



ANA PAULA ACERBI RIBEIRO

**EFEITO DE FUNGOS BASIDIOMICETOS NA
DESCOLORAÇÃO E FITOTOXICIDADE DE
CORANTE SINTÉTICO E EFLUENTE TÊXTIL**

LAVRAS – MG

2013

ANA PAULA ACERBI RIBEIRO

**EFEITO DE FUNGOS BASIDIOMICETOS NA DESCOLORAÇÃO E
FITOTOXICIDADE DE CORANTE SINTÉTICO E EFLUENTE TÊXTIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Sára Maria Chalfoun

Coorientadora

Dra. Ligiane Aparecida Florentino

LAVRAS – MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Ribeiro, Ana Paula Acerbi.

Efeito de fungos basidiomicetos na descoloração e fitotoxicidade de corante sintético e efluente têxtil / Ana Paula Acerbi Ribeiro. – Lavras : UFLA, 2013.

60 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Sara Maria Chalfoun de Souza.

Bibliografia.

1. *Lentinula edodes*. 2. *Pleurotus ostreatus*. 3. *Pleurotus sajor-caju*. 4. *Lactuca sativa*. 5. Biorremediação. 6. Biodegradação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 589.22

ANA PAULA ACERBI RIBEIRO

**EFEITO DE FUNGOS BASIDIOMICETOS NA DESCOLORAÇÃO E
FITOTOXICIDADE DE CORANTE SINTÉTICO E EFLUENTE TÊXTIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de maio de 2013.

Dr. Whasley Ferreira Duarte UFLA

Dr. Eduardo Alves UFLA

Dra. Sára Maria Chalfoun
Orientadora

Dra. Ligiane Aparecida Florentino
Coorientadora

LAVRAS – MG

2013

Dedico aos meus pais, Túlio e Ana Lúcia; ao meu irmão, Marco Túlio e ao meu marido, Matheus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pelo dom da vida e pela oportunidade de concluir mais esta etapa.

Aos meus pais e irmão, por apoiarem meus sonhos, acreditarem na minha capacidade e por me amarem sempre.

Ao meu marido, Matheus, por todo apoio, compreensão, ajuda, incentivo e carinho.

Às amigas, antigas e novas, por toda a ajuda e pelos momentos de descontração.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade oferecida.

À professora Sara, minha orientadora, pela dedicação e confiança depositada.

À professora Ligiane, pela essencial ajuda e por sempre ter me atendido quando precisei.

À EPAMIG e aos seus funcionários que, de alguma forma, contribuíram para essa conquista.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

“Seja a mudança que deseja ver no mundo.”

Gandhi

RESUMO

A eliminação de rejeitos tóxicos provenientes das atividades industriais, principalmente do setor têxtil, tem levado os pesquisadores a buscarem novas técnicas que diminuam ou eliminem a toxicidade desses efluentes. O efluente têxtil apresenta uma demanda química de oxigênio elevada e forte coloração, tornando necessário um tratamento específico. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a descoloração do corante Remazol Brilliant Blue R (RBBR) e de efluente têxtil, utilizando culturas pré-selecionadas dos fungos basidiomicetos *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostraetus* e *Pleurotus pulmonarius*, e a fitotoxicidade do corante e do efluente, antes e após o tratamento com os fungos. O teste de descoloração foi realizado em meio líquido e a absorbância determinada em espectrofotômetro. Para o corante, foram utilizados dois valores de pH (5,0 e 9,0) e de concentração (0,1 gL⁻¹ e 0,5 gL⁻¹). Sementes de alface foram expostas às amostras de corante e efluente têxtil, e os parâmetros avaliados foram taxa de germinação e comprimento da raiz. O fungo *Pleurotus pulmonarius* foi o que apresentou melhor resultado na descoloração do corante RBBR, nos dois valores de pH e concentração. Quanto ao efluente têxtil, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Em alguns tratamentos com o corante tratado, a taxa de germinação diminuiu, indicando toxicidade após a descoloração. Entretanto, houve aumento no crescimento da raiz, na presença do corante tratado com o fungo *P. pulmonarius*.

Palavras-chave: *Pleurotus pulmonarius*. Remazol Brilliant Blue R. Descoloração. Toxicidade.

ABSTRACT

The elimination of toxic wastes from industrial activities, mainly the textile industry, has induced the researchers to seek new techniques that reduce or eliminate the toxicity of these effluents. The textile effluent has a high chemical demand of oxygen and strong coloration, requiring an specific treatment. The aim of this study was to evaluated the decolorization Remazol Brilliant Blue R (RBBR) and textile effluent using pre-selected cultures of basidiomycete fungi: *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* and *Pleutotus pulmorarius*, and phytotoxicity of the dye and effluent before and after treatment with fungi. The decolorization test was realized in a liquid medium and the absorbance determined in spectrophotometer. For the dye was used to two pH values (5.0 and 9.0) and concentration (0.1 gL⁻¹ and 0.5 gL⁻¹). *Lactuca sativa* seeds were exposed to dye samples and textile effluents and the parameters evaluated were the germination rate and root lenght. The fungi *Pleurotus pulmonarius* was the one with the best result on the decolorization of dye RBBR on the both values: pH and concentration. As the textile effluent there was no significant difference among the treatments. In some treatments with the dye germination rate decreased indicating toxicity after decolorization. However there was an increase in root growth in the presence of the dye treated with *P. pulmonarius*.

Keywords: *Pleurotus pulmonarius*. Remazol Brilliant Blue R. Decolorization. Toxicity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Atividades industriais e o setor têxtil	14
2.2	Efluentes têxteis	15
2.3	Corantes têxteis e toxicidade	17
2.4	Regulamentações ambientais para o descarte	22
2.5	Tipos de tratamento	24
2.6	Tratamento biológico utilizando fungos basidiomicetos	27
2.7	Ecotoxicologia de amostras ambientais	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1	Corante têxtil	32
3.2	Efluente têxtil	32
3.3	Fungos basidiomicetos utilizados	33
3.4	Teste de descoloração em meio líquido com o corante RBBR	33
3.5	Teste de descoloração em meio líquido com o efluente têxtil	34
3.6	Teste de fitotoxicidade	35
3.7	Delineamento estatístico	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1	Avaliação da descoloração	36
4.2	Avaliação da fitotoxicidade	42
5	CONCLUSÕES	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os estudos relativos aos problemas ambientais urbanos vêm ganhando destaque, principalmente porque a evolução dos centros urbanos e o contínuo crescimento populacional levaram ao surgimento de algumas formas de poluição que têm atingido dimensões catastróficas, as quais podem ser observadas por meio das alterações na qualidade do solo, do ar e da água (KUNZ; DURAN; PERALTA-ZAMORA, 2002).

O setor têxtil é uma das atividades que mais contribuem para a contaminação ambiental, pois utiliza em seus processos grandes volumes de água, além de diversas substâncias durante a coloração, como soda cáustica, gomas, detergentes, antiespumantes, cloro, formóis, emulsões, óleos e resinas, entre outras. Isso acaba levando à produção de um resíduo complexo, tóxico e recalcitrante (SALLES; PELEGRINI; PELEGRINI, 2006).

O efluente têxtil tem elevada demanda química de oxigênio e coloração devido à presença de corantes, pigmentos e produtos químicos auxiliares, que fazem com que esse efluente necessite de um tratamento específico (KANG; LIAO; HUNG, 1999).

Quando não tratados adequadamente e lançados nos corpos de água, os efluentes provenientes do processo de tingimento de fibras têxteis podem modificar o ecossistema, diminuindo a transparência da água e a penetração da radiação solar, o que pode modificar a atividade fotossintética e o regime de solubilidade dos gases (SOUZA; ZAMORA, 2005).

No que se refere à remoção dos corantes têxteis presentes nos efluentes industriais, novas tecnologias têm sido buscadas, para minimizar os danos ambientais que estes podem ocasionar (OLIVEIRA et al., 2010). Apesar de existirem formas físicas e químicas de tratamento dos efluentes têxteis, os micro-organismos vêm sendo intensamente estudados para esta finalidade.

Estudos indicam que fungos basidiomicetos degradadores de lignina são eficientes na degradação de diversos compostos, inclusive corantes, apresentando alto potencial de ação na recuperação de ambientes contaminados (KAMIDA et al., 2005).

As enzimas extracelulares presentes nestes fungos (lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase) são um meio efetivo de degradação de poluentes, apresentando mecanismos específicos de degradação de compostos recalcitrantes (BALAN, 2001; KUMAR et al., 2006; KUNZ; DURAN; PERALTA-ZAMORA, 2002). No entanto, há uma procura por agentes biológicos não só capazes de degradar esses efluentes de forma mais eficiente, mas também de diminuir sua toxicidade (BERGSTEN et al., 2005).

É neste contexto, da busca constante de métodos alternativos de tratamento de efluentes, que surge a necessidade de se estudar de novas espécies fúngicas que tenham capacidade de degradação de corantes e efluentes têxteis, visando à otimização dos processos de tratamentos tradicionais.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a descoloração do corante Remazol Brilliant Blue R e de efluente têxtil, utilizando culturas pré-selecionadas de fungos basidiomicetos e verificar a fitotoxicidade do corante e do efluente antes e após o tratamento com os fungos, por meio de testes com *Lactuca sativa*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Atividades industriais e o setor têxtil

A atividade industrial é uma das que mais contribuem para a contaminação do meio ambiente. Isso ocorre, principalmente, por utilizarem grandes volumes de água que, conseqüentemente, levam à produção de rejeitos líquidos contendo diversas substâncias tóxicas recalcitrantes, que acabam sendo descartadas de forma inadequada (SALLES; PELEGRINI; PELEGRINI, 2006).

Embora exista uma preocupação universal de se evitar episódios de contaminação ambiental, estes eventos prejudiciais continuam acontecendo, principalmente porque grande parte dos processos produtivos é intrinsecamente poluente (FREIRE et al., 2000).

A indústria têxtil tem importância muito grande na maioria dos países, sendo considerada um dos segmentos industriais de maior tradição. No Brasil, o setor caracteriza-se por ser bastante heterogêneo, com alguns segmentos bastante competitivos, formados por grandes empresas integradas e com alto índice de mecanização, convivendo com outras que apresentam significativas deficiências neste quesito (em especial o de confecções), seja pelas reduzidas escalas produtiva e empresarial, seja pelo alto grau de informalidade ou, ainda, pelas carências tecnológicas (VERMULM; ERBER, 2002).

Há cerca de 5.000 indústrias têxteis distribuídas no país, sendo 11% de grande porte, 21% de pequeno e 68% de microempresas, fazendo com que o setor têxtil brasileiro ocupe o 5º lugar em empregos diretos e o 6º em faturamento (GODIM; BARBOSA; PAZ, 2007).

O Brasil está entre os dez maiores produtores mundiais de fios/filamentos, tecidos e malhas, especialmente de algodão. Neste último

segmento – malhas com predominância de algodão –, é, atualmente, o terceiro maior produtor mundial. Os tecidos confeccionados de algodão são os principais itens de exportação da indústria têxtil brasileira, especialmente o denim, para a confecção de jeans, e os artigos de cama, mesa e banho (GOMES et al., 2007).

