



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ- REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL**

RAPHAEL LUIZ ANDRADE SILVA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 NA BIORREMEDIÇÃO DE CORANTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL

RECIFE

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ- REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL**

RAPHAEL LUIZ ANDRADE SILVA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 NA BIORREMEDIAMENTO DE CORANTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal.

Área de concentração: Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto

RECIFE

2022

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

S586a Silva, Raphael Luiz Andrade
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO Aspergillus tamarii Kita UCP1279 NA
BIORREMEDIACÃO DE CORANTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL / Raphael Luiz Andrade Silva. - 2022.
105 f. : il.

Orientadora: Ana Lucia Figueiredo Porto.
Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em
Biociência Animal, Recife, 2022.

1. descoloração. 2. corantes azo. 3. biomassa. 4. efluentes têxteis. I. Porto, Ana Lucia Figueiredo,
orient. II. Título

CDD 636.089

RAPHAEL LUIZ ANDRADE SILVA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO *Aspergillus tamarii* Kita
UCP1279 NA BIORREMEDIÇÃO DE EFLUENTES TÊXTEIS**

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Figueiredo Porto (Presidente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA
UFRPE

Prof^a. Dr^a. Raquel Pedrosa Bezerra
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA
UFRPE

Prof. Dr^a Juanize Matias da Silva Batista
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA
UFRPE

Prof. Dr Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa
Instituto de Ciências Biológicas/ Campus Santo Amaro
UPE

Prof. Dr^a. Márcia Nieves Carneiro da Cunha
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA
UFRPE

Ao meu presente especial dado por Deus, Jônatas Andrade.

Te amo, filhão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu Deus, autor e consumador da minha fé, por sua tamanha fidelidade, bondade e misericórdia sobre minha vida. Por sempre estar comigo, me provando que a forma e o tempo é dEle! Ele faz da maneira que lhe apraz e no final tudo acaba perfeito. *“Porque dEle, por Ele, e para Ele são todas as coisas; glória pois a Ele eternamente, amém!”.*

A minha querida e linda família. Minha esposa Estéfane Hermano, por ser uma pessoa que acredita no meu potencial, nos meus sonhos e se possível batalha minhas lutas comigo para me ver vitorioso. Eu agradeço a Deus por sua vida, minha linda! Pela paciência e todo amor que você tem demonstrado. E a meu querido filho, Jônatas Andrade, por ser minha força motriz diária. Amo vocês.

Aos meus eternos incentivadores, meus pais Ismael Celestino e Vasti Andrade, por sempre acreditarem no meu potencial e criar em mim essa vontade de ir mais além, sempre ensinando que Deus está guiando todos os meus passos. Obrigado por todo cuidado, zelo, amor e por cada momento de oração por mim. Sim, eles são os meus maiores torcedores e eu o maior fã deles. Amo vocês! Vocês são partes fundamentais das minhas vitórias!

Meus irmãos, Matheus e Rebeca, que direta ou indiretamente, fizeram parte da minha conquista, orando e incentivando.

Ao meu sogro Givanildo Hermano e à minha sogra Edvania pelas incansáveis orações e por todo cuidado e carinho de pais.

À minha orientadora Dra. Ana Figueiredo Porto, pela competência, profissionalismo e firmeza na condução do trabalho.

Ao professor Dr. Romero Brandão pela paciência e por cada palavra de incentivo. Obrigado por acreditar no meu potencial, abrindo as portas e me ensinando um mundo novo dentro da área científica.

Ao Ev. Shóstenes Pereira, por ser um instrumento de Deus na minha vida, me instruindo, pela palavra, a estar atento e abraçar as oportunidades facultadas pelo próprio Deus, por me incentivar a acreditar no meu próprio potencial e pelas orações.

Aos amigos do LABTECBIO, que me apoiaram direta e indiretamente na elaboração do projeto! Em especial as minhas amigas Dra. Juanize Batista e Me Anna Gabrielly, por toda amizade e parceria.

Agradeço a CAPES, pelo apoio financeiro e a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), por todo apoio na execução desse projeto.

E a todos os amigos e familiares que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, seja intercedendo, torcendo ou apoiando, muito obrigado!

“Porque para Deus nada é impossível.”

(Lucas 1.37)

RESUMO

A indústria têxtil é uma das maiores poluidoras de águas doces frequentemente contaminada com corantes azo. No agreste Pernambucano, a problemática com poluição hídrica é uma realidade, visto que a qualidade das águas da região é comprometida devido à grande quantidade de efluentes contendo corantes lançados pelas lavanderias têxteis locais. Devido à complexidade estrutural e molecular, os corantes azo são resistentes a diversos tratamentos físicos e químicos. No entanto, o tratamento de águas residuais têxteis com aplicação de fungos filamentosos oferece várias vantagens em relação às técnicas convencionais em termos de custo-benefício e sustentabilidade. Neste trabalho foi estudado a capacidade do *Aspergillus tamarii* Kita em descolorir os corantes Direct Black 22 (DB22) e Direct Marine 2R (DM2R), ambos utilizados no polo têxtil de Pernambuco. O fungo em estudo foi selecionado por meio de um screening de fungos filamentosos, devido ao seu grande potencial de descoloração em um menor intervalo de tempo. Diferentes variantes foram testadas na descoloração do corante DB22 (concentração do corante, agitação e condição da biomassa). A descoloração máxima do DB22 foi de 100%, 97% e 63% nos intervalos de tempo de 75min, 180min e 180min, respectivamente, quando as concentrações foram de 50mg/L, 125mg/L e 250mg/L, respectivamente, sob agitação (120RPM) e utilizando biomassa viva. A descoloração do corante DM2R, por sua vez foi avaliada a uma concentração de 50 mg/L. Os experimentos foram conduzidos com diferentes pesos de biomassa (2g, 4g e 6g) em condições viva e morta. Além disso, foi avaliado o reaproveitamento da biomassa. A descoloração máxima do DM2R verificada foi de 100% no intervalo de tempo de 15 minutos, ao utilizar 4g e 6g de biomassa na condição viva. A melhor condição obtida com 2g de biomassa foi de 97%, em apenas 15 minutos de experimento, utilizando biomassa morta. Nos testes de reaproveitamento de biomassa, ambas as condições (vivo/morto) apresentaram máxima eficiência na descoloração do corante nos primeiros 15 minutos dos testes. De acordo com os resultados apresentados, o presente estudo revela que a biomassa do *Aspergillus tamarii* Kita possui um grande potencial para ser utilizada na descoloração de efluentes têxteis.

Palavras chaves: Descoloração, corantes azo, biomassa, efluentes têxteis.

ABSTRACT

The textile industry is one of the biggest polluters of fresh water often contaminated with azo dyes. In rural Pernambuco, the problem of water pollution is a reality, since the quality of the water in the region is compromised due to the large amount of effluents containing dyes released by local textile laundries. Due to their structural and molecular complexity, azo dyes are resistant to various physical and chemical treatments. However, the treatment of textile wastewater with the application of filamentous fungi offers several advantages over conventional techniques in terms of cost-effectiveness and sustainability. In this work, the ability of *Aspergillus tamarii* Kita to discolor Direct Black 22 (DB22) and Direct Marine 2R (DM2R) dyes, both used in the textile center of Pernambuco, was studied. The fungus under study was selected through a screening of filamentous fungi, due to its great potential for discoloration in a shorter period of time. Different variants were tested on DB22 dye decolorization (dye concentration, agitation and biomass condition). The maximum discoloration of DB22 was 100%, 97% and 63% in the time intervals of 75min, 180min and 180min, respectively, when the concentrations were 50mg/L, 125mg/L and 250mg/L, respectively, under agitation (120RPM) and using live biomass. The discoloration of the DM2R dye, in turn, was evaluated at a concentration of 50 mg/L. The experiments were conducted with different weights of biomass (2g, 4g and 6g) in live and dead conditions. In addition, the reuse of biomass was evaluated. The maximum discoloration of the DM2R verified was 100% in the time interval of 15 minutes, when using 4g and 6g of biomass in the live condition. The best condition obtained with 2g of biomass was 97%, in just 15 minutes of experiment, using dead biomass. In the biomass reuse tests, both conditions (alive/dead) showed maximum efficiency in dye discoloration in the first 15 minutes of the tests. According to the presented results, the present study reveals that the biomass of *Aspergillus tamarii* Kita has a great potential to be used in the discoloration of textile effluents.

