppm quanto a amostra sem diluição a 60 ppm apresentaram redução da imobilidade progressiva, atingindo 100% de organismos móveis em 30 minutos.

6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

6.1. CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:
- A linhagem fúngica I13-07 apresentou elevado potencial para a biodescoloração dos corantes Reactive Black 5 e Direct Yellow 27, destacando-se pela descoloração eficiente do corante Reactive Black 5.
- Nenhuma das linhagens testadas foi eficaz na descoloração do corante Alaranjado de Metila em nenhuma das concentrações analisadas, indicando que, nas condições experimentais, a biodescoloração desse corante é inviável.
- Os tratamentos com a linhagem I13-07 resultaram em baixa toxicidade nos ensaios ecotoxicológicos, sendo menos impactantes para a germinação e o crescimento radicular das plantas.
- O extrato fermentativo do consórcio fúngico indicou toxicidade reduzida, apresentando efeitos semelhantes aos observados nos controles com água destilada e nas amostras de corante não tratado.
- Em contrapartida, a linhagem I05-06 exibiu baixa capacidade de biodescoloração e gerou tratamentos com maior toxicidade.
- Apesar dos resultados positivos obtidos com o consórcio fúngico, estes não

foram significativamente superiores aos observados nas linhagens isoladas. Isso sugere que, nas condições experimentais analisadas, o uso combinado das linhagens não promoveu um efeito sinérgico relevante.

- Entre as enzimas avaliadas, a Manganês Peroxidase apresentou a maior atividade enzimática, com destaque para a linhagem I13-07, que enfatizou maior estabilidade na produção dessa enzima.
- A Lignina Peroxidase não apresentou atividade significativa, enquanto a Lacase mostrou atividade limitada.
- A maior atividade de Manganês Peroxidase foi observada em concentrações elevadas de corante (100 ppm), sugerindo uma relação direta entre a concentração de corante e a ativação enzimática.
- No tratamento do corante Direct Yellow 27 pela linhagem I13-07, observou-se baixa ecotoxicidade ao organismo *Daphnia similis*, com níveis aceitáveis de até 10% de imobilidade dos organismos na concentração de 50 ppm.

6.2 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Podem ser realizados outros trabalhos utilizando o corante alaranjado de metila em concentrações inferiores a 50 ppm e submetido a diferentes linhagens fúngicas.
- Consórcios entre bactérias e o fungo de linhagem I13-07 podem ser estudados.

REFERÊNCIAS

- ABD EL-RAHIM, W. M. *et al.* Biodegradation of azo dyes by bacterial or fungal consortium and identification of the biodegradation products. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 47, n. 3, p. 269-276, 2021.
- ABIT - Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. 2013. Disponível em: <https://www.abit.org.br/home>. Acesso em: 21 de jan. 2022.
- ADAMIAN, Y. *et al.* Recent developments in the immobilization of laccase on carbonaceous supports for environmental applications-a critical review. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 778239, 2021.
- AGRAWAL, K.; VERMA, P. Biodegradation of synthetic dye alizarin cyanine green by yellow laccase producing strain *Stropharia sp.* ITCC-8422. **Biocatal Agric Biotechnol** 21: 101291. 2019.
- ALAM, R. *et al.* Understanding the biodegradation pathways of azo dyes by immobilized white-rot fungus, *Trametes hirsuta* D7, using UPLC-PDA-FTICR MS supported by in silico simulations and toxicity assessment. **Chemosphere**, v. 313, p. 137505, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653522039984>. Acesso em: 10 jul. 2023.
- ALCÂNTRA, M. R.; DALTIM, D. A Química do processamento têxtil. **Química Nova**, v.19, n.3. p 320-30, 1996.
- ALMEIDA, E. J. R. **Estudo da biorremediação dos azo corantes têxteis acid blue 161 e procion red mx-5b por fungos filamentosos em solução simples e solução binária associado a testes de toxicidade com *Lactuca Sativa* e *Artemia Salina***. 2013. 163 f. Dissertação - (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2013.
- ALMEIDA, P. A. **Descoloração de corantes têxteis por *Phanerochaete chrysosporium* por sistema submerso**. 2018. Dissertação – (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2018.
- AMICARELLI, V. *et al.* Life cycle assessment to tackle the take-make-waste paradigm in the textiles production. **Waste Management**, v. 151, p. 10-27, 2022.
- AN, Q. *et al.* Evaluation of the Capacity of Laccase Secretion of Four Novel Isolated White-rot Fungal Strains in Submerged Fermentation with Lignocellulosic Biomass: **BioResources**, v. 16, n. 4, p. 6706-6722, 2021.
- ANASTASI, A. *et al.* Decolourisation and detoxification in the fungal treatment of textile wastewaters from dyeing processes. **New Biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 38-45, 2011.
- ANDRADE, P. A. W. DE. **Descoloração Enzimática de Vermelho Congo por Horseradish Peroxidase e Lacase de *Aspergillus sp.* e Avaliação da Fitotoxicidade**. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, 2020.
- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: DESA-UFMG/SANEPAR, 2001. 484 p.
- ASHADUZZAMAN, M.; KUNITAKE, M. Aqueous Dispersion and Temperature Induced Reversible Fluorescence Properties of 1-Pyrenecarboxaldehyde. **International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy**, v.6, p. 55-62, 2013.
- ASHKAN, Z *et al.* Immobilization of enzymes on nanoinorganic support materials: An update. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 168, p. 708-721, 2021.
- ASSEM, Á. A. M. **Análise da degradação de diferentes corantes azoicos a partir do crescimento**

do fungo *Pleurotus ostreatus florida*. 2017. 1 CD-ROM. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT-NBR 15.469:2021:** Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras. Edição 2022.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 12713:2022.** NBR 12713: Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda— Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera) Aquatic. Edição 2022.