Todavia, quando se considera a produção de fibras artificiais e sintéticas, o mercado brasileiro ainda é pouco desenvolvido. Neste segmento, o Brasil possui apenas 1% da capacidade produtiva mundial, o que o torna um grande importador deste produto (GORINI, 2000).

O estado de Minas Gerais é o segundo maior pólo têxtil no Brasil e a maioria das suas indústrias trabalha com fibras de algodão puro ou de algodão misturadas com poliéster. Poucas dessas fábricas possuem sua própria estação de tratamento de águas residuais, e a maioria delas lança seus efluentes no ambiente, sem qualquer tratamento (MACHADO et al., 2006).

Os processos industriais têxteis também são grandes consumidores de água. Em média, há o consumo de 100 m³ de água para cada tonelada de tecido processada. A coloração elevada destes resíduos é de fácil visualização, o que se deve à utilização de corantes específicos, principalmente aqueles solúveis em água. A maioria dos corantes é absorvida em pequenas quantidades pelas fibras, sendo grande parte do corante residual conduzida às estações de tratamento (HASSEMER, 2002).

2.2 Efluentes têxteis

Os efluentes têxteis apresentam composição extremamente heterogênea e grande quantidade de material tóxico e recalcitrante, o que torna seu tratamento mais difícil. Apresentam também forte coloração, grande quantidade de sólidos suspensos, pH altamente flutuante, temperatura elevada, altas

concentrações de demanda química de oxigênio (DQO) e de elementos traços (Cr, Ni e/ou Cu), compostos orgânicos clorados e surfactantes (ARAÚJO; YOKOYAMA, 2006).

Segundo Andrade, Souza e Couto (1998), os elementos traços, quando em altas quantidades, têm ação tóxica sobre os micro-organismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, reduzindo, assim, a capacidade autodepurativa dos corpos hídricos. Os produtos químicos auxiliares mais utilizados nos processos de tingimento estão identificados no Quadro 1.

Quadro1 Exemplos de produtos químicos utilizados no tingimento

Descrição	Composição	Função
Sais	Cloreto de sódio Sulfato de sódio	Retardante
Ácido	Acético e sulfúrico	Controle de pH
Base	Hidróxido de sódio Carbonato de sódio	Controle de pH
Sequestrantes	EDTA	Sequestrante
Dispersantes e surfactantes	Aniônico, catiônico e não aniônico	Amaciante, dispersante de corante
Agentes oxidantes	Peróxido de nitrogênio Nitrito de sódio	Insolubilizante de corante
Agentes redutores	Hidrossulfito de sódio Sulfeto de sódio	Remoção de corantes não reagidos
“Carriers”	Organoclorados	Aumenta a adsorção

Fonte: Peres e Abrahão (1998)

De acordo com Dellamatrice, Monteiro e Balan (2008), considerando as características físico-químicas do efluente têxtil, destacam-se pH normalmente entre 8 e 11, sólidos totais entre 1.000 e 1.600 mgL⁻¹ e teor de sólidos em suspensão entre 30 a 50 mgL⁻¹. Tais características estão sujeitas a variações, de acordo com o tipo e a etapa do processo em andamento, dentro de cada indústria.

As características dos efluentes industriais são bastante variáveis quanto aos tons e às concentrações de cor, o que torna mais difícil quantificar a

coloração de um efluente industrial. Os efluentes têxteis, em particular, apresentam problemas estéticos e ambientais ao absorver a luz e interferir nos processos biológicos próprios do corpo hídrico (KAO et al., 2001).

Muitas das substâncias presentes no efluente ainda não têm um método adequado de tratamento estabelecido e, assim, quando não tratadas eficientemente, contendo ainda alta carga poluidora, o efluente tem sido descartado no meio ambiente. Muitos desses resíduos são tóxicos e podem ser carcinogênicos, embora algumas substâncias tóxicas e persistentes tenham tido o seu uso proibido, sendo substituídas por outras menos poluentes (DELLAMATRICE; MONTEIRO; BALAN, 2008).

Pode-se considerar que o efluente industrial despejado no meio ambiente, em função da sua natureza, provoca diferentes impactos, como a interferência dos processos fotossintéticos e o bioacúmulo de substâncias tóxicas em organismos aquáticos. Dessa forma, é necessário o aprimoramento de metodologias capazes de tratar adequadamente estes resíduos, de maneira a evitar impactos ambientais de grandes proporções (BRITO et al., 2004; RODRÍGUEZ et al., 2003).

2.3 Corantes têxteis e toxicidade

No período anterior à metade do século XIX, os corantes eram, quase sempre, extraídos de fontes naturais, de origem principalmente animal ou vegetal. Naturalmente, as propriedades de muitas dessas substâncias estavam longe do ideal e este fato, juntamente com a indisponibilidade comercial das fontes de suprimento, encorajaram a busca por corantes sintéticos com propriedades superiores (ARSLAN-ALATON, 2003).

Descobertas viáveis surgiram rapidamente e os corantes naturais foram quase que completamente trocados pelos sintéticos, no início do século XX.

Hoje, praticamente todos os corantes e pigmentos comerciais disponíveis são substâncias sintéticas, com exceção de alguns pigmentos inorgânicos importantes. Todos os anos, centenas de novos compostos coloridos são descritos na literatura, para uma multiplicidade de aplicações.

Existem numerosas estruturas químicas de corantes. A classificação detalhada é feita no Color Índex (C.I.), publicação que divide os corantes de acordo com a sua estrutura (ARSLAN-ALATON, 2003).

Aproximadamente 10.000 diferentes corantes e pigmentos são utilizados industrialmente, o que representa um consumo anual de cerca de 700.000 toneladas no mundo, das quais aproximadamente 50.000 toneladas são descarregadas no meio ambiente (CIULLINI et al., 2008).

Corantes são utilizados frequentemente em diversos setores industriais, como o têxtil, o alimentício, o de processamento de couro, o de papel, o de cosméticos e o farmacêutico (DALLAGO; SMANIOTTO; OLIVEIRA, 2005; KAPOR et al., 2001; NASREEN; BAJWA; KUSAR, 2007).

Segundo Guaratini e Zanoni (2000), os corantes podem ser classificados de acordo com a origem, as propriedades físicas ou químicas e segundo a sua aplicação ou uso final. Dessa maneira, foram divididos em classes da seguinte forma:

- a) corantes reativos: possuem um grupo reativo (eletrofílico) que é capaz de formar ligação covalente com grupos hidroxilas das fibras de celulose, com grupos amino, hidroxila e tióis das fibras proteicas e com grupos amino das poliamidas. Têm as funções azo e antraquinona. Apresentam alta solubilidade em água e a formação de uma ligação covalente entre o corante e a fibra, proporcionando maior estabilidade na cor do tecido tingido;

- b) corantes diretos: grupo de corantes solúveis em água, capazes de tingir fibras de celulose (algodão e viscose) por meio de interações de van der Waals. Classe constituída por corantes que contêm mais de um grupo azo (diazó, triazo, entre outros) ou pré-transformados em complexos metálicos;
- c) corantes azoicos: classe de corantes que tem um ou mais grupamentos azo ($N=N$). São utilizados no tingimento de náilon e poliéster, por terem boa fixação e são compostos solúveis em água. No processo de tingimento, a fibra é impregnada por um composto solúvel em água (agente de acoplamento), que apresenta afinidade por celulose. A adição de um sal de diazônio provoca uma reação com o agente de acoplamento já fixado na fibra, produzindo um corante insolúvel em água;
- d) corantes ácidos: grande grupo de corantes aniônicos que têm de um a três grupos sulfônicos. Caracterizam-se por substâncias com estrutura química baseada em compostos azo, antraquinona, triarilmetano, azina, xanteno, ketonimina, nitro e nitroso, que fornecem uma ampla faixa de coloração e grau de fixação;
- e) corantes à cuba: tipo de corante muito utilizado em fibras de algodão. São, inicialmente, insolúveis em água, porém, no processo de coloração, são reduzidos em solução alcalina, transformando-se em um composto solúvel (forma leuco). A esta classe pertencem os corantes índigos, tioindigoides e antraquinoides;
- f) corantes de enxofre: conferem coloração preta, verde-oliva, azul-marinho e marrom às fibras de celulose. Apresentam compostos macromoleculares com pontes de polissulfetos ($-S_n-$), altamente insolúveis em água. Geralmente, apresentam resíduos altamente tóxicos;

- g) corantes dispersivos: são insolúveis em água e aplicados por meio de suspensão. Durante a coloração, sofrem hidrólise, ocorrendo, lentamente, uma precipitação da molécula original. São utilizados em fibras sintéticas (poliéster, náilon, diacetato de celulose e acrílicas);
- h) corantes pré-metabolizados: têm um grupo hidroxila ou carboxila na posição orto em relação ao cromóforo azo, permitindo a formação de íons metálicos. A desvantagem ecológica desse tipo de corante está no fato de que eles estão associados ao alto conteúdo de metal no seu efluente. São utilizados no tingimento de fibras proteicas e de poliamida;
- i) corantes branqueadores: são corantes brancos que diminuem a aparência amarelada das fibras têxteis no estado bruto. Isso ocorre devido à absorção da luz em uma faixa de comprimento de onda baixa.

O grupo que tem atraído maior atenção é o dos corantes que apresentam a função azo-aromático como cromóforo, os azocorantes, que são extensivamente utilizados no tingimento de fibras têxteis (KUNZ; DURAN; PERALTA-ZAMORA, 2002). Os azocorantes representam cerca de 60% dos corantes atualmente utilizados no mundo, como o Amarelo FN-2R (CI 14.030), Remazol Brilliant Blue R (CI 61.200) e o Vermelho FN-2BL (CI 16.255) (SOUZA; ROSADO, 2009). A biotransformação destes compostos pode ser responsável pela formação de aminas aromáticas, benzidinas e outros intermediários com potencialidade carcinogênica (OLIVEIRA et al., 2007).

O corante Remazol Brilliant Blue R, conhecido como RBBR, tem sido amplamente utilizado como um modelo em estudos de degradação. É matéria-prima para a produção de corantes poliméricos e, como um derivado do

antraceno, é um representante importante de organopoluentes tóxicos e recalcitrantes (MACHADO; MATHEUS, 2006).

Os riscos toxicológicos dos corantes sintéticos à saúde humana estão intrinsecamente relacionados ao modo e ao tempo de exposição, à ingestão oral e à sensibilização da pele e das vias respiratórias. O grande interesse da toxicologia por estes compostos se deve às exposições crônicas e em baixas concentrações (GUARATINI; ZANONI, 2000; MANSOUR et al., 2007).

Desde a formação do corante até a sua deposição em um corpo hídrico, os contaminantes podem se associar a certas partículas, tornando-se biodisponíveis para o ecossistema; sofrer biotransformação, originando substâncias mais ou menos tóxicas ou migrar do sedimento para outros compartimentos ambientais via cadeia trófica. Portanto, níveis elevados de contaminantes podem acarretar efeitos para a biota aquática, dependendo de uma série de fatores que alteram a sua biodisponibilidade e a sua toxicidade (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

O potencial efeito tóxico e carcinogênico dos corantes têxteis se deve, principalmente, ao fato de que, em sua maioria, eles são fabricados a partir de agentes cancerígenos conhecidos, tais como benzidina, naftaleno e outros compostos aromáticos (NASCIMENTO et al., 2011).