Keywords: Discoloration, azo dyes, biomass, textile effluents.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 INDÚSTRIA TÊXTIL BRASILEIRA.....	19
2.1.1 Polo de confecções do Agreste Pernambucano	21
2.2 EFLUENTES TÊXTEIS	24
2.3 CORANTES TÊXTEIS	25
2.3.1 Corantes azo	28
2.3.1.1 Toxicidade dos corantes azo	30
2.4 TRATAMENTO DE EFLUENTES INDUSTRIALIS TÊXTIL.....	32
2.4.1 Processos fisico-químicos no tratamento de efluentes têxteis	33
2.4.2 Processos biológicos no tratamento de efluentes têxteis	35
2.4.2.1 Biodegradação	35
2.4.2.2 Bioacumulação.....	40
2.4.2.3 Biossorção.....	41
2.4.2.4 Tratamento biológico de efluentes têxteis utilizando fungos filamentosos	42
2.5 APLICAÇÃO DE FUNGOS DO GÊNERO <i>Aspergillus</i> NA DESCOLORAÇÃO DE CORANTES.....	44
2.6 POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE FUNGOS ISOLADOS DO BIOMA CAATINGA.....	45
3. OBJETIVOS.....	48
3.1 OBJETIVO GERAL	48
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

CAPÍTULO I

High decolorization efficiency by *Aspergillus tamarii* Kita isolated from Caatinga soil for
the remediation of wastewater..... 59

Abstract

1. Introduction

2. Material and methods

2.1	Dye	64
2.2	Strains and media	64
2.3	Screening of filamentous fungi with potential for decolorization of Direct Black 22	64
2.4	Decolorization of Direct Black 22 dye in submerged cultures of <i>Aspergillus tamarii</i> Kita.....	65
2.5	<i>Efficiency of decolorization of Direct Black 22 dye using living and dead fungal biomass.</i>	65
2.6	Toxicity assay.....	66
3.	Results and discussion	66
3.1	Screening of Isolates.....	66
3.2	Decolorization of Direct Black 22 in submerged cultures of <i>Aspergillus tamarii</i> Kita UCP 1279	67
3.3	Comparison between Living and Dead biomass of <i>Aspergillus Tamarii</i> Kita in the decolorization of Direct Black 22 dye.	70
3.4	Toxicity study	73
4.	Conclusions	73
	References.....	74

CAPÍTULO II

REUSE OF BIOMASS FROM <i>Aspergillus tamarii</i> Kita UCP 1279 IN DIRECT MARINE 2R TEXTILE DECOLORIZATION.....	77
ABSTRACT	79
1. INTRODUCTION	80
2. MATERIALS AND METHODS	82
2.1 Dye	82
2.2 Microorganism, media and culture conditions.	82
2.3 Biomass preparation	82
2.4 Decolorization analysis of Marine Direct 2R dye by <i>Aspergillus tamarii</i> Kita	83
2.5 Reuse of fungal biomass.....	83
3. RESULTS AND DISCUSSION	84
3.1 Evaluation of Direct Marine 2R Dye discoloration using different weights of live biomass of <i>Aspergillus tamarii</i> Kita UCP1279.	84
3.2 Evaluation of the discoloration of Direct Marine 2R dye using different weights of dead biomass of <i>Aspergillus tamarii</i> Kita UCP1279.....	87

3.3 Evaluation of the discoloration potential of Direct Marine 2R dye during reuse of biomass.....	88
4. CONCLUSION.....	92
REFERENCES.....	93
CAPÍTULO III	
PATENTE BR 10 2019 025957 4 intitulada “FILTRO BIOLÓGICO DE BIOMASSA FÚNGICA PARA TRATAMENTO POR BIOSSORÇÃO DE EFLUENTES COM CARGA DE CORANTES E RESPECTIVO PROCESSO DE TRATAMENTO”.	96
CONSIDERAÇÕES FINAIS	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Municípios que compõem o polo de confecções do Agreste Pernambucano.	22
Figura 2 - Fluxograma de produção de uma lavanderia de porte médio em Caruaru, PE.	24
Figura 3 - Divisão da estrutura molecular de um corante: parte A grupo cromóforo e parte B estrutura de fixação a fibra (auxocromo)	26
Figura 4 - Classificação dos corantes têxteis quanto ao método de aplicação	28
Figura 5 - Representação da estrutura química básica de um corante azo	29
Figura 6 - Classificação das técnicas comumente utilizadas para o tratamento de corantes	32
Figura 7 - Mecanismo proposto de azoredutases para degradação de corantes azo	37
Figura 8 - Produtos de degradação do Remazol Brilliant Blue R usando uma lacase de <i>Trametes pubescens</i>	38
Figura 9 - Atividade da peroxidase na degradação do corante azo sulfonado. A atividade da peroxidase fornece dois sítios de clivagem no grupo cromóforo $-N=N-$, que podem produzir um corte simétrico ou assimétrico na molécula do corante azo	40
Figura 10 - Mecanismos envolvidos no processo de biossorção	42
Figura 11 - Localização geográfica do domínio do Bioma Caatinga	46

CAPÍTULO I

Figura 1 - Decolorization of azo dye Direct Black 22 at different concentrations by <i>Aspergillus tamarii</i> Kita. UCP1279 under agitation (120 rpm) at 30°C..	68
Figura 2 - Decolorization of azo dye Direct Black 22 at different concentrations by <i>Aspergillus tamarii</i> Kita UCP1279 under static conditions at 30°C.....	70

Figura 3 - Decolorization of azo dye Direct Black 22 by live biomass and dead (autoclaved) biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 (180h; 30 °C; under agitation of 120 rpm;125 mg/L).....71

Figura 4 - Monitoring of the redox potential throughout the discoloration process of Direct Black 22 in the living/dead *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 biomass.72

CAPÍTULO II

Figura 1 - Análise ao longo do tempo da descoloração do corante azo Direct Marine 2R utilizando a biomassa do *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 em diferentes gramaturas (2g, 4g e 6g), incluindo incluindo (A) biomassa viva do *Aspergillus tamarii* Kita, (B) biomassa morta do *Aspergillus tamarii* Kita.....85

Figura 2 - Biomassa dos do *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 em diferentes gramaturas (2g, 4g e 6g), após filtração na bomba a vácuo.....87

Figura 3 - Performance da descoloração do corante azo Direct Marine 2R na primeira reutilização da biomassa do *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 em diferentes gramaturas (2g, 4g e 6g), incluindo (A) reuso 1 da biomassa viva do *Aspergillus tamarii* Kita, (B) reuso 1 da biomassa morta do *Aspergillus tamarii* Kita.....89

Figura 4 - Performance da descoloração do corante azo Direct Marine 2R na segunda reutilização da biomassa do *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 em diferentes gramaturas (2g, 4g e 6g), incluindo (A) reuso 2 da biomassa viva do *Aspergillus tamarii* Kita, (B) reuso 2 da biomassa morta do *Aspergillus tamarii* Kita.....90

Figura 5 - Análise comparativa entre o corante azo Direct Marine 2R tratado com 2g de biomassa do *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 viva (CTBV) e com 2g de biomassa do *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 morta ao final da segunda reutilização da biomassa (6h de descoloração). O corante bruto foi usado como parâmetro para descoloração.....91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação e utilização de corantes industriais.....27

Tabela 2 - Seleção de fungos do gênero *Aspergillus* para remoção de corantes têxteis.....45