BAFANA, A.; DEVI, S. S.; CHAKRABARTI, T. Azo dyes: past, present and the future. **Environmental Reviews**, v.19, p 350- 70, 2011.

BALDRIAN, P. Fungal laccases—occurrence and properties. **FEMS microbiology reviews**, v. 30, n. 2, p. 215-242, 2006.

BARCELLOS, I.O. **Química Têxtil II.** 183 p., Blumenau. 2004.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Potential sweep methods. In: _____. Electrochemical methods: fundamentals and applications. **Hoboken: John Wiley and Sons**, 2001. p.226-60.

BASTIAN, E. Y. O.; ROCCO, J. L .S. Guia Técnico Ambiental da Indústria Têxtil - Série P + L. São Paulo: CETESB: **SINDITÊXTIL**. 2009.

BAPTISTA, N. M. Q. *et al.* Produção das enzimas lignina peroxidase e lacase por fungos filamentosos. **Scientia Plena**, v. 8, n. 1, 2012.

BILA, D. M., s.d. **LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA PARA AVALIAÇÃO DE COR EM EFLUENTES INDUSTRIAIS.** red, v. 80, p. 60. Disponível em:

<https://iwra.org/member/congress/resource/PAP00-6071.pdf>. Acesso em: 12 de mar. 2023.

BLAISE, C. Introduction to ecotoxicological concepts. In: Proceedings of Biological Testing and Hazard Assessment. **Environmental Canada**, 1984. p. 11-47.

BLÁNQUEZ, P.; SARRÀ, M.; VICENT, T.. Development of a continuous process to adapt the textile wastewater treatment by fungi to industrial conditions. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511307002711>. Acesso em: 10 jul. 2023.

BNDES- **Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social setorial.** Rio de Janeiro: BNDES, 2009. n. 29, p. 163.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução do CONAMA n. 357**, de 17 de março de 2005. Disponível em:

<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2023.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução do CONAMA n. 430**, de 13 de maio de 2011. Disponível em:

<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 10 jul. 2023.

BRSEEDS. 2024. Disponível em: <https://www.brseeds.com/leguminosas/sementes-feijao-carioca-iac-1849-polaco-caixa-com-3-kg>. Acesso em: 28 de dez. 2024.

BURATINI, S. V. Biodegradação. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações.** 2 ed. São Carlos: RiMa, 2008. p. 89-116.

BYBERG, R., COBB, J. **Photocatalytic Degradation of a Series of Direct Azo Dyes Using Immobilized TiO₂.** Tese apresentada para obtenção do título de Bacharel em Ciências. Worcester Polytechnic Institute, Estados Unidos, 2012.

- CAIRES, L. **Microrganismos são alternativa sustentável para recuperação de áreas contaminadas. Com Ciência.** 2018. Disponível em: <https://www.comciencia.br/microrganismos-sao-alternativa-sustentavel-para-recuperacao-de-areas-contaminadas/>. 2018.
- CAMPOS, P. R. P. **Desenvolvimento e validação de um método de quantificação de corantes em amostra de suco artificial em pó. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.** Tese. 2014. Disponível em: https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/17792/1/PauloRPC_TESE.pdf. Acesso em 11 de out. 2023.
- CARAMELO L., MARTINEZ M. J. & MARTINEZ AT. A search for ligninolytic peroxidases in the fungus *Pleurotus eryngii* involving alpha-keto-gamma- thiomethylbutyric acid and lignin model dimmers. **Applied and Environmental Microbiology.** 1999. 65: 916–22.
- CARNEIRO, P. A. *et al.* Assessment of water contamination caused by a mutagenic textile effluent/dyehouse effluent bearing disperse dyes. **Journal of Hazardous Materials**, v.174, n.1-3, p.694-99, 2010.
- CBI - Centre for the Promotion of Imports from developing countries, Market Information Database, EU legislation: **Azo dyes in textile and leather products.** Disponível em: <http://www.cbi.eu.com>. Acesso em: 11 de ago. 2025.
- CEAGESP. **Alface Crespa.** 2024. Disponível em: <https://ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/alface-crespa/>. Acesso em: 28 de dez. 2024.
- CETESB. São Paulo. Procedimentos para Utilização de Testes de Toxicidade no controle de efluentes Líquidos. **Série Manuais.** São Paulo-SP.1990.
- CHAIM, M. S. **GUIA TÉCNICO AMBIENTAL DA INDÚSTRIA TÊXTIL.** 2014. Disponível em: <https://pnla.mma.gov.br/publicacoes-diversas?download=32:guia-textil&start=20>. Acesso em 05 de fev. 2023.
- CHEN, A. B. YANG, Y. ZHOU, Y. SUN, C. DING. Effects of azo dye on simultaneous biological removal of azo dye and nutrients in wastewater Royal Soc. **Open Sci.**, 5 (8) (2018), p. 180795
- CHEQUER, F. M. D. *et al.* **Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact; in Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing;** (pp.151-176). 2013.
- CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios.** 2. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2007. 5 v.
- CHRISTIE, R. Colour chemistry. Cambridge: **Royal Society of Chemistry**, 2014.
- CNI- Confederação Nacional da Indústria. **A importância da indústria de transformação para o Brasil.** 2023. Disponível em: https://static.portaldaindustria.com.br/media/filer_public/94/49/944994ca-046d-41be-ac42-d0c652f5194f/flyer_infograficos_perfildaindustria_brasileira_transformacao_jan23.pdf. Acesso em: 28 de jan. 2023.
- COGO, M. C. **Estudo de caracterização e disposição dos resíduos de uma Indústria Têxtil do estado do Rio Grande do Sul.** 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/38373>. Acesso em: 05 de fev. 2023.
- COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M.; ESPINDOLA, E. L. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussões e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830. 2008.
- CPRH. Roteiro Complementar de Licenciamento e Fiscalização para a Tipologia Têxtil. Recife: **CPRH/GTZ.** 2001;
- DA SILVA, V. L. *et al.* Rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa* can improve the removal of Direct Orange 2GL in textile dye industry effluents. **Journal of Molecular Liquids**, v. 321, p. 114753, 2021.