Os efluentes têxteis também são corriqueiramente associados à presença de elementos-traço. Nesse caso, os metais podem ser provenientes das moléculas do corante ou de outros materiais utilizados no processo de tingimento, como o mercúrio, presente em vários reagentes químicos ou o cromo, proveniente do dicromato de potássio, utilizado na oxidação de corantes ao enxofre (BELTRAME; DANTAS; DANTAS NETO, 2004).

Elementos-traço tóxicos, especialmente cobre (Cu), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e zinco (Zn), estão sendo cada vez mais liberados no meio

ambiente por meio de águas residuárias industriais, agrícolas e de outras atividades humanas (VOLESKY; HOLAN, 1995).

Estes elementos estão comumente associados com poluição e toxicidade, mas também incluem alguns elementos que são biologicamente essenciais para os seres vivos em baixas concentrações, tais como cromo, cobalto, cobre, manganês, selênio e zinco. Entretanto, em grandes concentrações, podem gerar problemas de saúde em plantas e animais (SCHMIDT et al., 2009).

Assim, o desenvolvimento de tecnologias de tratamento adequadas para a remoção da cor e a redução da toxicidade dos efluentes têxteis é importante. Por isso, o aprimoramento e a integração de diferentes métodos de tratamento são necessários para tornar estas tecnologias tanto eficientes quanto economicamente viáveis (ANJANEYLU; CHARY; RAJ, 2005; NASCIMENTO et al., 2011).

2.4 Regulamentações ambientais para o descarte

De modo geral, o ecossistema aquático encontra-se em equilíbrio. Após um evento de poluição, o equilíbrio entre as comunidades é afetado, resultando em uma desorganização inicial, tendendo a se reorganizar posteriormente (SPERLING, 1996). Porém, como todos os processos naturais, existe um limite a partir do qual o ecossistema aquático ficará saturado e não conseguirá se restabelecer. Portanto, a determinação da capacidade de assimilação pelos corpos hídricos e da melhor localização para o lançamento de efluentes é de extrema importância (GIANSANTE, 1997).

O lançamento de esgotos urbanos e de efluentes industriais não tratados nas águas de rios, lagos e áreas costeiras constitui um dos maiores agravantes para a depreciação da qualidade das águas. A eliminação de produtos tóxicos

vem estimulando a busca de novas ferramentas para o monitoramento, a redução ou a eliminação da toxicidade de efluentes, levando em consideração as regulamentações e legislações voltadas à proteção ambiental (CARON, 2006). Dessa forma, o local onde os efluentes serão dispostos no ambiente deve cumprir o que a legislação ambiental vigente exige, além de passar por tratamentos adequados e programas de monitoramento ecotoxicológico (PAULA et al., 2009).

Nos últimos anos, a legislação tem ficado cada vez mais rígida e exigente quanto ao tratamento de efluentes que serão lançados nos corpos de água. No Brasil, foi publicada, pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e as diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e os padrões de lançamento de efluentes (BRASIL, 2005). Segundo esta Resolução, os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água, após o devido tratamento, e desde que obedeçam às condições, aos padrões e às exigências propostos (BRASIL, 2005).

Além disso, o efluente não deverá causar ou ter potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos a partir de ensaios ecotoxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos (PAULA et al., 2009).

A *Ecological and Toxicological Association of the Dyestuff Manufacturing Industry* (ETAD), criada em 1974, realiza um grande esforço de fiscalização e fabricação mundial de corantes sintéticos, com o objetivo de minimizar os possíveis danos ao homem e ao meio ambiente. Além disso, trabalha divulgando artigos e identificando os riscos potenciais dos corantes (GUARATINI; ZANONI, 2000).

2.5 Tipos de tratamento

Os processos destinados ao tratamento de efluentes industriais objetivam a transformação das espécies químicas responsáveis pela poluição ambiental, em formas inofensivas que não ofereçam riscos de impacto ambiental. Normalmente, procura-se a redução dos principais parâmetros ambientais (cor, carga orgânica e toxicidade), de maneira a atingir os padrões de qualidade estabelecidos pelos órgãos de controle (BRITO et al., 2004).

Muitos trabalhos buscam o desenvolvimento de tratamentos eficientes. Porém, a remoção de corantes de efluentes industriais é uma tarefa desafiadora porque, além da grande variedade de estruturas e sua origem sintética, em geral, eles são estáveis e de difícil degradação, pois são produzidos para resistir à exposição ao suor, ao sabão, à água, à luz ou a agentes oxidantes (KHALAF, 2008; PASCHOAL; TREMILIOSI-FILHO, 2005).

Os efluentes industriais contendo corantes são, normalmente, tratados por métodos físico-químicos, porém, é um processo mais caro, produz muitos resíduos e tem baixa eficiência (RAJU et al., 2007; ZANONI; CARNEIRO, 2001). Atualmente, os processos biológicos ganharam mais atenção por serem mais baratos e os seus produtos e subprodutos serem ambientalmente ecológicos (EUGENIO et al., 2008; STOLZ, 2001).

As principais técnicas para descoloração de rejeitos envolvem processos de adsorção, precipitação, degradação química, eletroquímica e fotoquímica, biodegradação e floculação (PASCHOAL; TREMILIOSI-FILHO, 2005). Enquanto indústrias de grande porte dão preferência para processos biológicos de tratamento, indústrias de médio porte têm adotado sistemas de tratamento envolvendo métodos como a coagulação química, a adsorção por

carbono ativado e, menos frequentemente, a ultrafiltração (DELLAMATRICE; MONTEIRO; BALAN, 2008).

Nos últimos anos, vários estudos concentraram-se sobre a utilização de micro-organismos que são capazes de biodegradar e/ou bioacumular compostos tóxicos (AKSU, 2005). A tecnologia de biorremediação oferece muitas vantagens. Além do baixo custo, pode ser realizada no local, provoca impacto ambiental mínimo e pode ser utilizada em conjunto com outros métodos de tratamento, apresentando, portanto, boa aceitabilidade (BOOPATHY, 2000; DIAS, 2000).

No entanto, este processo apresenta algumas limitações. Determinados compostos químicos não são suscetíveis à biorremediação, como, por exemplo, metais pesados e alguns compostos clorados. Além disso, o tempo necessário para o desenvolvimento de um sistema eficaz de tratamento pode ser longo e existem problemas relacionados com o aumento da escala do laboratório para o campo. Em determinados casos, o metabolismo microbiano pode produzir compostos mais tóxicos que o original, tornando-se importantes os testes toxicológicos no controle do nível de toxicidade resultante dessa transformação (BOOPATHY, 2000; NASCIMENTO et al., 2011).

Os tratamentos de biorremediação em efluentes fundamentam-se na utilização de bactérias, actinomicetos, leveduras e fungos. As formas mais comuns de aplicação industrial estão representadas pelas lagoas aeradas e o sistema de lodos ativados (BRITO et al., 2004; MACHADO et al., 2006).

O sistema de lodos ativados (Figura 1) é o mais utilizado no tratamento de águas residuárias, sendo a alternativa aplicada em mais de 90% das estações de tratamento de efluentes. Este processo consiste na agitação do efluente na presença de micro-organismos e ar. Sua capacidade de depuração se deve às atividades metabólicas dos micro-organismos presentes, conferindo relevante importância ao acompanhamento da microbiologia presente, para o

entendimento e o controle do processo de tratamento (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, 1989).

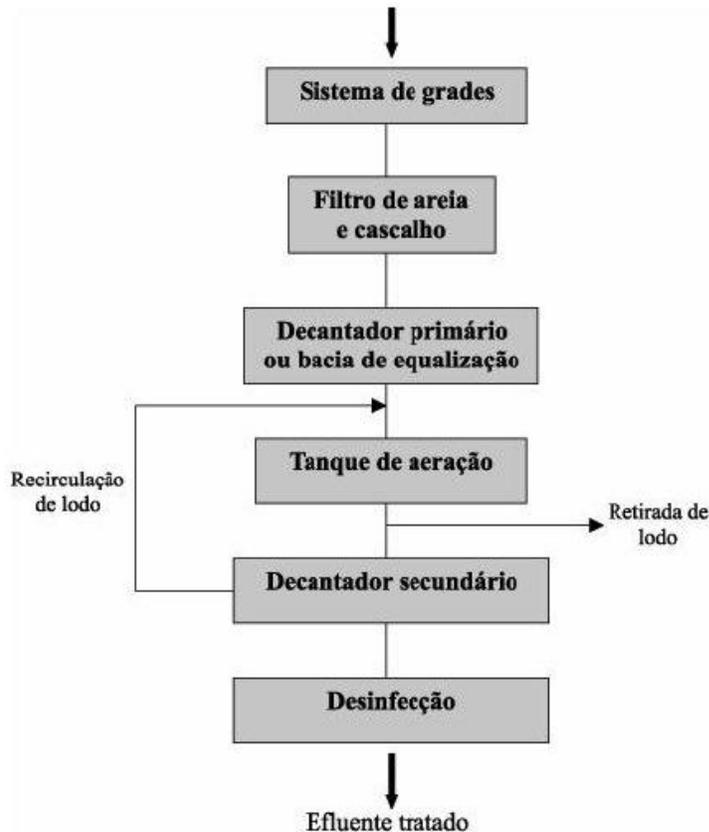


Figura 1 Esquema de uma estação de tratamento de efluentes utilizando lodo ativado, usualmente empregado no tratamento de efluente têxtil
Fonte: Kunz, Duran e Peralta-Zamora (2002), modificado

Entretanto, estes são processos não destrutivos, visto que eles apenas transferem compostos da água para o lodo, causando poluição secundária (KONSTANTINOU; ALBANIS, 2004). A grande motivação da maioria dos pesquisadores envolvidos nos estudos de biodegradação é a busca contínua de micro-organismos versáteis, capazes de degradar de maneira eficiente um grande número de poluentes (KUNZ; DURAN; PERALTA-ZAMORA, 2002).

2.6 Tratamento biológico utilizando fungos basidiomicetos

Muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos com a biodegradação de corantes, principalmente utilizando fungos basidiomicetos. Suas enzimas extracelulares microbianas são efetivas na degradação de poluentes, principalmente aquelas presentes nos basidiomicetos da podridão-branca da madeira (BALAN, 2001; KUMAR et al., 2006; KUNZ; DURAN; PERALTA-ZAMORA, 2002). As enzimas do sistema lignolítico desses fungos são responsáveis pela degradação de uma grande variedade de compostos recalcitrantes. As espécies de fungos basidiomicetos mais citadas na literatura são *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* (JACQUES; BENTO; CAMARGO, 2007), *Pycnoporus sanguineus* (BALAN, 2001; MACHADO et al., 2006) e espécies dos gênero *Pleurotus* spp. (BALAN, 2001; KAMIDA et al., 2005).

Os fungos basidiomicetos são conhecidos popularmente por formarem corpos de frutificação, como os cogumelos e orelhas-de-pau, existindo cerca de 25.000 espécies descritas. Têm uma fase vegetativa (micélio), formada por diversos filamentos denominados de hifas e uma fase reprodutiva (basídio), em que ocorre a meiose (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997).