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Screening of fungi isolated from the Caatinga and its efficiency time interval on the decolorization of the dye.....67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIT – Associação Brasileira da Indústria Têxtil
APLCP – Arranjo Produtivo Local de Confecções de Pernambuco
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
CPRH – Companhia Pernambucana de Recursos Hídricos
DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio
DB22 – Direct Black 22
DM2R – Direct Marine 2R
DQO – Demanda Química de Oxigênio
ed. – Edição
f. – Folha
IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
OD – Oxigênio Dissolvido
p. - Página
pH – potencial hidrogeniônico
COT – Carbono Orgânico Total
UCP – Universidade Católica de Pernambuco
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

1. INTRODUÇÃO

O contínuo crescimento da população e a constante expansão das atividades industriais têm ameaçado os ambientes aquáticos, devido a geração de grandes quantidades de efluentes contendo substâncias tóxicas (Almeida; Corso, 2019). Uma das maiores poluidoras dos recursos hídricos superficiais e subterrâneos, tem sido a indústria têxtil, visto que utiliza até 8.000 produtos químicos e grande quantidade de água. Vários relatos reportam que uma indústria têxtil de tamanho médio consome cerca de 1,6 milhão de litros de água por dia para a produção de cerca de 8.000 kg de tecido (Sen et al., 2016).

O Agreste Pernambucano enfrenta um grave problema de poluição hídrica no estado, tendo em vista que além de comprometer a qualidade da água da região devido à grande quantidade de efluentes contendo corantes lançados in natura pelas lavanderias têxteis locais, o polo têxtil de Pernambuco está localizado em uma região onde o abastecimento de água das cidades costuma ser restrito, seguindo um cronograma de distribuição de água (Braga et al., 2016, De Lima et al., 2014; Compesa, 2021). Diante desse cenário, a comunidade local busca alternativas, para manter as atividades. Portanto, o reúso da água é uma opção atraente, pois além de reduzir o custo de sua obtenção, ajuda a diminuir a liberação de compostos poluentes no meio ambiente (Lima et al., 2017; Viana et al., 2018).

Nos últimos anos, maior atenção tem sido dada ao descarte de efluentes contendo corantes sintéticos. A cada ano, 280.000 toneladas de corantes têxteis são despejadas em efluentes industriais em todo o mundo (Chatterjee et al., 2020). Como nem todos os corantes se ligam ao tecido, cerca de 2 a 50% do total de corantes são perdidos nas águas residuais durante o processo de tingimento e impressão, levando à uma severa contaminação dos corpos hídricos (Bhatia et al., 2017). Existem mais de 100.000 corantes comerciais encontrados no mundo, e todos os anos são produzidos mais de 109 kg de corante. O grupo de corante mais importante, que constitui mais da metade da quantidade anual de corante produzida, são os azo corantes (Iscen et al., 2022). Em particular, os corantes azo compreendem até 70% dos corantes usados nas indústrias têxteis (Lang et al. 2013) e são caracterizados pela presença de ligações azo ($R_1-N=N-R_2$) em sua estrutura (Nouri et al., 2021). A estabilidade estrutural e a alta cromaticidade dos corantes azo o tornam resistente à degradação

(Chen et al., 2020). Sendo assim, a descarga de efluentes contendo corantes azo representa uma grave ameaça a saúde dos seres humanos e dos ecossistemas, devido à sua natureza mutagênica, genotóxica e carcinogênica (Liu et al., 2021).

Em geral, métodos físico-químicos como coagulação e floculação química, carvão ativado, ozonização e filtração por membrana têm sido aplicados em estratégias de tratamento de efluentes têxteis. (Nouri et al., 2021). Todavia, tais métodos normalmente são de alto custo e podem causar poluição secundária ao meio ambiente (Chen et al., 2021; Liu et al., 2021). As tecnologias de biorremediação surgiram como alternativas ao tratamento de efluentes têxteis porque são econômicas, de alta eficiência e ecologicamente corretas (Chen et al., 2021). Estratégias biológicas têm sido relatadas como uma opção prospectiva para remoção de corantes sob várias condições (Ito et ai. 2016). Microrganismos, incluindo bactérias, fungos e microalgas (Ghosh et al. 2017) têm demonstrado grande capacidade de degradação e sorção de corantes azo (Rita de Cássia et al. 2013), principalmente por meio de adsorção biológica e vias catabólicas.

A aplicação de fungos filamentosos para biorremediação de variedades de compostos xenobióticos tem atraído atenção científica. Eles podem ser isolados em todos os lugares, como no solo e até mesmo de resíduos orgânicos. Diferentes gêneros de fungos filamentosos são utilizados para a remoção de corantes (Patel, 2021). Os mecanismos de como os fungos filamentosos descoloram e degradam os corantes azo dependem das atividades combinadas do processo de biossorção e das enzimas extracelulares produzidas (Dhir, 2022). Além disso, investigações sobre fungos filamentosos como biossorventes para efluentes contendo corantes têm sido realizadas em configurações de biomassa viva e morta (Ngo; Tischler, 2022). A biomassa fúngica tem várias vantagens sobre a biomassa de outros microrganismos, incluindo alta relação superfície-volume e produção de quitina e quitosana em sua parede celular. A quitina e a quitosana são bem conhecidas como compostos adsorventes úteis (Desbrières e Guibal 2018; Godage e Gionfriddo 2020). Além disso, a parede celular do fungo também contém grupos amino, carboxil, tiol e fosfato que podem se ligar a moléculas de corante e removê-las da água poluída (Bouras et al. 2017). A biomassa fúngica é gerada como subproduto através de processos de fermentação de produtos valiosos, como antibióticos, e pode ser usada como um biossorvente de baixo custo e de fácil obtenção (Crini 2006). A descoloração por

biomassa microbiana é realizada usando biomassa viva ou morta. A maioria dos estudos se concentrou em biomassa viva. No entanto, ao utilizar microrganismos inativados, não há necessidade de fornecimento de nutrientes, e a toxicidade do corante não afeta o microrganismo (Bouras et al. 2017).

Frente aos impactos ambientais e a poluição dos corpos hídricos, relacionada com a descarga dos efluentes têxteis, este estudo tem como objetivo avaliar a performance do *Aspergillus tamarii* Kita, isolado do solo do bioma Caatinga, na biorremediação de corantes utilizados no polo têxtil e de confecções do Agreste Pernambucano. Esses resultados podem contribuir para estudos mais precisos sobre as propriedades fúngicas e seus mecanismos na remoção de corantes azo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 INDÚSTRIA TÊXTIL BRASILEIRA

Atualmente o Brasil detém a maior cadeia têxtil completa do Ocidente, que vai desde a produção das fibras, como plantação de algodão, até os desfiles de moda, passando por fiações, tecelagens, beneficiadoras, confecções e forte varejo. O país ocupa a quinta posição entre os maiores produtores e consumidores de denim do mundo e a quarta posição entre os maiores produtores mundiais de artigos de vestuário, cuja produção média, em 2020, foi de aproximadamente 1,91 milhões de toneladas de produção têxtil e 7,93 bilhões de peças (Cavalcanti; Dos Santos, 2022). A indústria têxtil brasileira tem aproximadamente duzentos anos e é referência mundial em design de moda praia, jeanswear e homewear, tendo crescido também os segmentos de fitness e lingerie (ABIT, 2022).

Em 2021, a indústria têxtil e de confecção alcançou um faturamento estimado na ordem de R\$ 194 bilhões, com estimativas de crescimento, de 20% em relação aos R\$ 161 bilhões do ano anterior. Na comparação com 2020, a produção dos têxteis (insumos) aumentou 12,1% e das confecções, 15,1%. O varejo de roupas cresceu 16,9% (IEMI, 2021). As projeções, segundo a Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT), indicam crescimento setorial de 1,2% em 2022, ante 2021. Porém, essa expansão não foi suficiente para voltarmos aos números de 2019, o

último ano antes do advento da pandemia, cujo faturamento da cadeia têxtil e de confecção, segundo o Instituto de Estudos e Marketing Industrial (IEMI), foi de aproximadamente R\$186 bilhões. Nesse sentido, pode-se dizer que o Brasil tem uma produção volumosa, tanto para o consumo próprio quanto para a exportação, muito embora o seu maior consumidor seja o mercado interno (Prado, 2018).