DE JONG, E. *et al.* Isolation and screening of basidiomycetes with high peroxidative activity. **Mycology Research**, v. 96, n. 12, p. 1098 – 1103, 1992.

DE LIMA, R. O. A.; BAZO, A. P.; SALVADORI, D. M. F.; RECH, C. M.; OLIVEIRA, D. P.; UMBUZEIRO, G. A. Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source. **Mutation Research**, v. 626, n. 1-2, p. 53-60, 2007.

DE LIMA, D.P. *et al.* Montanholi. Fungal bioremediation of pollutant aromatic amines. 2018. **Current Opinion in Green and Sustain Chem**, 11, pp. 34-4.

DE LUNA, L. A. V. **Ecotoxicidade de corantes e de produtos de tratamento oxidativo avançado**. 2012. Unicamp. Dissertação de mestrado. 2012.

DE MELO, I. S.; SILVA, C. M. M. S. Biodegradação. **Embrapa Meio Ambiente**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/manejo/biodegradacao>. Acesso em: 30 de out. 2023.

DENTI, A. F. Tecnologia enzimática: classificação, imobilização, suportes e aplicações. **Revista Perspectiva**, v. 45, n. 171, p. 97-110, 2021.

DING, Y., BERTRAM, J. R., ECKERT, C., BOMMAREDDY, R. R., PATEL, R., CONRADIE, A., ... & NAGPAL, P. (2019). Nanorg microbial factories: light-driven renewable biochemical synthesis using quantum dot-bacteria nanobiohybrids. **Journal of the American Chemical Society**, 141(26), 10272-10282.

DO NASCIMENTO, J. V. F. **Potencial de Fungos Filamentosos Isolados do Parque Nacional de Itatiaia na Descoloração de Corantes Têxteis**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

DO NASCIMENTO, A. C. B. **Potencial Biotecnológico de Fungos Filamentosos na Utilização do Herbicida de 2,4- D como Fonte de Carbono**. Rio de Janeiro. 2023.

DO NASCIMENTO, A. B.; CERVANTES, F.J.; VAN LIER, J. B. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewater: perspectives for anaerobic biotechnology. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2369-2385. 2007.

DOS SANTOS, P.M.; BARUQUE, J.R.; DE SOUZA LIRA, R.K.; LEITE, S.G.F.; DO NASCIMENTO, R.P.; BORGES, C.P.; WOJCIESZAK, R.; ITABAIANA, I., JR. Corn Cob as a Green Support for Laccase Immobilization—Application on Decolorization of Remazol Brilliant Blue R. **Int. J. Mol. Sci.** 2022, 23, 9363. <https://doi.org/10.3390/ijms23169363>.

DOS SANTOS, E. L. F. M.. **Degradação de corantes têxteis por fungos filamentosos isolados do Planalto das Agulhas Negras, RJ**. TCC (Graduação)-Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

D'SOUZA, T. M., MERRIT, C. S. & REDDY, C. A. Lignin-modifying enzymes of the white rot basidiomycete *Ganoderma lucidum*. **Applied and Environmental Microbiology** 65: 5307- 5313. 1999.

DUARTE, A. R. S. **Design têxtil e moda**. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Arquitetura. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/22745>. Acesso em: 18 de jan. 2022.

DURÁN, N.; ESPOSITO, E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. **Applied Catalysis B: Environment**, v. 28, p. 83-90, 2000.

EL-BATAL, A. I. *et al.* Laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its application in synthesis of gold nanoparticles. **Biotechnology Reports**, v. 5, p. 31-39, 2015.

EMBRAPA. **Conhecendo a Fenologia do Feijoeiro e Seus Aspectos Fitotécnicos**. 2018. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1085830/1/CNPAF2018lvfeijoeiro.pdf>. Acesso em: 28 de dez. 2024.

ENAYATZAMIR, K., ALIKHANI, H. A., & COUTO, S. R. (2009). Simultaneous production of laccase and decolouration of the diazo dye Reactive Black 5 in a fixed-bed bioreactor. **Journal of hazardous materials**, 164(1), 296-300.

ESPOSITO, E.; DE AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2004.

FALADE, A. O. *et al.* Lignin peroxidase functionalities and prospective applications. **Microbiology Open**, 2017.

FARACO, V. *et al.* Bio-remediation of colored industrial wastewaters by the white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus ostreatus* and their enzymes. **Biodegradation**, v. 20, n. 2, p. 209-220, 2009.

FIECHTER, A. Function and synthesis of enzymes involved in lignin degradation. **Journal of Biotechnology** 30: 49-55. 1993.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p. 99-112, Malden, 1985.