Os fungos apresentam uma série de características que os tornam interessantes para aplicação em sistemas de biorremediação, como capacidade de crescer sob condições de estresse ambiental; seu modo de crescimento, induzido quimiostaticamente em direção à fonte de carbono orgânico, através do alongamento e da ramificação das hifas, que permite a colonização de grandes áreas e o sistema de biodegradação fúngico, realizado por enzimas extracelulares. Dessa forma, o contato superficial com o contaminante é

otimizado, aumentando sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, sua biodegradação (CHANDER; ARORA; BATH, 2004).

As possíveis aplicações do complexo de enzimas ligninolíticas presentes dos fungos basidiomicetos têm sido alvo de grande interesse acadêmico e industrial, devido à sua capacidade de biodegradar uma série de poluentes tóxicos e recalcitrantes, como DDT, pesticidas organoclorados e vários corantes sintéticos. Estas enzimas encontram diversas aplicações na área ambiental, como na descoloração de efluentes têxteis e na polimerização de compostos clorados (DURAN; ESPOSITO, 2000; WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

As enzimas responsáveis pela degradação destas moléculas são as peroxidases, como manganês peroxidase (MnP), lignina peroxidase (LiP), lacases e fenol oxidases. Estas enzimas ligninolíticas são intra ou extracelulares e apresentam baixa especificidade para o substrato, sendo bastante interessantes para o tratamento de resíduos de características variadas como os resíduos têxteis (DELLAMATRICE; MONTEIRO; BALAN, 2008). Estas enzimas agem como catalizadores biológicos e diminuem a energia de ativação das reações (MACHADO et al., 2006).

Fungos basidiomicetos são capazes não só de descolorir, mas também de degradar e mineralizar diferentes tipos de estruturas presentes nos corantes (azo, antraquinona, heterocíclico, trifenilmetano e corantes poliméricos), além de inúmeros outros compostos orgânicos tóxicos e recalcitrantes (MACHADO et al., 2006).

Alguns exemplos de fungos basidiomicetos capazes de descolorir corantes sintéticos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 Relação de alguns fungos basidiomicetos capazes de descolorir corantes sintéticos

Fungo	Corantes	Taxa de descoloração (%)	Tempo (dias)
<i>Phellinus gilvus</i>	Cl Vat Blue I	100	4
<i>Pleurotus pulmonarius</i>		94	
<i>Phanerochaete</i>	Sp-g (díaz)	89	28
<i>crysosporum</i>	Cm-s (díaz)	88	
<i>Phlebia floridensis</i>	Brilhant green	100	5
	Cristal violeta	95,2	
	Vermelho cresol	81,4	
	Vermelho congo	98	
	Orange II	100	
	Poly-B	93	9
	Poly-R	80	5
	RBBR	93	9

Fonte: Souza e Rosado (2009)

Kamida et al. (2005), Rodríguez, Pickard e Vazquez-Duhalt (1999) e Rosalen et al. (2004) observaram descoloração/degradação completa de diversos corantes, efluentes e resíduo sólido, por fungos do gênero *Pleurotus*. Porém, utilizando somente o extrato enzimático fúngico, não foi observada a mesma degradação, indicando que há outros fatores envolvidos. A ação das enzimas ligninolíticas na degradação tem sido comprovada, porém, o processo de degradação é complexo e envolve outros fatores, como radicais mediadores e H₂O₂ produzidos pelo fungo (DELLAMATRICE; MONTEIRO; BALAN, 2008).

Bergsten et al. (2005) isolaram fungos de uma área contaminada por efluentes têxteis, na região de Paracambi, RJ, e os avaliaram quanto ao seu potencial de degradação. *Lentinula edodes* (INCQS 40220) e *Paraconiothyrium estuarinum* (INCQS 40201), linhagens de reconhecida capacidade de degradação, também foram avaliadas. Dos fungos isolados, três apresentaram tolerância a altas concentrações do corante Remazol Azul Turquesa e Remazol

Vermelho RB, tendo o fungo *Lentinula edodes* (INCQS 40220) apresentado melhor resultado na degradação dos corantes estudados.

Em muitos estudos tem sido mostrada a eficiência desses organismos na descoloração de corantes industriais (BLÁNQUEZ et al., 2004; EUGENIO et al., 2008; KAMIDA et al., 2005; KIM et al., 2004; KNAPP; NEWBY; REECE, 1995; NOVOTNY et al., 2001; TATARKO; BUMPUS, 1998). Porém, um dos problemas relacionados à utilização desses micro-organismos refere-se à limitada capacidade de degradação de algumas substâncias. Além disso, o aumento da concentração dos poluentes, a variação na estrutura ou na composição do composto a ser tratado e a variação de pH podem inibir ou paralisar o metabolismo do micro-organismo utilizado. Sendo assim, é importante um monitoramento contínuo durante o processo de tratamento biológico, para que o resultado seja satisfatório (BERTAZZOLI; PELEGRINI, 2002).

2.7 Ecotoxicologia de amostras ambientais

Os testes de toxicidade são comumente empregados para avaliar o comportamento ambiental de agrotóxicos, sedimentos, efluentes industriais e esgotos, entre outros. São reconhecidos como uma importante ferramenta na avaliação da toxicidade de uma amostra e representam uma alternativa para complementar as análises químicas. Estas últimas fornecem apenas a tipologia dos contaminantes presentes no ambiente, mas não fornecem uma estimativa relevante da sua toxicidade (MATTA; KUMMROW; UMBUZEIRO, 2008).

A utilização de ensaios biológicos para a avaliação da bioatividade de extratos, frações, misturas e compostos químicos isolados tem sido frequentemente incorporada à identificação e ao monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007; NOLDIN;

MONACHE; YUNES, 2003; PALACIO et al., 2005; PANDARD et al., 2006). O desenvolvimento dos testes de toxicidade *in vitro* tem favorecido a substituição dos ensaios que utilizam animais em laboratórios (HUGGET et al., 1996).

Testes de toxicidade utilizando plantas como modelo são consideravelmente mais sensíveis e simples, em relação aos estudos com animais, demonstrando serem testes eficientes para o monitoramento da ação tóxica de poluentes da água e do solo, incluindo efluentes têxteis e agrotóxicos. As vantagens dos biotestes com plantas residem na grande variedade de parâmetros, como a germinação de sementes, o ganho de biomassa, o alongamento de raiz e o crescimento vegetal, além de apresentar baixo custo e disponibilidade de realização dos testes durante o ano todo (ZALTAUSKAIT; CYPAIT, 2008).

Segundo Kapanen e Itävaara (2001), a germinação de sementes e o crescimento de plantas são os parâmetros mais utilizados para avaliar fitotoxicidade de um composto. *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola) são modelos comumente utilizados para avaliar toxicidade de efluentes urbanos e industriais, medindo-se o percentual de germinação e o alongamento radicular (EOM et al., 2007; FARRÉ; BARCELÓ, 2003). O crescimento radicular tem se destacado entre os parâmetros com grande sensibilidade a um agente fitotóxico (FUENTES et al., 2004) e é afetado por condições ambientais, como pH, temperatura, salinidade e presença de metais (CAMARGO; FERREIRA FILHO; SALOMON, 2004). Contudo, é importante compreender que, embora as plantas forneçam evidências dos efeitos tóxicos de efluentes e sedimentos contaminados, sua resposta também poder ser afetada por condições como a disponibilidade de nutrientes (CZERNIAWSKA-KUSZA; KUSZA, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Corante têxtil

O corante utilizado foi o Remazol Brilliant Blue R da marca Sigma – Aldrich, obtido comercialmente, sendo um corante do tipo antraquinona. Sua fórmula empírica é $C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$ e seu peso molecular, 626,54 g/mol (Figura 2).

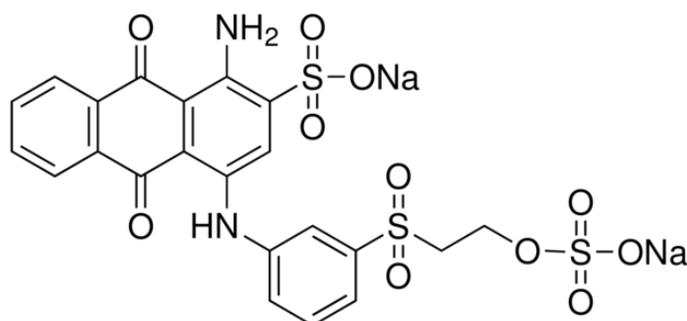


Figura 2 Estrutura química do corante Remazol Brilliant Blue R

3.2 Efluente têxtil

O efluente foi coletado do tanque de recebimento da estação de tratamento de efluente (ETE) da indústria têxtil Trel Confecções Ltda., localizada no município de Lavras, MG. A indústria realiza a confecção e o beneficiamento de peças do vestuário, sendo utilizado, rotineiramente, o corante têxtil RBBR (Remazol Brilliant Blue R). O efluente resultante é tratado por processo físico-químico, ou seja, ele passa por um tratamento químico com floculantes inorgânicos, seguido de uma separação por flotação.

A amostra foi coletada em frascos previamente esterilizados, perfazendo um total de 1.000 mL que, posteriormente, foram levados ao Laboratório de Microbiologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), situado no campus da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG.

O pH e a temperatura foram determinados, sendo em torno de 9,5 e ambiente, respectivamente.

3.3 Fungos basidiomicetos utilizados

Para a realização dos tratamentos de descoloração com o corante têxtil RBBR e com o efluente têxtil, foram utilizados fungos basidiomicetos com comprovada capacidade de descolorir corantes sintéticos, sendo *Lentinula edodes* (INCQS – FIOCRUZ 40220), *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus pulmonarius* (KUNZ; DURAN; PERALTA-ZAMORA, 2002). O primeiro foi gentilmente cedido pela Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro e os demais, pelo Laboratório de Cogumelos Comestíveis da Universidade Federal de Lavras.

Os fungos utilizados foram mantidos pelo método de repicagem periódica em meio ágar malte (AM) (2% de extrato de malte e 2% de ágar) e também preservados em pequenos frascos de vidro contendo água destilada estéril e armazenados em temperatura ambiente, conforme método de Castellani (CASTELLANI, 1963).

3.4 Teste de descoloração em meio líquido com o corante RBBR

Os fungos basidiomicetos utilizados foram inicialmente inoculados em placas de Petri com meio AM. Após sete dias de incubação a 25 °C, três discos de 5 mm de diâmetro, contendo as amostras fúngicas, foram retirados das bordas

das colônias de cada fungo em estudo e transferidos para Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de extrato de malte (EM) 2% suplementado com o corante RBBR. Antes de receberem os discos fúngicos, os frascos foram previamente esterilizados (KAMIDA et al., 2005 com modificações).

Foram utilizadas duas concentrações do corante (0,1 e 0,5 g L⁻¹) e dois valores de pH (5,0 e 9,0). Tais valores de pH e concentração de corante foram analisados, pois são os mais encontrados nos tanques de tratamento das ETE de indústrias têxteis.

Os frascos foram incubados a 28 °C (temperatura média dos tanques de tratamento), no escuro e sob agitação de 150 rpm. Após 15 dias, alíquotas de 5 mL do sobrenadante foram filtradas em membrana de 0,45µm (Whatman PVDF) para a análise espectrofotométrica (BEL PHOTONICS – SP 1105). Foi utilizado o comprimento de onda em que o corante apresentou maior absorvância (OLIVEIRA et al., 2010). Cada ensaio apresentou como controle frascos contendo o meio de cultura EM 2% e o corante, sem a amostra fúngica. Quando necessário, foram feitas diluições das amostras. Uma curva padrão foi elaborada a partir da solução inicial (0,5 g L⁻¹ de RBBR) e distintas diluições em EM 2%, com sua respectiva absorvância no mesmo comprimento de onda utilizado para acompanhar o comportamento do corante.