Conforme dados informados pela ABIT, o Brasil é o segundo maior empregador da indústria de transformação, perdendo apenas para a indústria de alimentos e bebidas, demonstrando assim, grande relevância desse setor para a economia nacional, por demandar o uso intensivo de mão de obra, gerando rendas e empregos (ABIT, 2022). Segundo o IEMI, foram originados 1,36 milhão de empregados diretos e 8 milhões se adicionarmos os indiretos e efeito renda, dos quais 60% são de mão de obra feminina, representando assim, um total de 19,8% de trabalhadores alocados na produção industrial e 5% do valor total da produção da indústria brasileira de transformação (IEMI 2021);

De acordo com a Associação Brasileira de Indústria Têxtil e Confecção, existem no Brasil 24,6 mil unidades produtivas formais em todo o país, onde mais de 80% são empresas de confecções de pequeno e médio porte, por todo o território nacional. A maior concentração dessas indústrias se localiza na região sul, no estado de Santa Catarina, sudeste, nos estados de São Paulo e Minas Gerais, e nordeste, nos estados de Pernambuco, Bahia e Ceará (ABIT, 2022).

Um dos principais desafios enfrentados pela indústria têxtil brasileira é a alta volatilidade das taxas de câmbio e custos no Brasil, que se reflete em custos laborais, condições de trabalho desfavoráveis e políticas inadequadas de inovação tecnológica, além de altos impostos. Países como China e Índia ocupam o primeiro e segundo lugar na indústria têxtil mundial, com destaque para a China, que produz cerca de 50,2 % dos tecidos e 47,2 % de vestuário (Da Silva Filho et al., 2021).

Além de se destacar como o maior produtor mundial de têxtil e de vestuário, a China também é um dos maiores importadores da cadeia, uma vez que a produção depende das fibras, que são importadas de outros países para cobrir a crescente produção chinesa. Ademais, a economia chinesa e de alguns países asiáticos detêm uma grande vantagem competitiva na mão de obra, já que esta é abundante e barata. De acordo com os dados da ABIT, o custo de mão de obra por hora na China era de US\$ 0,55, enquanto que esse custo subia para US\$ 3,27 no Brasil em 2007. Em

termos percentuais, essa diferença de custos entre Brasil e China seria o equivalente a 495% menor para a mão de obra chinesa. Isso contribui para o aumento expressivo da posição da China no mercado mundial (Da Silva Filho et al., 2021).

2.1.1 Polo de confecções do Agreste Pernambucano

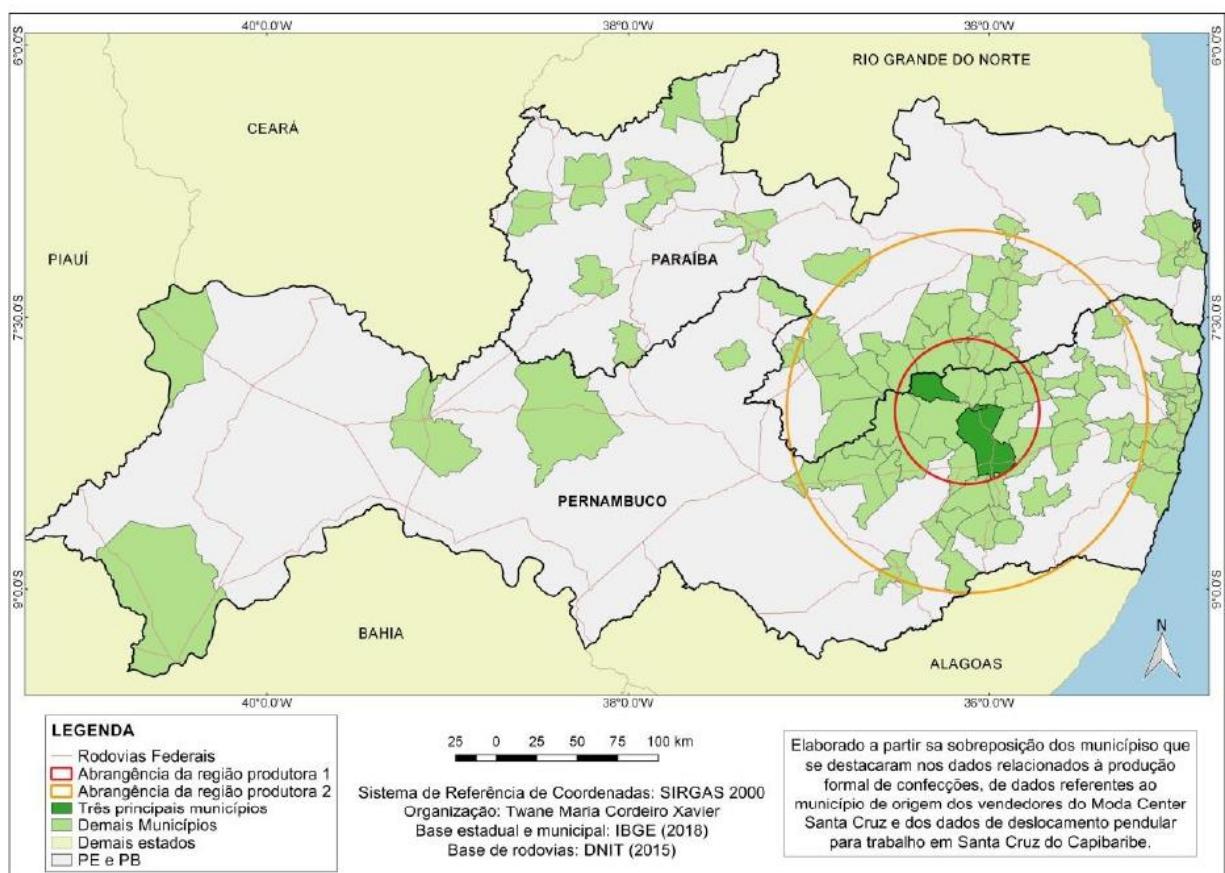
A região do agreste de Pernambuco se encontra em pleno desenvolvimento econômico devido ao avanço da indústria têxtil por toda região. De acordo com Chang e Corteletti (2019), nessa região está localizado o Arranjo Produtivo Local de Confecções de Pernambuco (APLCP). O APLCP, como é conhecido, compreende aproximadamente 15 municípios, tendo se expandido para cidades menores do Agreste Pernambucano, em regiões rurais e urbanas. Trata-se de um centro de confecções de tecido de grande importância, englobando aproximadamente 18,8 mil empresas, onde 20% são empresas formais, e 77% das empresas localizam-se nos três principais municípios da região: Caruaru, Toritama e Santa Cruz do Capibaribe (Figura 1). Em relação ao segmento geral das peças produzidas, cada um desses três municípios possui características distintas. Caruaru produz e comercializa artigos de vestuário variados, mas principalmente confecções em tecido de malha, Toritama é reconhecida pela produção de jeans e Santa Cruz tem se especializado em confecções em malhas de algodão, em moda íntima e moda praia. (APL CONFECÇÕES PE, 2016).

Embora o crescimento econômico da região seja viabilizado através dos processos de beneficiamento de jeans, impactos ambientais relevantes são observados devido à falta de infraestrutura e planejamento, com ausência de ações de controle e mitigação desses impactos, caracterizando assim, um desenvolvimento insustentável. Tais impactos causados pela indústria têxtil são amplamente observados na qualidade das águas dos rios Ipojuca e Capibaribe, que passam por essa região (FIEMG, 2014).