FONTES, B. J. *et al.* Laccases produced by Peniophora from marine and terrestrial origin: A comparative study. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102066, 2021.

FRANCISCON, E., MENDONÇA, D., SEBER, S., MORALES, D. A., ZOCCOLO, G. J., ZANONI, M. B., ... & UMBUZEIRO, G. A. (2015). Potential of a bacterial consortium to degrade azo dye Disperse Red 1 in a pilot scale anaerobic-aerobic reactor. **Process Biochemistry**, 50(5), 816-825.

FRITZKE, W. *et al.* Peroxidase of Cedrela fissilis leaves: Biochemical characterization and toxicity of enzymatically decolored solution of textile dye Brilliant Sky-Blue G. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 24, n. February, p. 101553, 2020.

FUJITA, R. M. L.; JORENTE, M. J. A Indústria Têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural. **ModaPalavra e-periódico**, n. 15, p. 153-174, 2015. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/5140/514051496008.pdf>. Acesso em: 21 de jan. 2022.

GHALY, A. E. *et al.* Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. **Jornal of Chemical Engineering and Process Technology**, v.5, n.1, p.1-19, 2014.

GOMES, C.M e RIBEIRO, M. D. N. **Degradação de Corantes por Fungos Filamentosos Isolados do Parque Nacional de Itatiaia. Monografia apresentada para obtenção do título de Engenheiro de Bioprocessos**. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

GONDIM, A. L. N. BARBOSA, A. P. A.; PAZ, M. C. F. Remoção Biológica de Corantes Têxteis através do consórcio bacteriano entre *Pseudomonas Aeruginosa* e *Geobacillus Stearothermophilus* UCP98. **CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA**, 2, 2007, João Pessoa. João Pessoa: UFPB, 2007.

GONG, R. SUN, Y. CHEN, J. LIU, H. YANG, C. Effect of chemical modification on dye adsorption capacity of peanut hull. **Dyes Pigments**. 67: 175–181, 2005.

GOODELL, B., Brown-rot fungal degradation of wood: our evolving view. Wood deterioration and preservation, Advances in Our Changing World. **ACS Symposium**. 2003. <<http://doi.org/10.1021/bk-2003-845ch006>> Acesso em: 30 ago. 2019.

- GOPINATHAN, R.; KANHERE, J.; BANERJEE, J. Effect of malachite green toxicity on non target soil organisms. **Chemosphere**, v. 120, p. 637-644, 2015.
- GORDON, P. F.; GREGORY, P. Organic Chemistry in Colour. Berlin: **Springer-Verlag**, 1987.
- GOWRI RS, VIJAYARAGHAVAN R, MEENAMBIGAI P. Degradação microbiana de corantes reativos - uma revisão. **Int J Curr Microbiol App Sci** 3(3):421–436. 2014.
- GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 71-78, jan./fev. 2000.
- GUO, J., SUÁSTEGUI, M., SAKIMOTO, K. K., MOODY, V. M., XIAO, G., NOCERA, D. G., & JOSHI, N. S. (2018). Light-driven fine chemical production in yeast biohybrids. **Science**, 362(6416), 813-816.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental science & technology**, v. 11, n. 7, p. 714-719, 1977.
- HATAKKA, A., HAMMEL, KE. Biodegradação Fúngica de Lignoceluloses. In: Hofrichter, M. (eds) Aplicações Industriais. The Mycota, vol 10. **Springer**, Berlim, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11458-8_15. 2011.
- HETTIARACHCHY, N. S.; FELIZ, D. J.; EDWARDS, J. S.; HORAX, R. The use of immobilized enzymes to improve functionality. **Proteins in food processing**, p. 569-597, 2018.
- HE XL, SONG C, LI YY, WANG N, XU L, HAN X, WEI DS: Efficient degradation of azo dyes by a newly isolated fungus *Trichoderma tomentosum* under non-sterile conditions. **Ecotoxicol Environ Saf** 2018, 150:232–239.
- HOFFMAN, D. J. *et al.* Handbook of Ecotoxicology. 2. ed. Washington, D. C.: **Lewis Publishers**, 2003. p. 76-110.
- HOFRICHTER, M. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). **Enzyme and Microbial Technology**, v.30, p.454-466, 2002.
- HSU, Chih-An *et al.* Biological degradation of anthroquinone and azo dyes by a novel laccase from *Lentinus sp.* **Environmental science & technology**, v. 46, n. 9, p. 5109-5117, 2012. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es2047014>. Acesso em: 10 jul. 2023.
- HUNDARI, F. F.; DUARTE, E. H.; PEREIRA, A. C.; DALL'ANTONIA, L. H.; KUBOTA, L. T.; TARLEY, C. R. T. Voltammetric method optimized by multi-response assays for the simultaneous measurements of uric acid and acetaminophen in urine in the presence of surfactant using MWCNT paste electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.696, p. 52-8, 2013.
- HUNGER, K. Industrial dyes: chemistry, properties, applications. Weinheim: Wiley- VCH Publishers, 2003._____. On the toxicology and metabolism of azo dyes. **Chimia**, v.48, n. 11, p. 520-2, 1994.
- HUNGER, M.; WEITKAMP, J. In situ IR, NMR, EPR, and UV/ Vis spectroscopy: tools for new insight into the mechanisms of heterogeneous catalysis. **Angewandte Chemie International Edition**, v.40, p. 2954-71, 2001.
- HUSSAIN, S. *et al.* Biodecolorization of reactive black-5 by a metal and salt tolerant bacterial strain *Pseudomonas sp.* RA20 isolated from Paharang drain effluents in Pakistan. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 98, p. 331-338, 2013.
- HUY, N. D. *et al.* Synthetic dyes removal by *Fusarium oxysporum* HUIB02 and stimulation effect on laccase accumulation. **Environmental Technology & Innovation**, v. 19, p. 101027, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352186420313274>. Acesso em: 09 de ago.