3.5 Teste de descoloração em meio líquido com o efluente têxtil

O teste de descoloração em meio líquido com o efluente têxtil seguiu semelhante à etapa anterior. Neste, porém, os discos contendo as amostras fúngicas foram transferidos para frascos contendo 50 mL do efluente têxtil não tratado, suplementado com 0,5% de EM. Foi utilizado o mesmo comprimento de onda utilizado para o corante RBBR e, como controle, frascos somente com o efluente têxtil, sem a amostra fúngica.

3.6 Teste de fitotoxicidade

Em todos os testes foram utilizadas sementes do mesmo lote de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Maravilha de Verão (Topseed), adquiridas no comércio local. Os parâmetros avaliados foram taxa de germinação (TG) e comprimento de raiz (CR). Os biotestes foram realizados segundo Rodríguez et al. (2006), com modificações. As sementes de alface foram previamente desinfestadas em álcool 98,2%, hipoclorito de sódio 2% e água destilada estéril, e o experimento conduzido utilizando 20 sementes distribuídas em cada placa de Petri (9 cm de diâmetro) forrada com papel filtro e algodão e umedecidas com 20 mL de água destilada estéril. Antes de receberem a água destilada estéril, as placas foram autoclavadas.

Nos ensaios realizados com o corante têxtil, havia placas que receberam 1 mL do corante sem tratamento, nas duas concentrações, 0,1 g/L⁻¹ e 0,5 g/L⁻¹ e placas que receberam 1 mL do corante depois de tratado pelos fungos. Para os ensaios utilizando o efluente têxtil, havia placas que receberam 1 mL do efluente antes e depois do tratamento fúngico. Como controle havia placas que só tinham recebido água destilada estéril.

Os bioensaios foram conduzidos em temperatura ambiente, por sete dias, quando foram realizadas as observações e os cálculos de taxa de germinação e comprimento de raiz.

3.7 Delineamento estatístico

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, tanto para as amostras quanto para os controles. Os dados de todos os testes de descoloração e fitotoxicidade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da descoloração

Foi testada a capacidade de descoloração do corante RBBR e do efluente têxtil pelas três culturas fúngicas, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus pulmonarius*. Os resultados, após 15 dias de tratamento com o corante RBBR nos diferentes valores de pH e concentração e com o efluente têxtil, podem ser vistos nos Gráficos 1, 2 e 3.

Lentinula edodes obteve melhor descoloração no tratamento com o corante RBBR em pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹ (Gráfico 1) e o fungo *Pleurotus ostreatus*, nos tratamentos em pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹ e em pH 9,0 e 0,5 gL⁻¹ (Gráfico 2). Já o fungo *Pleurotus pulmonarius* apresentou diferença significativa para todos os tratamentos com o corante (Gráfico 3). Quanto aos tratamentos com o efluente têxtil, não houve diferença significativa para nenhum dos fungos testados.

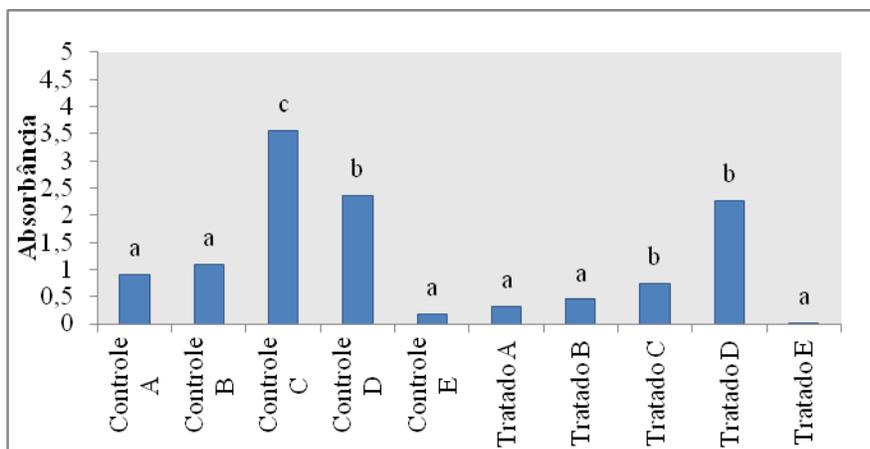


Gráfico 1 Tratamento com o fungo *Lentinula edodes*. (A) corante RBBR em pH 5,0 e 0,1 gL⁻¹; (B) corante RBBR em pH 9,0 e 0,1 gL⁻¹; (C) corante RBBR em pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹; (D) corante RBBR em pH 9,0 e 0,5 gL⁻¹; (E) efluente têxtil. Nos controles não houve a presença do inóculo. CV = 56,45%. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância

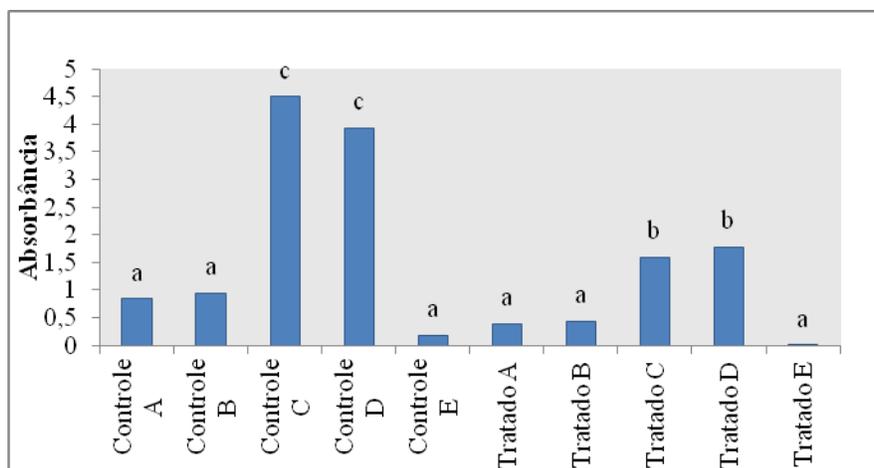


Gráfico 2 Tratamento com o fungo *Pleurotus ostreatus*. (A) corante RBBR em pH 5,0 e 0,1 gL⁻¹; (B) corante RBBR em pH 9,0 e 0,1 gL⁻¹; (C) corante RBBR em pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹; (D) corante RBBR em pH 9,0 e 0,5 gL⁻¹; (E) efluente têxtil. Nos controles não houve a presença do inóculo. CV = 29,15%. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância

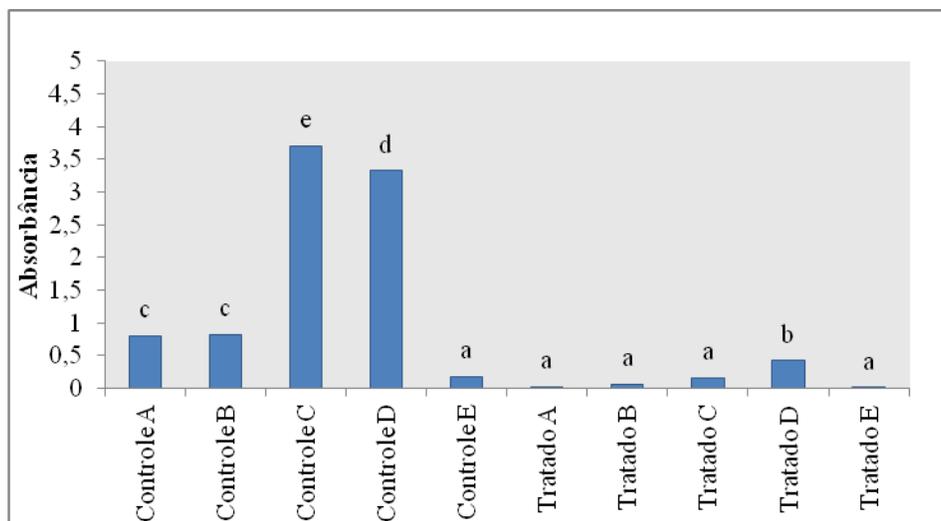


Gráfico 3 Tratamento com o fungo *Pleurotus pulmonarius*. (A) corante RBBR em pH 5,0 e 0,1 gL⁻¹; (B) corante RBBR em pH 9,0 e 0,1 gL⁻¹; (C) corante RBBR em pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹; (D) corante RBBR em pH 9,0 e 0,5 gL⁻¹; (E) efluente têxtil. Nos controles não houve a presença do inóculo. CV = 12,79%. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância

Diversos autores já relataram a capacidade de descoloração do corante RBBR pela ação de enzimas lignolíticas, como lignina peroxidase (LiP) (OLLIKKA et al., 1993), manganês peroxidase (MnP) (BOER et al., 2004) e lacase (SOARES; COSTA-FERREIRA; AMORIM, 2001).

Os fungos basidiomicetos são capazes de degradar e mineralizar diferentes tipos de estruturas presentes nos corantes porque produzem uma ou mais enzimas extracelulares que são utilizadas na degradação da lignina. Em função da sua falta de especificidade pelo substrato, estas enzimas também são capazes de degradar uma variedade de xenobióticos (WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

Estas enzimas lignolíticas são produzidas por esses fungos durante o seu metabolismo secundário, uma vez que a oxidação da lignina não fornece a energia necessária ao fungo. A síntese e a secreção destas enzimas são, muitas

vezes, induzidas por níveis limitados de nutrientes, principalmente carbono e nitrogênio (WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

A enzima lignolítica mais comum produzida por quase todos os basidiomicetos degradadores de lignina e por alguns fungos decompositores é a manganês peroxidase. Esta enzima é capaz de oxidar e despolimerizar seu substrato natural, ou seja, a lignina, bem como xenobióticos recalcitrantes e corantes têxteis (AKEN et al., 1999; HEINFLING et al., 1998; NIE; READING; AUST, 1999; SCHEIBNER; HOFRICHTER; FRITSCHE, 1997).

A lignina peroxidase catalisa a oxidação de radicais aromáticos não fenólicos de lignina ou compostos similares. São utilizadas na mineralização de uma variedade de compostos aromáticos recalcitrantes, como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), bifenilos policlorados e corantes (CHIVUKALA; SPADARO; RENGANATHAN, 1995; KRČMÁR; ULRICH, 1998).

A lacase é também uma enzima lignolítica comumente produzida pelos fungos basidiomicetos degradadores de lignina. São responsáveis por catalisar a oxidação de doadores de hidrogênio aromáticos e reduzir o oxigênio em água. Têm sido muito estudadas, com foco na sua aplicabilidade industrial (BAJPAI, 1999; GIANFREDA; XU; BOLLAG, 1999). São capazes de oxidar substâncias recalcitrantes, como clorofenóis, HAPs, compostos organofosforados, fenóis e corantes aromáticos (ABADULLA et al., 2000; WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

Os resultados apresentados nos Gráficos 1, 2 e 3 demonstram as evidentes diferenças entre os fungos na habilidade e na especificidade de descoloração de corantes e efluentes (LYRA et al., 2009). Há alguns anos, têm-se utilizado muitas espécies de *Pleurotus* na degradação de diversos poluentes, incluindo corantes têxteis (CHAGAS; DURRANT, 2001; NILSSON et al., 2006; PALMIERI; CENNAMO; SANNIA, 2005; RODRÍGUEZ et al., 2004).