O consumo de água das lavanderias e tinturarias aproximado é de 40 litros de água por peça beneficiada, gerando assim, de 50 a 300 mil litros de efluentes por dia e cerca de 1.000.000 m³ por ano, que são despejadas no rio Capibaribe, de caráter

intermitente, localizado na região do semiárido pernambucano (Reciclagem, 2006, apud Costa, 2008).

Figura 1- Municípios que compõem o polo de confecções do Agreste Pernambucano.



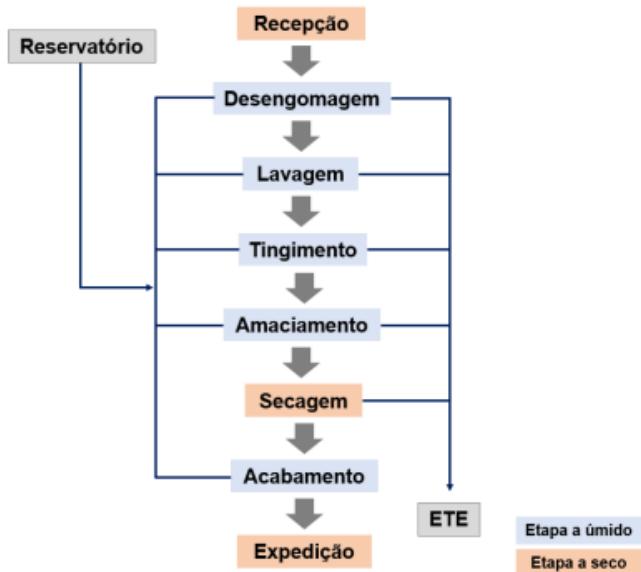
Fonte: Xavier (2020).

As lavanderias do APLCP são abastecidas por três diferentes origens: pelo rio Capibaribe, de onde se retiram aproximadamente 15.750 m³ /mês, pelo subsolo, onde são retiradas pelas empresas, através de poços, aproximadamente 8.860 m³ de água por mês e por caminhões pipa, veículos que transportam água, fornecendo aproximadamente 112.698 m³/mês. (CPRH, 2005). Portanto, tanto o lançamento de águas residuais têxteis nos corpos hídricos da região, quanto a utilização de grandes volumes de água, são impactos relevantes observados nas indústrias têxteis do APLCP.

De forma geral, os processos de beneficiamento de jeans (Figura 2) que ocorrem normalmente em indústrias têxteis no APLCP são compreendidos por:

- I. **Recepção:** Pesagem e separação das peças de acordo com o tipo de lavagem e tingimento solicitado pelo cliente.
- II. **Desengomagem:** Trata-se da primeira etapa úmida, onde há a eliminação da goma contida no tecido.
- III. **Lavagem:** Higienização dos artigos têxteis conferindo um tratamento mais adequado a cada tipo de peça. Engloba a segunda etapa úmida (FIEMG, 2014).
- IV. **Tingimento:** Etapa determinante do sucesso comercial dos produtos têxteis. Ocorre de acordo com a solicitação do cliente e a tendência da moda. Divide-se em três partes, migração, absorção e difusão; e fixação do corante. (Amaral, 2015).
- V. **Amaciamento:** Conferir suavidade aos artigos desejados. Fase final do processo úmido, onde há adição de amaciante.
- VI. **Secagem:** Trata-se de um processo a seco, onde há o fator temperatura, pois, quando superior a 90°C, é observado o encolhimento nas peças (Ferraz, 2011).
- VII. **Acabamento:** Eliminação de rugas nas peças. Etapa parcialmente úmida, onde a água encontra-se na forma de vapor.
- VIII. **Expedição:** Verificação de qualidade das peças.

Figura 2 - Fluxograma de produção de uma lavanderia de porte médio em Caruaru, PE.



Fonte: Adaptado de Ferraz (2010)

2.2 EFLUENTES TÊXTEIS

As águas residuais provenientes das atividades produtivas das indústrias têxteis constituem uma ameaça ao meio ambiente em grande parte do mundo (Nilsson, et al., 2006). Existem variações extremas em diferentes parâmetros, como demanda química de oxigênio (DQO), DBO, pH, cor e salinidade no processamento têxtil. A composição dos efluentes dependerá dos diferentes compostos de base orgânica, produtos químicos e corantes usados nas etapas industriais de processamento seco e úmido (Senthilkumar, et al., 2011).

Os principais poluentes das águas residuais têxteis são originários das etapas de tingimento e acabamento que envolvem o tingimento das fibras artificiais ou naturais para a cor permanente desejada e o processamento dessas fibras em produtos comerciais finais (Sarayu; Sandhya, 2012). As características destes efluentes dependem da tecnologia e dos processos industriais utilizados, como também dos tipos de fibras e produtos químicos, como enzimas, detergentes,

corantes, ácidos, sais, metais, aditivos, tensoativos, agentes fixadores e outros, empregados ao longo do processo de produção (Borrely et al., 2019; Almeida e Corso, 2019). Os agentes de dimensionamento são aplicados ao fio antes da produção do tecido para garantir um processo de tecelagem rápido e seguro. Posteriormente, são retirados dos tecidos em processo úmido na indústria de acabamento têxtil. As águas residuais de desengomagem representam aproximadamente 50% da carga orgânica nas águas residuais descarregadas da indústria de acabamento têxtil (Sarayu; Sandhya, 2012). Tal configuração das águas residuais têxteis são responsáveis pela depreciação da qualidade da água, levando a um preocupante nível de toxicidade (Borrely et al., 2019, Rosa et al., 2019).

2.3 CORANTES TÊXTEIS

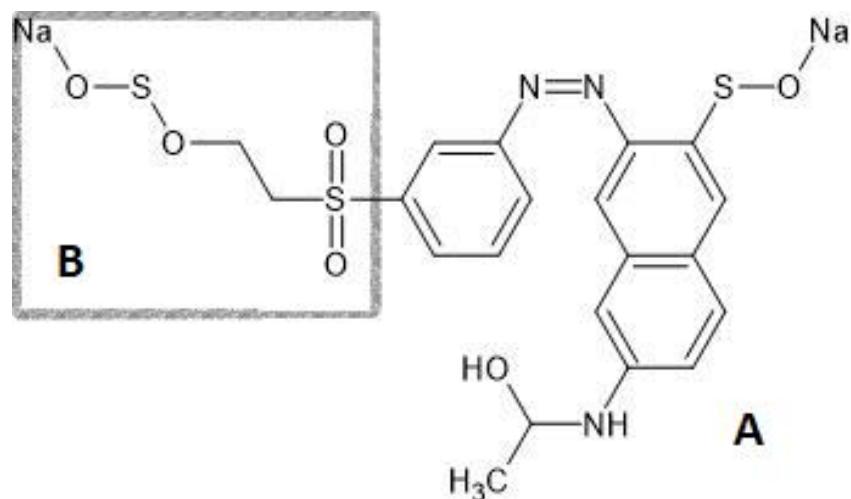
Corantes e pigmentos orgânicos podem ser definidos como substâncias intensamente coloridas que, quando aplicadas a um material lhe conferem cor. São substâncias intensamente empregadas para coloração de vários substratos, tais como: alimentos, cosméticos, plásticos, materiais têxteis, etc. Especificamente os corantes têxteis, são compostos orgânicos cuja finalidade é conferir a certa fibra (substrato) determinada cor, sob condições de processo préestabelecidas (ABIQUIM, 2012).