2023.

IARK D, A.J. DOS REIS BUZZO, J.A.A. GARCIA, V.G. CÔRREA, C.V. HELM, R.C.G. CORRÊA, R.A. PERALTA, R.D.F.P.M. MOREIRA, A. BRACHT, R.M. PERALTA. Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. 2019. **Bioresour Technol**, 289, p. 121655.

IEMI- Inteligência de Mercado. **Brasil Têxtil 2022**: Relatório Setorial da Indústria Têxtil Brasileira. 2022.

IMMICH A.P.S; SOUZA A. A. U; SOUZA S. M. A. U; Removal of Remazol Blue RR dye from aqueous solutions with Neem leaves and evaluation of their acute toxicity with *Daphnia magna*. **Journal of Hazardous Materials**. v.164. p.1580–1585, 2009.

INMETRO- Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Diretriz 2004/21/CE**. Disponível em: <http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004L0021:PT:HTML>. Acesso em: 12 de mar. 2023.

ISROI, Isroi *et al*. Biological treatment of Lignocelluloses with white-rot fungi and its applications. **BioResources**, v. 6, n. 4, p. 5224-5259, 2011.

JEYABALAN, J. *et al*. A review on the laccase assisted decolourization of dyes: Recent trends and research progress. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 151, p. 105081, 2023.

KALLIALA, E.; TALVENMAA, P.. Environmental profile of textile wet processing in Finland. **Journal of Cleaner Production**, v. 8, n. 2, p. 143-154, 2000.

KAUSHIK, P.; MALIK, A. Fungal dye decolourization: recent advances and future potential. **Environment international**, v. 35, n. 1, p. 127-141, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412008001037>. Acesso em: 10 jun. 2023.

KERSTEN, P.J.; TIEN, M.; KALYANARAMAN B.; KIRK TK. The ligninases of *Phanaerochaete chrysosporum* generates cation radicals from methoxybenzenes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, p. 2609-2612, 1985.

KHAN, W. U.; AHMED, S.; DHOBLE, Y.; MADHAV, S. A critical review of hazardous waste generation from textile industries and associated ecological impacts. **Journal of the Indian Chemical Society**. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0019452222004915#bib2>. Acesso em: 11 de out. 2023.

KHETI, N. K.; RATH, S.; THATOI, H. Screening and optimization of Manganese peroxidase (MnP) production by *Pseudoduganella violacea* (SMB4), a bacterial isolate from Similipal Biosphere Reserve, Odisha and evaluation of Maillard reaction products degradation, **Sustainable Chemistry for the Environment**, Volume 2, 2023.

KIRK, T. K.; FARRELL, R. L. Enzymatic combustion: the microbial degradation of lignin. **Annual Review of Microbiology**, v.41, p.465-505, 1987.

KNACKMUSS, H. J. Basic knowledge and perspectives of bioelimination of xenobiotic compounds. **Journal of Biotechnology** 51:287-295, 1996.

KON, A.; COAN, D. C. Transformações da Indústria Têxtil Brasileira: a Transição para a Modernização. **Revista de Economia Mackenzie**. Ano 3, n. 3, p. 11-34. São Paulo. 2005. Disponível em: <http://www3.mackenzie.br/editora/index.php/rem/article/download/774/461&sa=U&ei=CTqpT7ytN4We8gTUhrDUBg&ved=0CCEQFjAFOAo&usq=AFQjCNGZzCqlqZKVDc8bCtO9LVmDCupHPA>. Acesso em: 05 de fev. 2023.

KUHAD, R.C.; SINGH, A.; ERIKSSON, K.E.L. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls. **Advances in biochemical engineering/biotechnology**, Berlim

v. 57, p. 45-126, 1997.

KUMMROW, F.; UMBUZEIRO, G. DE A. 2-Fenilbenzotriazóis (PBTA): Uma nova classe de contaminantes ambientais. **Química Nova**, v. 31, n.2, p.401-6, 2008.

ŁEBKOWSKA, M.; ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ, M. Application of white-rot fungi for biodegradation of refractory organic compounds—a review. **Desalination and Water Treatment**, v. 52, n. 19-21, p. 3708-3713, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19443994.2014.884666>. Acesso em: 10 jul. 2023.

LEGERSKÁ, B.; CHMELOVÁ, D.; ONDREJOVIČ, M. Decolourization and detoxification of monoazo dyes by laccase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Journal of Biotechnology**, v. 285, n. August, p. 84–90, 2018.

LEONOWICZ, A.; EDGEHILL, R. U.; BOLLAG, J.-M. The effect of pH on the transformation of syringic and vanillic acids by the laccases of *Rhizoctonia praticola* and *Trametes versicolor*. **Archives of microbiology**, v. 137, p. 89-96, 1984.

LEVIN, L.; PAPINUTTI, L.; FORCHIASSIN, F. Evaluation of Argentinean white rot fungi for their ability to produce lignin-modifying enzymes and decolorize industrial dyes. **Bioresource Technology**, v. 94, n. 2, p. 169-176, 2004.