As diferenças entre os fungos na capacidade de descoloração de corantes têm sido demonstradas por meio das variações entre suas enzimas inter ou intraespecíficas, na complexidade da molécula do corante e nas condições de cultivo (HEINFLING; BERGBAUER; SZEWZYK, 1997; NOVOTNY et al., 2001; SWAMY; RAMSAY, 1999). Dessa forma, cada fungo padrão testado respondeu de uma maneira frente aos diferentes tratamentos.

A correlação positiva entre enzimas ligninolíticas e descoloração mostra que estas enzimas desempenham um papel fundamental na biodegradação de corantes sintéticos e efluentes têxteis (WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

Segundo Eggen (1999) e Lau, Tsang e Chiu (2003), o fungo *Pleurotus pulmonarius* apresenta bons resultados, quando utilizado na biorremediação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, como o corante RBBR utilizado neste estudo. Na Figura 3 apresenta-se a eficiência da descoloração para todos os tratamentos com o corante RBBR, na presença do fungo *Pleurotus pulmonarius*.

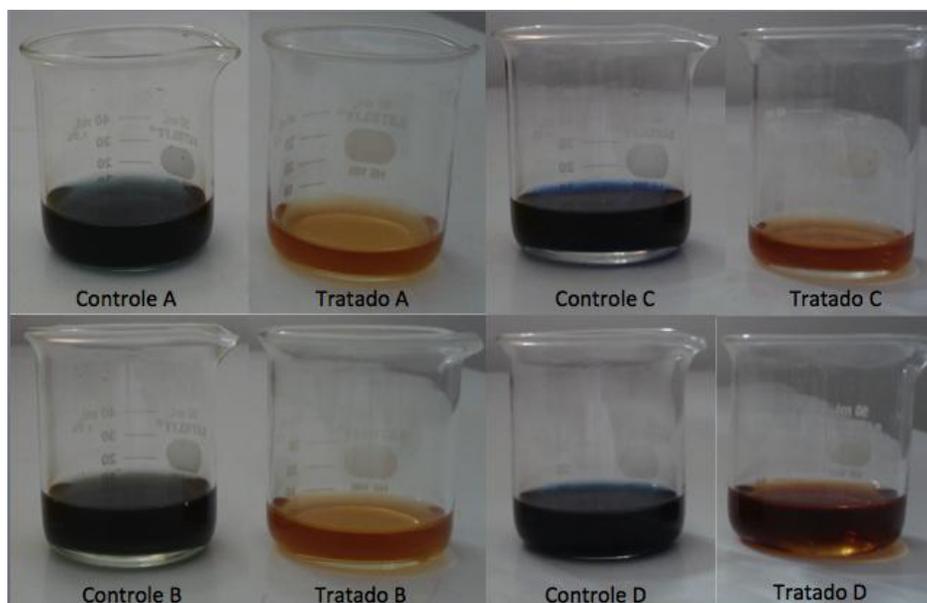


Figura 3 Tratamento do corante têxtil RBBR na presença do fungo *Pleurotus pulmonarius*, após 15 dias. (A) pH 5,0 e 0,1 gL⁻¹; (B) pH 9,0 e 0,1 gL⁻¹; (C) pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹; (D) pH 9,0 e 0,5 gL⁻¹. Nos controles não houve a presença do inóculo

O fungo *Pleurotus pulmonarius* foi capaz de descolorir o corante nas duas concentrações estudadas (0,1 e 0,5 gL⁻¹) e os fungos *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus* descoloriram melhor na concentração de 0,5 gL⁻¹. Teixeira, Pereira e Ferreira-Leitão (2010) também utilizaram diferentes concentrações de corante em testes de remoção da cor, utilizando enzimas ligninolíticas e encontraram resultado eficaz na descoloração em uma ampla faixa de concentração.

Alguns tratamentos utilizando pH 9,0 foram eficientes na descoloração do corante, porém, a maioria descoloriu melhor em pH 5,0. Machado e Matheus (2006) também realizaram experimentos de descoloração do corante RBBR com o objetivo de avaliar o pH mais adequado. Eles utilizaram uma variação de pH entre 3,0 e 7,0, tendo os melhores resultados de descoloração sido aqueles em pH na faixa de 4,0 e 5,0.

Segundo Swamy e Ramsay (1999), a ação das enzimas lignolíticas produzidas pelos fungos é melhor em pH 5,0. Este resultado também foi encontrado por Pereira et al. (2011), em seus estudos com descoloração de corante e efluente têxtil por fungos.

A atividade de descoloração do corante RBBR é um método indicativo de um sistema multienzimático e pode se tornar uma ferramenta útil, quando utilizado em estudos de biodegradação de xenobióticos, assim como indicar as condições fisiológicas do fungo basidiomiceto, durante o processo de biorremediação (MACHADO; MATHEUS; BONONI, 2005).

4.2 Avaliação da fitotoxicidade

Considerando-se que a descoloração não é sempre uma indicação de desintoxicação bem sucedida, testes de toxicidade com o corante e com o efluente têxtil, antes e depois da sua descoloração, foram realizados.

Sementes de *Lactuca sativa* apresentam maior superfície de contato (ANDRADE; DAVIDE; GEDRAITE, 2010), pequeno tamanho, massa e, em consequência, baixa quantidade de endosperma disponível. O endosperma atua como um mecanismo de resistência da germinação em condições ambientais adversas. Dessa forma, sementes pobres em endosperma são mais sensíveis às condições do meio, principalmente nos primeiros estágios do seu desenvolvimento, como é o caso da espécie utilizada neste estudo (BISOGNIN; VELASQUEZ; WIDDERS, 2005).

Houve uma variação na taxa de germinação (%) na presença do corante RBBR, depois de tratado. Em alguns tratamentos essa taxa diminuiu, porém, na maioria, a taxa de germinação permaneceu igual à do controle (96,67%) (Tabela 3).

Na presença do efluente têxtil não tratado e tratado observou-se uma diminuição dessa taxa, quando comparada com a do controle. Quando foram comparados o efluente têxtil não tratado e o tratado, não foi observada alteração na taxa de germinação (Tabela 4).

Tabela 3 Comparação das médias da taxa de germinação (%) e do comprimento da raiz (cm) de *L. sativa*, na presença do corante têxtil RBBR

Tratamentos	TG (%)	CR (cm)
Controle	96,67 a	3,92 c
RBBR 0,1gL ⁻¹ pH5,0	90,00 a	3,21 d
RBBR 0,1gL ⁻¹ pH9,0	88,33 a	2,63 e
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH5,0	96,67 a	3,50 d
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH9,0	86,67 a	2,83 e

RBBR 0,1gL ⁻¹ pH5,0 tratado (<i>L. edodes</i>)	78,33 b	3,35 d
RBBR 0,1gL ⁻¹ pH9,0 tratado (<i>L. edodes</i>)	83,33 a	3,29 d
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH5,0 tratado (<i>L. edodes</i>)	81,67 a	2,32 e
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH9,0 tratado (<i>L. edodes</i>)	91,67 a	3,23 d
RBBR 0,1gL ⁻¹ pH5,0 tratado (<i>P. ostreatus</i>)	85,00 a	3,68 c
RBBR 0,1gL ⁻¹ pH9,0 tratado (<i>P. ostreatus</i>)	88,33 a	3,70 c
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH5,0 tratado (<i>P. ostreatus</i>)	91,67 a	3,35 d
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH9,0 tratado (<i>P. ostreatus</i>)	85,00 a	4,07 c
RBBR 0,1gL ⁻¹ pH5,0 tratado (<i>P. pulmonarius</i>)	63,33 b	3,97 c
RBBR 0,1gL ⁻¹ pH9,0 tratado (<i>P. pulmonarius</i>)	68,33 b	3,92 c
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH5,0 tratado (<i>P. pulmonarius</i>)	65,00 b	4,09 c
RBBR 0,5gL ⁻¹ pH9,0 tratado (<i>P. pulmonarius</i>)	76,67 a	3,97 c

CV (taxa de germinação) = 10,74%; CV (comprimento da raiz) = 8,07%. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância

Tabela 4 Comparação das médias da taxa de germinação (%) e do comprimento da raiz (cm) de *L. sativa* na presença do efluente têxtil

Tratamentos	TG (%)	CR (cm)
Controle	96,67 a	3,92 c
Efluente têxtil não tratado	66,67 b	5,05 a
Efluente têxtil tratado (<i>L. edodes</i>)	75,00 b	4,99 a
Efluente têxtil tratado (<i>P. ostreatus</i>)	75,00 b	4,46 b
Efluente têxtil tratado (<i>P. pulmonarius</i>)	73,33 b	4,49 b

CV (taxa de germinação) = 10,74%; CV (comprimento da raiz) = 8,07%. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância

Ensaio ecotoxicológicos devem ser realizados, durante o processo de tratamento, para garantir que os produtos da degradação sejam menos tóxicos que o poluente original (EICHLEROVÁ et al., 2007). Em alguns casos, pode não ocorrer a redução da toxicidade, demonstrando a importância do monitoramento, antes e após o tratamento biológico (VANHULLE et al., 2008). Como demonstrado na Tabela 3, em alguns tratamentos com o corante, após a descoloração pelos fungos, houve uma diminuição na germinação das sementes. Neste caso, após o tratamento, o corante pode ter produzido intermediários metabólitos mais tóxicos que o original, o que torna necessária a realização de mais estudos (BILA et al., 2005).

Quando analisado o crescimento da raiz (cm), este apresentou bastante variação entre os diferentes tratamentos. Na presença do corante sem tratamento foi observada uma diminuição do crescimento da raiz, quando comparado com o controle (3,92 cm), para todos os valores de pH e concentração utilizados (Tabela 3).

Todos os tratamentos com o corante tratado pelo fungo *Pleurotus pulmonarius* apresentaram aumento no crescimento da raiz, quando comparado com o corante sem tratamento. Demonstrando uma diminuição da toxicidade

para esse parâmetro após o tratamento. Em seus estudos com descoloração e detoxificação de corantes reativos industriais, Casieri et al. (2008) encontraram uma significativa redução da toxicidade após tratamento biológico.

Nos tratamentos na presença do efluente têxtil não tratado e tratado também houve um efeito promotor de crescimento da raiz, quando comparado ao controle (Tabela 4).

Alvim, Kummrow e Beijo (2011) e Rehman e Bhatti (2009) observaram o estímulo do crescimento da raiz na presença de efluente têxtil não tratado sobre os modelos *Brassica rapa* L. e *Allium cepa* L. Efeitos estimuladores sobre o crescimento da raiz também foram observados por Tigini et al. (2011), em estudos com plantas expostas a efluentes domésticos e industriais. Para esses autores, a carga orgânica presente nos efluentes pode ter proporcionado uma maior oferta de nutrientes que contribuem para o aumento do comprimento da raiz.