Os corantes são classificados, dependendo de sua origem, em duas categorias principais: corantes naturais e corantes sintéticos. No início do século 19, os corantes foram inicialmente obtidos de fontes naturais para colorir tecidos (Slama et al., 2021; Selvaraje, et al., 2021). No entanto, com o aprimoramento das atividades industriais, os corantes naturais não conseguiam suprir as necessidades da demanda da população. A tecnologia de tingimento têxtil transformou a indústria em desenvolvimento desde a descoberta do primeiro corante sintético, “mauveine” por William Henry Perkin em 1856 e estabeleceu a indústria de fabricação de corantes sintéticos. Portanto, os corantes sintéticos são desenvolvidos e têm substituído gradualmente os corantes naturais, principalmente em tecidos e indústrias têxteis. Atualmente, cerca de 7×10^7 toneladas de corantes sintéticos são produzidos

anualmente para a indústria têxtil em todo o mundo, dos quais aproximadamente, 10% são descartados no meio ambiente como efluente após tingimento e processamento (Sharma et al., 2021; Benkhaya et al., 2020).

As moléculas dos corantes consistem principalmente em dois grupos principais (figura 3), o grupo cromóforo, que consiste em grupos de átomos, consiste em grupos de átomos, com diferentes grupos funcionais, como $O = (C_6H_4) = O$, $-C=O$, $-N=N-$ e $-NO_2$, sendo o principal responsável pelo tingimento dos tecidos. A absorção de ondas eletromagnéticas pelo cromóforo é devido à excitação dos elétrons de uma molécula. A molécula que os contém torna-se cromogênica. A molécula cromogênica tem possibilidades de tingimento apenas pela adição de outros grupos de átomos chamados “auxocromo”. Esses grupos auxocrônicos permitem a fixação dos corantes com o aumento da afinidade da fibra pela cor e podem modificar a cor do corante (Sharma et al., 2021; Benkhaya et al., 2020).

Figura 3 - Divisão da estrutura molecular de um corante: parte A grupo cromóforo e parte B estrutura de fixação a fibra (auxocromo).

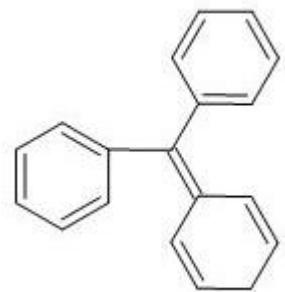
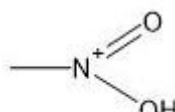
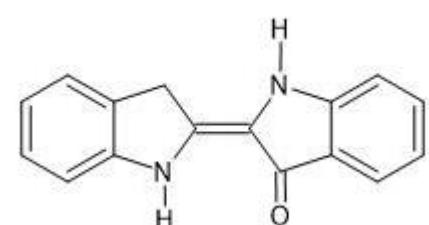
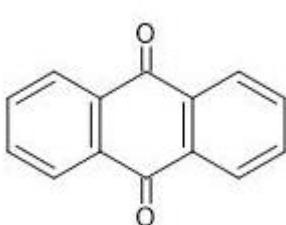


Fonte: Adaptado de ZANONI;CARNEIRO (2001)

Além de serem agrupados pela sua origem, os corantes são classificados tanto por sua estrutura química quanto por seu método de aplicação em diferentes substratos, como fibras têxteis, papel, couros e plásticos. A classificação quanto a

estrutura química dos corantes (tabela 1) baseia-se mais particularmente na natureza do seu grupamento cromóforo, de tal forma que as fábricas de tingimento são capazes de prever as reações químicas entre o corante e os agentes redutores, os oxidantes e os outros compostos.

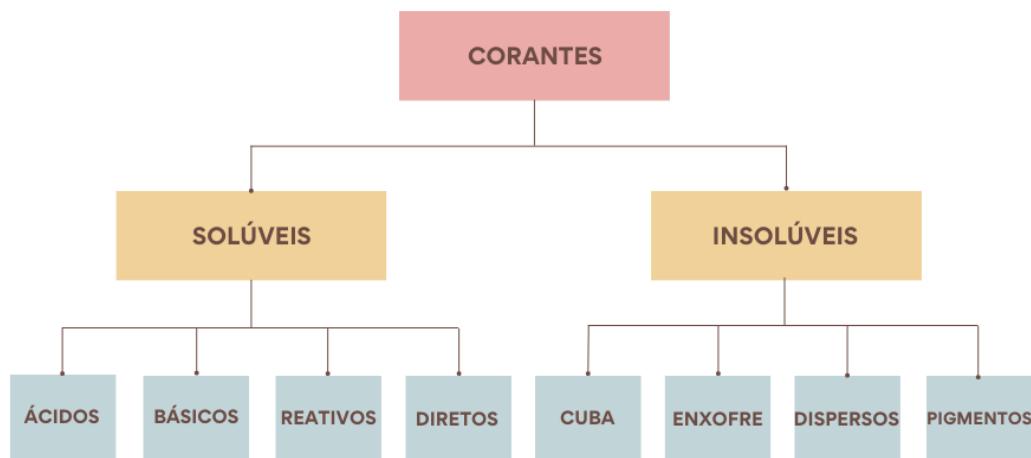
Tabela 1: Classificação dos corantes quanto a estrutura química.

Classificação dos corantes baseado na estrutura química	
Classe	Estrutura
Corantes azo	—N=N—
Corantes de triarilmetano	
Corantes nitro	
Corantes nitrosos	—N=O
Corantes Indigoïdes	
Corantes de antraquinona	

Fonte: Adaptado de Ihsanullah et al (2020).

A classificação quanto ao método de aplicação é definida pelo agrupamento dos auxocromos de interesse do tintureiro que prefere uma classificação por campos de aplicação. Esta classificação é informada em relação a solubilidade do corante no banho de tingimento, sua afinidade pelas diversas fibras e a natureza da fixação (figura 4). Nesta classificação, existem duas famílias de corantes, corantes solúveis e insolúveis em água (Berradi et al., 2019; Sahoo et al., 2017; Siddiqua et al., 2017).

Figura 4 – Classificação dos corantes têxteis quanto ao método de aplicação.



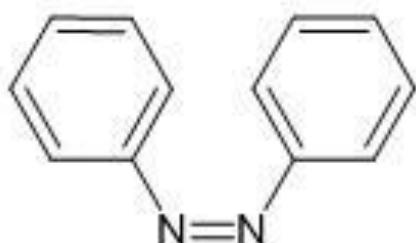
Fonte: Sharma et al (2021).

2.3.1 Corantes azo

Entre todos os tipos de corantes sintéticos comerciais, corantes azo compõem a maior classe que apresenta uma ampla variedade de cores e estruturas e representa até 70% das corantes têxteis totais utilizados (Tan et al., 2014). Eles são amplamente utilizados na indústria têxtil, por causa da sua estabilidade, variedade de cor e facilidade de aplicação (Xie et al., 2016). Segundo Jonstrup et al. (2011), corantes azo são compostos aromáticos contendo grupos azo (-N=N-) e substituintes, tais como amino (-NH₂), cloro (-Cl), hidroxil (-OH), metil (-CH₃), nitro (-NO₂), e ácido sulfônico sal de sódio (-SO₃Na). A cor dos corantes azóicos é atribuída à ligação azo, os

auxocromos associados e um sistema de ligações duplas conjugadas (Zhang et al., 2010). A figura 5 representa a estrutura básica de um azocorante.

Figura 5 - Representação da estrutura química básica de um corante azo.



Fonte: O autor.

. Corantes azo podem ser reduzidos a aminas aromáticas potencialmente cancerígenas em condições deficientes em oxigênio. Isto representa uma ameaça para a agricultura e para a saúde das pessoas que vivem nas áreas circundantes (Jonstrup et al., 2011). O lançamento inadequado de efluentes têxteis contendo corantes azo e seus metabólitos em ecossistemas aquosos é esteticamente desagradável e leva a uma redução na penetração da luz solar, que por sua vez diminui a atividade fotossintética, a concentração de oxigênio dissolvido, e a qualidade da água, e proporciona efeitos tóxicos agudos sobre a flora e fauna aquática, causando graves problemas ambientais em todo o mundo. Além disso, os corantes azo também têm um impacto negativo em termos de carbono orgânico total (COT), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO). Muitos corantes azo sintéticos e seus metabólitos são tóxicos, cancerígenos e mutagênicos (Saratale et al., 2011).