LIU, S. X. XU, Y. KANG, Y. XIAO, H. LIU. Degradation and detoxification of azo dyes with recombinant ligninolytic enzymes from *Aspergillus sp.* with secretory overexpression in *Pichia pastoris*. 2020. **Royal Soc Open Sci**, 7, p. 200688.

LOCATELLI, M. A. F. **Processos Oxidativos Avançados (POA) no tratamento in situ de corpos de águas superficiais**. 2011. Disponível em: <<http://www.ambiente.sp.gov.br/pomarurbano/files/2011/10/Dr-marco-antonio-fernandes-locatelli.pdf>>. Acesso em: 22 de out. 2025.

MADHAV, S. *et al.* A review of textile industry: Wet processing, environmental impacts, and effluent treatment methods. **Environmental Quality Management**, v. 27, n. 3, p. 31-41, 2018.

MAESTRE-REYNA, M. *et al.* (2015) Structural and Functional Roles of Glycosylation in Fungal Laccase from *Lentinus sp.* **PLoS ONE** 10(4): e0120601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120601>.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de sistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, Rio de Janeiro, 2008.

MARÇO, P. H. *et al.* Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v.31, p.1218-23, 2008.

MARTÍNEZ, A. T. 2002. Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. **Enzyme Microbial Technology**. 30: 425-444.

MARTINS, G. BC; SUCUPIRA, R. R.; SUAREZ, P. AZ. A Química e as Cores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1508-1534, 2015.

MEIRELES, G. *et al.* The commercial textile dye disperse red 73 induces toxicity in *Danio rerio* and *Daphnia similis*. **Toxicology Letters**, n. 229, p. S112, 2014.

MISHRA, S., MAITI, A. A eficácia de espécies bacterianas para descolorir corantes reativos azo, antroquinona e trifênilmetano de águas residuais: uma revisão. **Environ Sci Pollut Res** 25 , 8286–8314. 2018. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1273-2>.

MOREIRA NETO, S. L. **Enzimas ligninolíticas produzidas por *Psilocybe castanella* CCB444 em solo contaminado com hexaclorobenzeno**. Dissertação de mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo, 124 p. 2006.

- MORSI, R. *et al.* Laccases and peroxidases: the smart, greener and futuristic biocatalytic tools to mitigate recalcitrant emerging pollutants. **Science of the total environment**, v. 714, p. 136572, 2020.
- MOTA, T. R. *et al.* Decolourization of Congo Red by *Ganoderma lucidum* Laccase: Evaluation of Degradation Products and Toxicity. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 226, n. 10, 2015.
- MOUGIN, C.; JOLIVALT, C.; BRIOZZO, P.; MADZAK, C. Fungal lacases: from structure-activity studies to environmental applications. **Environmental Chemistry Letters**, v.1, p. 145 - 148, 2003.
- MTIBAÁ, R. *et al.* Purificação e caracterização de uma lacase fúngica do ascomiceto *Thielavia* sp. e seu papel na descoloração de um corante recalcitrante. **Revista internacional de macromoléculas biológicas**, v. 120, p. 1744-1751, 2018.
- MUNIZ, A. M. V. **Geografia da Indústria Têxtil e de confecção**. 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/69457>. Acesso em: 29 de jan. 2023.
- NIEBISCH, C. H. (2009). **Biodegradação do corante textil remazol azul por *Lentinus crinitus*, *Lepista sordida* e *Hydnopolyporus fimbriatus***. Tese.
- NILSSON, I. *et al.* Decolorization of synthetic and real textile wastewater by the use of white-rot fungi. **Enzyme and microbial technology**, v. 38, n. 1-2, p. 94-100, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022905001973>. Acesso em: 10 jul. 2023.
- OLIVEIRA, D. P. *et al.* Chemical characterization of a dye processing plant effluent - Identification of the mutagenic components. **Mutation research- Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 626, n.1-2, p. 135-42, 2007.
- OLIVEIRA, L. H. S.; BARRETO, M. B.; VITALLI, V. M. V.; MACHADO, K. M. G.; MATHEUS, D. R. Descoloração de corantes sintéticos por basidiomicetos tropicais brasileiros. **Naturalia**, Rio Claro, v.33, p. 85-99. 2010.
- PARDO, I.; CAMARERO, S. Laccase engineering by rational and evolutionary design. **Cellular and molecular life sciences**, v. 72, p. 897-910, 2015.
- PEREIRA, G. de S. **Introdução à tecnologia têxtil**. 2017. Disponível em: <https://wiki.ifsc.edu.br/mediawiki/images/7/7d/Apostila_tecnologia.pdf>. Acesso em: 10 out. 2023.
- PRAMANIK, S.; CHAUDHURI, S. Laccase activity and azo dye decolorization potential of *Podoscypha elegans*. **Mycobiology**, v. 46, n. 1, p. 79-83, 2018.
- RAGHUKUMAR, C., D'SOUZA, T.M. & THORN, R.G. 1999. Lignin – modifying enzymes of *Flavodon flavus*, a basidiomycete isolated from a coastal marine environment. **Applied and Environmental Microbiology** 6555: 2103-2111.
- RATHI, B. S.; KUMAR, P. S. Sustainable approach on the biodegradation of azo dyes: a short review. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 33, p. 100578, 2022.
- RESOLUÇÃO CONAMA nº 357**, de 17 de março de 2005. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classification_corpos_agua_rtfda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf. Acesso em: 12 de mar. 2023.
- RIEDEL, S. *et al.* Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg-26. **McGraw Hill Brasil**, 2020. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5714392/mod_resource/content/2/Microbiologia_2014Jawetz%2C%20Melnick%2C%20Adelberg.%2026._ed._-www.meulivro.mobi.pdf. Acesso em: 19 de set. 2023.
- RIGO, D. *et al.* **Produção Microbiológica de Enzimas: uma Revisão**. 2020.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV- vis. **Química Nova**, v.27, p.807-12, 2004.