Houve, ainda, uma relação entre menor taxa de germinação e maior comprimento de raiz, nos tratamentos com o efluente têxtil (Tabela 4). Isso pode ter ocorrido pela característica que as plantas apresentam por competirem por luz, água e nutrientes, revelando uma concorrência constante. Essa concorrência contribui para a sobrevivência das espécies e, por isso, algumas desenvolveram mecanismos de defesa, pelo qual, durante o seu crescimento, liberam produtos do metabolismo secundário, impedindo assim a germinação e o desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas, processo denominado alelopatia (ALVES et al., 2004; SOARES; VIEIRA, 2000).

Esta resistência ou tolerância aos metabólitos secundários é uma característica espécie-específica, existindo aquelas mais sensíveis, como a *Lactuca sativa* (alface), considerada uma planta indicadora de atividade alelopática (FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

Ainda são poucos os estudos ecotoxicológicos utilizando corantes e efluentes industriais, antes e após o seu tratamento com isolados fúngicos, por isso a necessidade de trabalhos complementares para melhor entendimento desse processo (MALACHOVÁ et al., 2006).

5 CONCLUSÕES

- a) o fungo *Pleurotus pulmonarius* foi capaz de descolorir o corante RBBR, tanto em pH 5,0 quanto em pH 9,0 e nas duas concentrações utilizadas, 0,1 gL⁻¹ e 0,5 gL⁻¹;
- b) *Lentinula edodes* obteve melhor descoloração no tratamento com o corante RBBR em pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹ e o fungo *Pleurotus ostreatus*, nos tratamentos em pH 5,0 e 0,5 gL⁻¹ e em pH 9,0 e 0,5 gL⁻¹;
- c) o corante, após a descoloração, apresentou efeito fitotóxico, reduzindo a taxa de germinação em alguns tratamentos. Entretanto, depois de tratado com o fungo *Pleurotus pulmonarius*, induziu o crescimento da raiz, não apresentado, portanto, efeito tóxico para este parâmetro;
- d) os tratamentos com o efluente têxtil apresentaram menores taxas de germinação e, em contrapartida, maior efeito promotor no crescimento da raiz.

REFERÊNCIAS

ABADULLA, E. et al. Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 8, p. 3357-3362, Aug. 2000.

AKEN, B. van et al. Transformation and mineralization of 2, 4, 6-trinitrotoluene (TNT) by manganese peroxidase from the white-rot basidiomycete *Phlebia radiata*. **Biodegradation**, Dordrecht, v. 10, n. 2, p. 83-91, 1999.

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

ALVES, M. D. C. S. et al. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, nov. 2004.

ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. **Revista Ambiente & Água**, Taubaté, v. 6, n. 2, p. 255-265, 2011.

ANDRADE, L. F.; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, L. S. The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 73, n. 4, p. 626-631, 2010.

ANDRADE, R. C. B.; SOUZA, M. F. L.; COUTO, E. C. G. Influência de efluentes têxteis e alimentícios sobre o metabolismo e propriedades Físicas e Químicas do Rio Piauitinga, Sergipe. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 424-427, jul./ago. 1998.

ANJANEYULU, Y.; CHARY, N. S.; RAJ, D. S. S. Decolourization of industrial effluents: available methods and emerging technologies: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, Boca Raton, v. 4, n. 4, p. 245-273, 2005.

ARAÚJO, F. V. F.; YOKOYAMA, L. Remoção de cor em soluções de corantes reativos por oxidação com H₂O₂/UV. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 11-14, jan./fev. 2006.

ARSLAN-ALATON, I. A review of the effects of dye-assisting chemicals on advanced oxidation of reactive dyes in wastewater. **Coloration Technology**, New York, v. 119, n. 6, p. 345-353, 2003.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 444-447, 2007.

BAJPAI, P. Application of enzymes in the pulp and paper industry. **Biotechnology Progress**, New York, v. 15, n. 2, p. 147-157, 1999.

BALAN, D. S. L. **Descoloração de corantes e efluentes têxteis**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. 83 p.

BELTRAME, L. T. C.; DANTAS, T. N. C.; DANTAS NETO, A. A. Microemulsão: a nova tecnologia na remoção da cor de efluentes. **Química Têxtil**, São Paulo, n. 76, p. 64-75, 2004.

BERGSTEN, L. R. et al. Estudo de fungos isolados de sedimento contaminado por compostos tóxicos. **REVISA**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 185-191, 2005.

BERTAZZOLI, R.; PELEGRINI, R. Descoloração e degradação de poluentes orgânicos em soluções aquosas através do processo fotoeletroquímico. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 477-482, maio/jun. 2002.

BILA, D. M. et al. Ozonation of a landfill leachate: evaluation of toxicity removal and biodegradability improvement. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 117, n. 2, p. 235-242, 2005.

BISOGNIN, D. A.; VELASQUEZ, L.; WIDDERS, I. Cucumber seedling dependence on cotyledonary leaves for early growth. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 6, p. 531-539, jun. 2005.

BLÁNQUEZ, P. et al. Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor*. **Water Research**, New York, v. 38, n. 8, p. 2166-2172, 2004.

BOER, C. G. et al. Decolorization of synthetic dyes by solid state cultures of *Lentinula (Lentinus) edodes* producing manganese peroxidase as the main ligninolytic enzyme. **Bioresource Technology**, Essex, v. 94, n. 2, p. 107-112, 2004.

BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. **Bioresource Technology**, Essex, v. 74, n. 1, p. 63-67, 2000.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 53, p. 58-63, 18 mar. 2005. Seção 1.

BRITO, N. N. et al. Utilização de fungos na remediação de efluentes industriais. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, FACULDADES INTEGRADAS CLARETIANAS, 4., 2004, Rio Claro. **Anais...** Rio Claro: Faculdades Integradas Claretianas, 2004. 1 CD-ROM.

CAMARGO, C. E. O.; FERREIRA FILHO, A. W. P.; SALOMON, M. V. Temperature and pH of the nutrient solution on wheat primary root growth. **Agricultural Science**, Cambridge, v. 61, n. 3, p. 313-318, 2004.

CARON, C. F. **Proposta de um sistema para remoção de sólidos suspensos e redução de matéria orgânica e de nutrientes em corpos aquáticos de pequeno porte: estudo de caso no córrego Blanche**. 2006. 223 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

CASIERI, L. et al. Decolorization and detoxication of reactive industrial dyes by immobilized fungi *Trametes pubescens* and *Pleurotus ostreatus*. **Folia Microbiologica**, Praha, v. 53, n. 1, p. 44-52, 2008.

CASTELLANI, A. The “water cultivation” of pathogenic fungi. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 66, p. 283-284, 1963.

CHAGAS, E. P.; DURRANT, L. R. Decolorization of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajor-caju*. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 29, n. 8, p. 473-477, 2001.

CHANDER, M.; ARORA, D. S.; BATH, H. K. Biodecolourisation of some industrial dyes by white-rot fungi. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v. 31, n. 2, p. 94-97, 2004.

CHIVUKULA, M.; SPADARO, J. T.; RENGANATHAN, V. Lignin peroxidase-catalyzed oxidation of sulfonated azo dyes generates novel sulfophenyl hydroperoxides. **Biochemistry**, New York, v. 34, n. 23, p. 7765-7772, 1995.

CIULLINI, I. et al. Fungal laccase, cellobiose dehydrogenase, and chemical mediators: combined actions for the decolorization of different classes of textile dyes. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 15, p. 7003-7010, 2008.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Microbiologia de lodos ativados**. São Paulo, 1989. 23 p. (Manuais).

CZERNIAWSKA-KUSZA, I.; KUSZA, G. The potential of the Phytotoxkit microbiotest for hazard evaluation of sediments in eutrophic freshwater ecosystems. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 179, n. 1/4, p. 113-121, 2011.

DALLAGO, R. M.; SMANIOTTO, A.; OLIVEIRA, L. C. A. Solid waste from tanneries as adsorbent for the removal of dyes in aqueous medium. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 433-437, maio/jun. 2005.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R.; BALAN, D. S. L. Biodegradação de corantes têxteis. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2008. p. 323-338.

DIAS, A. E. X. O. Biorremediação de áreas afetadas por resíduos sólidos tóxicos. In: _____. **Resíduos sólidos, ambiente e saúde: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2000. p. 79-98.

DURAN, N.; ESPOSITO, E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. **Applied Catalysis B: Environmental**, Amsterdam, v. 28, n. 2, p. 83-99, 2000.

EGGEN, T. Application of fungal substrate from commercial mushroom production *Pleurotus ostreatus* for bioremediation of creosote contaminated soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Birmingham, v. 44, n. 2, p. 117-126, 1999.

EICHLEROVÁ, I. et al. Decolorization of orange g and remazol brilliant blue R by the white rot fungus *Dichomitus squalens*: toxicological evaluation and morphological study. **Chemosphere**, Oxford, v. 69, n. 5, p. 795-802, 2007.

EOM, I. C. et al. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 67, n. 2, p. 190-205, 2007.

EUGENIO, M. E. et al. Bioremediation of lignosulphonates by lignin-degrading basidiomycetous fungi. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 11, p. 4929-4934, Nov. 2008.

FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 22, n. 5, p. 299-310, 2003.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2000.

FREIRE, R. S. et al. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 504-511, 2000.

FUENTES, A. et al. Phytotoxicity and heavy metals speciation of stabilized sewage sludges. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 108, n. 3, p. 161-169, 2004.

GIANFREDA, L.; XU, F.; BOLLAG, J. M. Laccases: a useful group of oxidoreductive enzymes. **Bioremediation Journal**, Boca Raton, v. 3, n. 1, p. 1-26, 1999.

GIANSANTE, A. E. Avaliação da capacidade de autodepuração do ribeirão Jacaré, Itatiba, São Paulo. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA, 1., 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: ABES, 1997. 1 CD-ROM.

GODIM, A. L. N.; BARBOSA, A. P. A.; PAZ, M. C. F. Remoção biológica de corantes têxteis através do consorcio bacteriano entre *Pseudomonas aeruginosa* e *Geobacillus stearothermophilus* UCP 986. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO

TECNOLOGICA, 1., 2007, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: UFPB, 2007. 1 CD-ROM.

GOMES, R. et al. Abertura comercial, internacionalização e competitividade: a indústria brasileira de máquinas têxteis após os anos 1990. **Economia e Sociedade**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 405-433, 2007.

GORINI, A. P. F. Panorama do setor têxtil no Brasil e no mundo: reestruturação e perspectivas. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 12, p. 17-50, 2000.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 71-78, jan./fev. 2000.

HASSEMER, M. E. N. Tratamento do efluente de uma indústria têxtil: processo físico-químico com ozônio e coagulação/floculação. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 4, p. 30-36, 2002.

HEINFLING, A.; BERGBAUER, M.; SZEWZYK, U. Biodegradation of azo and phthalocyanine dyes by *Trametes versicolor* and *Bjerkandera adusta*. **Applied and Microbiology Biotechnology**, Washington, v. 48, n. 2, p. 261-266, 1997.

HEINFLING, A. et al. Transformation of industrial dyes by manganese peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a manganese-independent reaction. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 8, p. 2788-2793, 1998.

HUGGET, A. C. et al. Comparative methods of toxicity testing. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 34, n. 2, p. 183-192, 1996.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O. Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência e Natura**, Cascavel, v. 29, n. 1, p. 7-24, 2007.

KAMIDA, H. M. et al. Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 629-632, jul./ago. 2005.