Além disso, de acordo com Saratale (2011), os corantes têxteis e efluentes têm efeitos tóxicos sobre as taxas de germinação e de biomassa de diversas espécies de plantas que têm importantes funções ecológicas, tais como fornecer um habitat para a vida selvagem, proteger o solo contra a erosão e fornecer a matéria orgânica que é tão significativo à fertilidade. Portanto, a remoção eficaz de corantes azo de efluentes antes da descarga no meio ambiente é de importância prática (Tan et al., 2014).

Tendo em vista a complexidade dos corantes, muitas vezes é impossível traduzi-los por uma fórmula química – alguns são misturas de vários compostos e outros não possuem estrutura definida. Para identificar os mesmos corantes, comercializados com diferentes nomes, utilizase o Colour Index (CI), que contém uma lista organizada para designar os diversos tipos (ABIQUIM, 2012).

2.3.1.1 Toxicidade dos corantes azo

A maioria dos corantes utilizados no processamento têxtil são conhecidos apenas por seu nome comercial e não por sua natureza química real e isso levou a sérios problemas para encontrar um processo de degradação de corantes adequado e completo. As indústrias têxteis liberam uma enorme quantidade de efluentes coloridos para os corpos d'água próximos, todavia o tratamento ineficiente dos efluentes causa a maior poluição ambiental. Devido à sua natureza xenobiótica, os corantes azo possuem um efeito de longo prazo na vida devido à presença de quantidades significativas de metais tóxicos e produtos químicos com pH aumentado (Selvaraj, et al., 2021).

A presença de azo corantes nos corpos d'água apresentam muito efeitos deletérios que vão muito além da poluição visual (Kunz et al., 2002; Pereira; Freire, 2005). Essas substâncias possuem alta persistência no meio aquático pelo fato de apresentarem em sua composição química uma grande quantidade de anéis aromáticos, ligações azóicas, aminas e grupos sulfônicos, conferindo assim aos efluentes que contém tais corantes, um lento processo de biodegradação (Vitor; Corso, 2008; Carneiro et al., 2004). Os corpos hídricos receptores desses corantes tendem a sofrer alterações químicas e biológicas que consomem oxigênio dissolvido e consequentemente afetam o conteúdo biótico presente na água. Quando o corante se mistura com a água, a eficiência de penetração da luz diminui dentro do sistema aquático comprometendo assim, o ecossistema aquático (Selvaraj, et al., 2021).

Os materiais tóxicos presentes nos corantes azo é perigosa para os organismos a eles expostos, causando assim sérios problemas de saúde ao ser humano através do processo na cadeia alimentar. Foi observado que os corantes azo à base de

benzidina foram reconhecidos como cancerígenos na bexiga humana e tumorígenos em animais de laboratório (Sen, et al., 2016). Também pode causar hepatocarcinoma, sarcoma esplênico, anomalias nucleares em animais experimentais e também aberrações cromossômicas em células de mamíferos (Solis, et al., 2012). Devido à fácil inalação ou à sua pronta solubilização em água, os corantes azoicos podem causar rápida absorção pela pele levando ao risco de reação alérgica, câncer, irritação ocular, etc. (Sen, et al., 2016). A parafenileno diamina (PPD) é considerada um dos principais componentes dos corantes azoicos. Os corantes azoicos contendo PPD são tóxicos e causam dermatite de contato, quemose, lacrimejamento, exoptamlose e cegueira permanente. A ingestão de produtos PPD contribui para o rápido desenvolvimento de edema na face, pescoço, faringe, língua e laringe, juntamente com desconforto respiratório. Isso porque a redução dos corantes azo levou à formação de aminas aromáticas, que são metabolicamente oxidadas a espécies reativas eletrofílicas e consequentemente se ligam covalentemente ao DNA por meio de um processo irreversível (Sudha, et al., 2014).

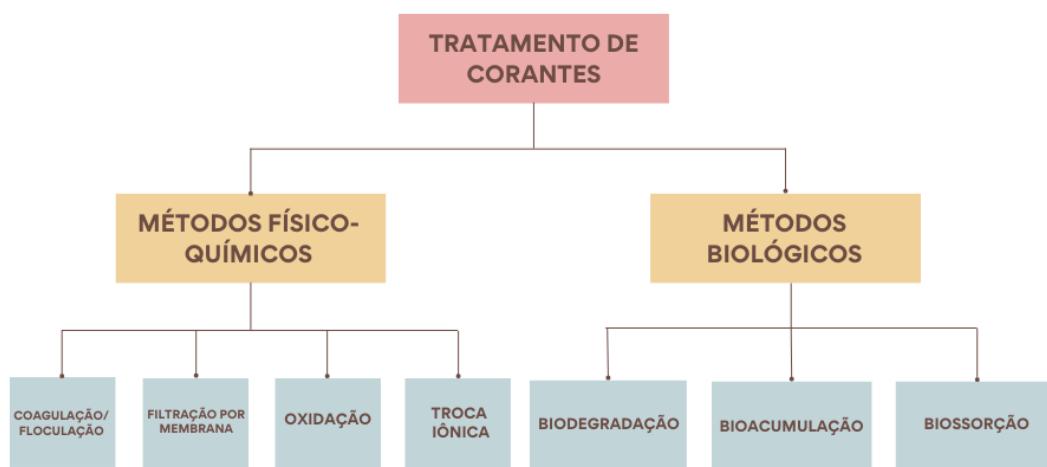
É de extrema importância obter a avaliação da toxicidade de corantes têxteis, por causa dos efeitos nocivos que estes compostos podem vir a causar ao ambiente e aos organismos a eles expostos. A potencialidade da substância química em indicar ou não efeitos tóxicos, bem como a natureza do efeito e o grau de toxicidade, são informações importantes obtidas com a aplicação de testes toxicológicos. É possível determinar o emprego de um produto potencialmente perigoso, mas de grande utilização, com o mínimo de risco para o meio ambiente e saúde humana, mediante tal avaliação.

No Brasil, a Resolução CONAMA nº 357 estabelece os padrões para lançamento de efluentes industriais, inclusive quanto ao potencial para provocar efeitos tóxicos no corpo receptor. Em 2011, a mesma foi alterada e complementada pela Resolução nº 430 do CONAMA, que estabelece critérios para a cobrança do atendimento aos parâmetros de toxicidade pelos órgãos ambientais estaduais. Sendo assim, já está sendo exigido que as empresas atendam aos limites de toxicidade estabelecidos para efluentes. (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011).

2.4 TRATAMENTO DE EFLUENTES INDUSTRIAIS TÊXTIL

A persistência dos corantes em efluentes é a principal causa da poluição envolvendo indústrias têxteis. Sendo assim, é necessário o desenvolvimento de tratamentos e tecnologias eficazes para a descoloração de corantes em águas residuais. Os principais métodos para a remediação de corantes são os métodos físico-químicos e os métodos biológicas. Os métodos físico-químicos convencionais usados para tratar os efluentes têxteis são oxidação, floculação, coagulação, precipitação, ozonização, branqueamento, filtração por membrana, troca iônica e adsorção. Porém estas técnicas demonstram-se desvantajosas devido a sua baixa eficiência, alto custo, alto consumo de energia e geração de resíduos secundários. No entanto, atualmente, a biorremediação recentemente ganhou atenção considerável como uma opção de tratamento biológico mais adequado e amplamente utilizados devido à sua relação custo-benefício, capacidade de produzir menos lodo, e a natureza sustentável (Figura 6) (Saralate, et al., 2011; Govindwar et al., 2014; Singh et al., 2015; Ihsanullah et al., 2020).

Figura 6 – Classificação das técnicas comumente utilizadas para o tratamento de corantes.



Fonte: Adaptado de Ihsanullah et al (2020).