ROBINSON, T. et al. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource Technology**, v.77, n.3, p.247-55, maio 2001.

ROSSETTI, C. et al. **Caracterização morfológica de sementes de alface (*Lactuca Sativa* L.)**. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/342778534_Caracterizacao_morfologica_de_sementes_de_alface_Lactuca_Sativa_L. Acesso em: 28 de dez. 2024.

ROUSHDY, M. M. et al. Biotechnological approach for lignin peroxidase (lip) production from agricultural wastes (rice husk) by *Cunninghamella elegans*. **Journal of American Science**, v. 7, n. 5, p. 6-13, 2011.

PANDEY, K.; SAHA, P.; RAO, K.B..A study on the utility of immobilized cells of indigenous bacteria for biodegradation of reactive azo dyes. 2020. **Prep Biochem Biotechnol**, pp. 317-329.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introduction to Spectroscopy**. 4. ed. Stamford (CT): Cengage Learning, 2009.

PIZATO, E. **Avaliação da capacidade de remoção de corante têxtil pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI em efluente sintético e industrial**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná. 2013.

SANTANA, V. F. S. C. **Descoloração do corante índigo carmim por agaricomycetes coletados no norte e nordeste do Brasil**. 2022.

SANTELLO, L. C. Biodegradação e destoxificação do corante têxtil preto reativo 5 pelo basidiomiceto de origem marinha *Peniophora* sp. **CBMAI** 1063. 2023.

SARATALE et al., 2011. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review J. **Taiwan Inst. Chem. Eng.**, 42 (1). 2011. pp. 138-157.

SAROJ, S. et al. Biodegradation of azo dyes Acid Red 183, Direct Blue 15 and Direct Red 75 by the isolate *Penicillium oxalicum* SAR-3. **Chemosphere**, v. 107, p. 240-248, 2014.

SCHALLEMBERGER, J. B. et al. **Remoção de corantes têxteis utilizando o substrato residual da produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus*: degradação enzimática e adsorção**. 2021.

SCHITTLER, L. et al. Extracts of Leaves of *Ficus auriculata* Lour.: Antioxidant, Antimicrobial and Phytotoxic Activity. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 83, n. 4, p. 321–328, 2018.

SCHOEMAKER, H. E, et al. On the mechanism of enzymatic lignin breakdown. **FEBS Letters**. v.183, p. 7-12, 1985.

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

SENTHIVELAN, T.; KANAGARAJ, J.; PANDA, R. C. Recent trends in fungal laccase for various industrial applications: an eco-friendly approach-a review. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 21, p. 19-38, 2016.

SHEKHER, R. et al. Laccase: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Enzyme research**, v. 2011, 2011.

SHORE, J. Colorants and auxiliaries: organic chemistry and application properties. v.1. 2.ed. **Bradford: Society of Dyers and Colorists**, 2002.

SHOKRI, M. *et al.* Biodegradation of acid orange-7 dye by immobilized laccase on functionalized ZSM-5 zeolites: Investigation of the role of functionalization and SiO₂/Al₂O₃ ratio of zeolite on the catalytic performance. **Journal of Molecular Structure**, v. 1278, p. 134919, 2023.

SILVA, R. R.; COELHO, G. D. Fungos: principais grupos e aplicações biotecnológicas. **São Paulo: Instituto de Botânica**. 2006.

SILVA, G. H. R. **Formação de aldeídos e trihalometanos da desinfecção por ozonização, cloração e ozonização/cloração de efluente de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário**. 2008. 443 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

SINGH, A. L. *et al.* Biodegradation of Reactive Yellow-145 azo dye using bacterial consortium: A deterministic analysis based on degradable Metabolite, phytotoxicity and genotoxicity study. **Chemosphere**, v. 300, p. 134504, 2022.

SINGH, K.; ARORA, S. Removal of synthetic textile dyes from wastewaters: a critical review on present treatment technologies. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 41, n. 9, p. 807-878, 2011. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643380903218376>. Acesso em: 10 jul. 2023.

SKROBOT, V. L. **Avaliação e comparação de ensaios de estabilidade de óleo diesel utilizando FTIR, GC-MS e ferramentas quimiométricas**. 2020.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A.. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. **México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua**, p. 63-70, 2004.

SOBRERO, M. S.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. In: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. **Ensayos Toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas em agua y suelo**. 1 ed, Instituto Nacional de Ecología, Semarnat, México, p. 55-68, 2008.

SOLÍS, M. *et al.* Microbial decolouration of azo dyes: a review. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 1723-1748, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511312003327>. Acesso em: 31 de jul. 2023.

SOLOVCHENKO, A. *et al.* Recent developments in microalgal conversion of organic-enriched waste streams. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 24, p. 61-66, 2020.

SUTEU, D.; ZAHARIA, C.; BILBA, D.; MURESAN, A.; MURESAN, R.; POPESCU, A. Decolorization wastewaters from the textile industry – physical methods, chemical methods. *Industria Textila*, v. 60, n. 5, p. 254-263, 2009.