KANG, S. F.; LIAO, C. H.; HUNG, H. Peroxidation treatment of dye manufacturing wastewater in the presence of ultraviolet light and ferrous íons. **Journal Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 65, n. 3, p. 317-333, 1999.

KAO, C. M. et al. Regulating colored textile wastewaters by 3/31 wavelength ADMI methods in Taiwan. **Chemosphere**, Oxford, v. 44, n. 5, p. 1055-1063, 2001.

KAPANEN, A.; ITÄVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 49, n. 1, p. 1-16, 2001.

KAPOR, M. A. et al. Eletroanálise de corantes alimentícios: determinação de indigo carmim e tartrazina. **Eclética Química**, Araraquara, v. 26, n. 1, p. 53-68, 2001.

KHALAF, M. A. Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 14, p. 6631-6634, 2008.

KIM, T. et al. Decolorization of dye solutions by a membrane bioreactor (MBR) using white-rot fungi. **Desalination**, Amsterdam, v. 168, n. 1, p. 287-293, 2004.

KNAPP, J. S.; NEWBY, P. S.; REECE, L. P. Decolorization of dyes by wood-rotting basidiomycete fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 17, n. 7, p. 664-668, 1995.

KONSTANTINOOU, I. K.; ALBANIS, T. A. TiO₂-assisted photocatalytic degradation of azo dyes in aqueous solution: kinetic and mechanistic investigation: a review. **Applied Catalysis B: Environmental**, Amsterdam, v. 49, n. 1, p. 1-14, 2004.

KRCMÁR, P.; ULRICH, R. Degradation of polychlorinated biphenyl mixtures by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Folia Microbiologica**, Praha, v. 43, n. 1, p. 79-84, 1998.

KUMAR, K. et al. Decolorization, biodegradation and detoxification of benzidine based azo dye. **Bioresource Technology**, Essex, v. 97, n. 3, p. 407-413, 2006.

KUNZ, A.; DURAN, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 78-82, jan./fev. 2002.

LAU, K. L.; TSANG, Y. Y.; CHIU, S. W. Use of spent mushroom compost to bioremediate PAH-contaminated samples. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, n. 9, p. 1539-1546, Sept. 2003.

LYRA, E. S. et al. Decolorization of synthetic dyes by basidiomycetes isolated from woods of the Atlantic Forest (PE), Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1499-1504, Aug. 2009.

MACHADO, K. M. G. et al. Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from Brazilian ecosystems. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 481-487, July/Aug. 2006.

MACHADO, K. M. G.; MATHEUS, D. R. Biodegradation of Remazol Brilliant Blue R by ligninolytic enzymatic complex produced by *Pleurotus ostreatus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 468-473, July/Aug. 2006.

MACHADO, K. M. G.; MATHEUS, D. R.; BONONI, V. L. Ligninolytic enzymes production and Remazol Brilliant Blue R decolorization by tropical Brazilian basidiomycetes fungi. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 246-252, May/June 2005.

MALACHOVÁ, K. et al. Reduction in the mutagenicity of synthetic dyes by successive treatment with activated sludge and the ligninolytic fungus, *Irpex lacteus*. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v. 47, n. 7, p. 533-540, 2006.

MANSOUR, H. B. et al. Evaluation of genotoxicity and pro-oxidant effect of the azo dyes: acids yellow 17, violet 7 and orange 52, and of their degradation products by *Pseudomonas putida* mt-2. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 45, n. 9, p. 1670-1677, 2007.

MATTA, M. E. M.; KUMMROW, F.; UMBUZEIRO, G. A. Uma possível classificação da periculosidade de lodos de esgoto utilizando testes de toxicidade: resultados preliminares. In: SIMPÓSIO INTERAMERICANO DE BIODIVERSIDADE, 6., 2008, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: AIDIS, 2008. 1 CD-ROM.

NASCIMENTO, C. et al. Degradation and detoxification of three textile azo dyes by mixed fungal cultures from semi-arid region of Brazilian Northeast. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 54, n. 3, p. 621-628, 2011.

NASREEN, Z.; BAJWA, R.; KUSAR, T. Decolorization of textile dyes and their effluents using white rot fungi. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 5, n. 1, p. 49-52, 2007.

NIE, G.; READING, N. S.; AUST, S. D. Relative stability of recombinant versus native peroxidases from *Phanerochaete chrysosporium*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 365, n. 2, p. 328-334, 1999.

NILSSON, I. et al. Decolorization of synthetic and real textile wastewater by the use of white-rot fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 38, n. 1, p. 94-100, 2006.

NOLDIN, V. F.; MONACHE, F. D.; YUNES, R. A. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 331-334, maio/jun. 2003.

NOVOTNÝ, Č. et al. Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 89, n. 2, p. 113-122, 2001.

OLIVEIRA, D. P. et al. Chemical characterization of a dye processing plant effluent: identification of the mutagenic components. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 626, n. 1, p. 135-142, 2007.

OLIVEIRA, L. H. S. dos S. et al. Descoloração de corantes sintéticos por basidiomicetos tropicais brasileiros. **Naturalia**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 85-99, 2010.

OLLIKKA, P. et al. Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic, and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n. 12, p. 4010-4016, Dec. 1993.

PALACIO, S. M. et al. Correlation between heavy metal ions (copper, zinc, lead) concentrations and root length of *Allium cepa* L. in polluted river water. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, p. 191-196, 2005. Special issue.

PALMIERI, G.; CENNAMO, G.; SANNIA, G. Remazol Brilliant Blue R decolourisation by the fungus *Pleurotus ostreatus* and its oxidative enzymatic system. **Enzyme and Microbial Technology**, London, v. 36, n. 1, p. 17-24, 2005.

PANDARD, P. et al. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 363, n. 1, p. 114-125, 2006.

PASCHOAL, F. M. M.; TREMILIOSI-FILHO, G. Aplicação da tecnologia de eletrofloculação na recuperação do corante índigo blue a partir de efluentes industriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 766-772, set./out. 2005.

PAULA, A. et al. Adsorption of remazol blue RR from textile effluents using *Azadirachta indica* leaf powder as an alternative adsorbent. **Adsorption Science and Technology**, London, v. 27, n. 5, p. 461-478, 2009.

PELCZAR, J. R.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Pearson Makron Books, 1997. 524 p.

PEREIRA, A. R. B. et al. Biodegradação de corantes e efluentes têxteis por fungos. **Holos Environment**, Rio Claro, v. 10, n. 2, p. 165-179, 2011.

PERES, C. S.; ABRAHÃO, A. J. Características e sistemas de tratamento de águas residuais das indústrias têxteis. **Revista Química Têxtil**, São Paulo, v. 21, n. 52, p. 22-39, 1998.

RAJU, N. S. et al. Isolation and evaluation of indigenous soil fungi for decolorization of textile dyes. **Journal of Applied Sciences**, Islamabad, v. 7, n. 2, p. 298-301, 2007.

REHMAN, A.; BHATTI, H. N. Textile effluents affected seed germination and early growth of some winter vegetable crops: a case study. **Water, Air, and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 198, n. 1/4, p. 155-163, 2009.

RODRÍGUEZ, E. et al. Degradation of phenolic and non-phenolic aromatic pollutants by four *Pleurotus* species: the role of laccase and versatile peroxidase. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 36, n. 6, p. 909-916, 2004.

RODRÍGUEZ, E.; PICKARD, M. A.; VAZQUEZ-DUHALT, R. Industrial dye decolorization by laccases from ligninolytic fungi. **Current Microbiology**, New York, v. 38, n. 1, p. 27-32, 1999.

RODRÍGUEZ, M. T. T. et al. Toxicidad aguda de lixiviados acuosos mediante un ensayo con *Lactuca sativa* L. **Higiene y Sanidad Ambiental**, Madrid, v. 6, n. 1, p. 170-172, 2006.

RODRÍGUEZ, S. et al. Tratamiento de efluentes industriales coloreados con *Pleurotus* spp. **Revista Iberoamericana de Micología**, Barcelona, v. 20, n. 1, p. 164-168, 2003.

ROSALEN, L. A. et al. Biodegradação de efluente têxtil e nove corantes técnicos utilizando fungos basidiomicetos. **Química Têxtil**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 44-52, 2004.

SALLES, P. T. F.; PELEGRINI, N. N. B.; PELEGRINI, R. T. Tratamento eletroquímico de efluente industrial contendo corantes reativos. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 3, n. 2, p. 25-40, 2006.

SCHEIBNER, K.; HOFRICHTER, M.; FRITSCHKE, W. Mineralization of 2-amino-4, 6-dinitrotoluene by manganese peroxidase of the white-rot fungus *Nematoloma frowardii*. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 19, n. 9, p. 835-839, 1997.

SCHIMIDT, C. A. P. et al. Concentrações de metais pesados em grãos de café produzidos em lavouras sobre solos originados do basalto e do arenito Caiuá. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1590-1593, set./out. 2009.

SOARES, G.; COSTA-FERREIRA, M.; AMORIM, M. T. P. de. Decolorization of an anthraquinone-type dye using a laccase formulation. **Bioresource Technology**, Essex, v. 79, n. 2, p. 171-177, 2001.

SOARES, G. L. G.; VIEIRA, T. R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 7, n. 1, p. 180-197, 2000.

SOUZA, A. F.; ROSADO, F. R. Utilização de fungos basidiomicetos em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v. 2, n. 1, p. 121-139, 2009.

SOUZA, C. R. L.; ZAMORA, P. P. Degradação de corantes reativos pelo sistema ferro metálico/peróxido de hidrogênio. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 226-228, mar./abr. 2005.

SPERLING, M. von. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 1996. 246 p.

STOLZ, A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 56, n. 1/2, p. 69-80, 2001.

SWAMY, J.; RAMSAY, J. A. The evaluation of White rot fungi in the decoloration of textile dyes. **Enzyme and Microbial Technology**, London, v. 24, n. 3, p. 130-137, 1999.

TATARKO, M.; BUMPUS, J. A. Biodegradation of congo red by *Phanerochaete chrysosporium*. **Water Research**, New York, v. 32, n. 5, p. 1713-1717, 1998.

TEIXEIRA, R. S. S.; PEREIRA, P. M.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Extraction and application of laccases from shimeji mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) residues in decolourisation of reactive dyes and a comparative study using commercial laccase from *Aspergillus oryzae*. **Enzyme Research**, Cairo, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2010.

TIGINI, V. et al. Evaluation of toxicity, genotoxicity and environmental risk of simulated textile and tannery wastewaters with a battery of biotests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 74, n. 4, p. 866-873, 2011.

VANHULLE, S. et al. Cytotoxicity and genotoxicity evolution during decolorization of dyes by White Rot Fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 337-344, 2008.

VERMULM, R.; ERBER, F. **Estudo da competitividade de cadeias integradas no Brasil: impactos das zonas de livre comércio: cadeia: bens de capital**. Campinas: UNICAMP, 2002. 80 p.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress**, New York, v. 11, n. 3, p. 235-250, 1995.

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, New York, v. 22, n. 1, p. 161-187, 2003.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. 478 p.

ŽALTAUSKAIT, J.; CYPAIT, A. Assessment of landfill leachate toxicity using higher plants. **Environmental Research - Engineering and Management**, New York, v. 46, n. 4, p. 42-47, 2008.

ZANONI, M. V. B.; CARNEIRO, P. A. O descarte dos corantes têxteis. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 174, p. 61-64, 2001.