TEXTILE EXCHANGE (2020). Preferred Fiber & Materials. **Market Report 2020**. Disponível em: https://textileexchange.org/wp-content/uploads/2020/06/Textile-Exchange_PREFERRED-Fiber-Material-Market-Report_2020.pdf. Acesso em: 05 de fev. 2023.

THAO, T. T. P., NGUYEN-THI, M. L., CHUNG, N. D., OOI, C. W., PARK, S. M., LAN, T. T., ... & HUY, N. D. (2023). Microbial biodegradation of recalcitrant synthetic dyes from textile-enriched wastewater by *Fusarium oxysporum*. **Chemosphere**, 325, 138392.

TIQUIA, S.M.; TAM, N.F.Y.; HODGKISS, I.J. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter, **Environmental Pollution**, Volume 93, Issue 3, 1996, Pages 249-256, ISSN 0269-7491, [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(96\)00052-8](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(96)00052-8).

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R; CASE, C. L. Microbiologia. 12 Porto Alegre: Artmed, 2017, 935 p.

TOTHILL, I. E.; TURNER, A. P. F. Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 15, n. 5, p. 178-188, 1996. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993696806406>. Acesso em: 31 de jul. 2023.

TREVIZANI, J. L. B. **Descoloração e degradação do azo corante vermelho BR por ozonização. 2015.** Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAK KA, A.; ITAVAARA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 169-183. 2000.

UDDANDARAO, P. e PIET N.L, L. Light driven *Aspergillus niger*-ZnS nanobiohybrids for degradation of methyl orange, **Chemosphere**, Volume 298, 2022, 134162, ISSN 0045-6535. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653522006555>. Acesso em: 29 de dez. 2024.

UFS- Universidade Federal de Sergipe. **Microbiologia Geral- aula 3.** 2023.

UMBUZEIRO, G. A. et al. The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. **Chemosphere**, v. 60, p.55-64, 2005.

USEPA- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Aerobic and anaerobic treatment of C.I. Disperse Blue 79. **United States Environmental Protection Agency**, 1990.

VACCHI, F. I. et al. Occurrence and risk assessment of an azo dye–The case of Disperse Red 1. **chemosphere**, v. 156, p. 95-100, 2016.

VIEIRA, D. A. D. P., FERNANDES, N. C. D. A. Q. **Microbiologia Geral.** 2016. Disponível em: <https://proedu.rnp.br/handle/123456789/376>. Acesso em: 02 de jan. 2025.

VILLEGAS-NAVARRO, A., et al. 2001. Determination of wastewater LC50 of the different process stages of the textile industry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 48(1), 56-61.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias.** Lodos Ativados. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1997. 4 v.

_____. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2005. 1 v.

_____. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Princípios básicos do tratamento de esgotos. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1996. 2 v.

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

YANG, Qingxiang *et al.* Decolorization of an azo dye, Reactive Black 5 and MnP production by yeast isolate: *Debaryomyces polymorphus*. **Biochemical engineering journal**, v. 24, n. 3, p. 249-253, 2005.

YANG, X. Q.; ZHAO, X. X.; LIU, C. Y.; ZHENG, Y.; QIAN, S. J. Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by a newly isolated *Trametes sp.* SQ01 and its laccase. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 1185-9, 2009.

YI, H.; MENG, Z. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. **Mutation Research**, v. 537, p. 109-114, Amsterdam, 2003.

YIN, L. *et al.* Induction, purification, and characterization of a thermo and pH stable laccase from *Abortiporus biennis* J2 and its application on the clarification of litchi juice. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 81, n. 5, p. 1033-1040, 2017.

Yucel, T. T. Hacettepe Universitesi - Faculdade de Medicina, **Departamento de Pediatria**, UNIDADE de Genética Clínica, Ancara, Turquia. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/DL9WrXY5yyJPXJLkSfTRQMR/?lang=en>. Acesso em: 29 de dez. 2024.

ZAGATTO, A. P.; BERTOLETTI, E. *Ecoxotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. São Carlos: **Editora RiMa**, 2008. p. 1-13.

ZANONI, M. V. B; YAMANAKA, H. **Corante: Caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Guilherme-Bessegato/publication/312660699_Analise_critica_dos_processos_empregados_no_tratamento_de_e_fluentes_texteis_Capitulo_13/links/58879285aca272b7b4525785/Analise-critica-dos-processos-empregados-no-tratamento-de-efluentes-texteis-Capitulo-13.pdf. Acesso em: 11 de fev. 2023.

ZHANG, H. *et al.* Degradation efficiency of the azo dye acid orange 2 and microbial community characteristics in a rotating algal biofilm reactor. **Journal of Water Process Engineering**, v. 50, p. 103233, 2022.

ZHANG, M. *et al.* Facile synthesis of recyclable laccase-mineral hybrid complexes with enhanced activity and stability for biodegradation of Evans Blue dye. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 188, p. 783-789, 2021.

ZHUO, R.; FAN, F. A comprehensive insight into the application of white rot fungi and their lignocellulolytic enzymes in the removal of organic pollutants. **Science of the Total Environment**, v. 778, p. 146132, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969721011992>. Acesso em: 10 jul. 2023.

ZOCOLO, G. J. *et al.* Using SPE-LC-ESI-MS/MS Analysis to assess disperse dyes in environmental water samples. **Journal of Chromatographic Science**, v. 53, n. 8, p. 1257-64, set. 2015.

ZOLLINGER, H. **Color chemistry: syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments**. 3.ed. Switzerland: V.C.H. Publishers, 2003.