2.4.1 Processos fisico-químicos no tratamento de efluentes têxteis

Várias técnicas distintas de tratamento físico-químico têm sido empregadas para a remoção de corantes de efluentes. Estes incluem coagulação e floculação (Shi et al., 2007; Moghaddam et al., 2010), adsorção (Zubair et al., 2018; Ghaedi et al., 2015; Mohammadi et al., 2011; Regti et al., 2017), separação por membrana (Yang et al., 2020), troca iônica (Karcher et al., 2002), fotodegradação (Rajendran et al., 2016; Saravanan et al., 2016) e oxidação (Arslan et al., 2000). No entanto, esses métodos são atormentados por obstáculos técnicos e econômicos, como alto custo, geração de grandes quantidades de lodo e subprodutos prejudiciais e menor viabilidade em escala comercial.

Métodos físicos baseados em coagulação e floculação são eficazes para a descoloração de efluentes contendo corantes. O processo de coagulação geralmente emprega cloreto férrico e sulfato ferroso para a absorção de corantes de efluentes têxteis (Huang et al., 2014). No entanto, estudos também relataram aplicações bem-sucedidas de outros coagulantes, como cloreto de magnésio (Tan et al., 2000), cloreto de polialumínio (Shi et al., 2007), quitosana (Szygula et al., 2009) e cloreto de alumínio (Lee et al., 2006) para a remediação de efluentes têxteis. No entanto, a coagulação apresenta algumas limitações, como baixa eficiência de descoloração, alto custo e geração de quantidade substancial de lodo (Vikrant et al., 2018; Robinson et al., 2001; Yeap et al., 2014; Liang et al., 2014).

O processo de adsorção é uma das técnicas amplamente empregadas no tratamento de água para a remoção de diversos poluentes, sendo preferido devido à sua facilidade de aplicação, baixo custo e alta eficiência (Ihsanullah et al., 2020). Os métodos de adsorção têm atraído atenção considerável devido à sua eficiência de descoloração superior para vários corantes das águas residuais têxteis (Blaisi et al., 2018; Dil et al., 2016; Nekouei et al., 2015). Vários adsorventes têm sido relatados na literatura para a remediação de corantes de águas residuais, como carvão ativado, madeira, nanotubos de carbono, cinzas volantes, óxidos metálicos, casca de arroz, zeólitas, estruturas metal-orgânicas (MOFs), MXenes e turfa (Ihsanullah et al., 2020). As características desejadas de um adsorvente para aplicações de tratamento de água são alta afinidade, capacidade de absorção de corantes selecionados, baixo

custo e excelente capacidade de regeneração (Jadhavi et al., 2013). Uma grande desvantagem associada à adsorção é que ela não causa a quebra das moléculas do corante.

Técnicas de filtração por membrana como osmose reversa, nanofiltração e ultrafiltração também têm sido empregadas no tratamento de efluentes descartados da indústria têxtil (Ihsanullah et al., 2020). O tratamento de corantes à base de membrana oferece as vantagens de requisitos de baixa pegada, manutenção limitada e facilidade de instalação e operação. Várias membranas avançadas foram relatadas na literatura para a separação seletiva de várias moléculas de corante (Robinson et al., 2001; Rondon et al., 2015). O tratamento de corantes à base de membrana também sofre de algumas limitações, como a dificuldade de tratar grandes volumes de corantes, geração de resíduo concentrado e entupimento da membrana.

Outras abordagens convencionais que geralmente são empregadas para a degradação de efluentes têxteis incluem técnicas de oxidação, como oxidação química e processos de oxidação avançada (AOP). Nos processos AOP, as moléculas do corante são oxidadas pelos radicais hidroxila que são produzidos durante o processo (Asghar et al., 2015). A oxidação química geralmente emprega o agente oxidante como H_2O_2 e O_3 para a mineralização de poluentes orgânicos. Esses agentes oxidantes produzem uma enorme quantidade de radicais hidroxila que podem destruir a estrutura complexa dos corantes e produzir moléculas não-cromofóricas menores. Os métodos de oxidação química para tratamento de efluentes têxteis são adequados para moléculas de corantes de ligação dupla. Esses agentes oxidantes têm uma baixa taxa de degradação em comparação com os processos AOP devido à produção de uma menor quantidade de radicais hidroxila (Asghar et al., 2015). O processo de ozonização tem sido amplamente empregado na purificação de água para a degradação de poluentes orgânicos tóxicos (Wang et al., 2020). A ozonização tem as vantagens de não gerar lodo e não aumentar o volume do efluente. No entanto, a formação de subprodutos tóxicos e o alto custo são as principais desvantagens associadas ao processo de ozonização (Tian et al., 2014). A estabilidade do ozônio também é afetada pela temperatura, pH e presença de sais. Resinas de troca iônica também são empregadas para a remediação de efluentes têxteis. No entanto, este processo é comparativamente caro e menos eficiente para a remoção de corantes (Robinson et al., 2001).

2.4.2 Processos biológicos no tratamento de efluentes têxteis

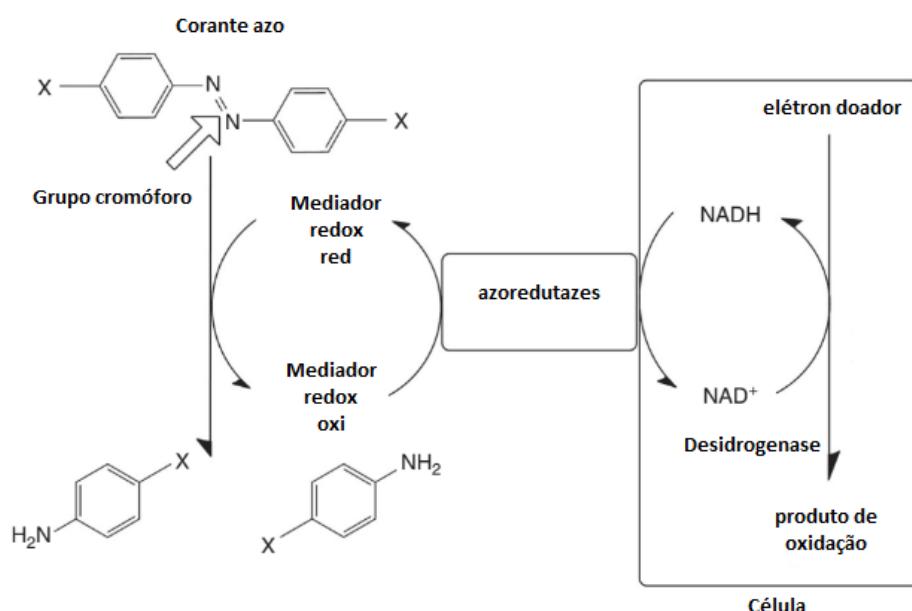
Pesquisas têm apontado a biorremediação como uma técnica promissora para remoção de corantes dos efluentes têxteis, sendo considerada mais específica, eficiente, ecológica e menos custoso energeticamente, além de resultar na bioconversão parcial ou completa dos contaminantes, portanto, sendo uma alternativa mais segura do ponto de vista ambiental frente aos impertinentes gerados nos processos físico-químicos abordados anteriormente (Ajaz et al., 2019; Khan et al., 2020). Segundo Khan et al. (2020), esse procedimento consiste no emprego de organismos como bactérias, fungos e algas, podendo transformar os contaminantes presentes no efluente em substâncias pouco tóxicas ou sem nenhuma toxicidade, de acordo com as condições do meio (pH, temperatura, disponibilidade nutritiva, umidade, salinidade e outros) (Sandhya, 2010). Também são descritos tratamentos para descoloração com aplicação de plantas, processo chamado de fitorremediação (Chandanshive et al., 2018). Nesse contexto, os principais mecanismos envolvidos na remoção de tais compostos pelos micro-organismos são: biodegradação, bioacumulação e bioassorção (Kumar et al., 2018).

2.4.2.1 Biodegradação

A biodegradação é um dos mecanismos utilizado por microorganismos para a descoloração de corantes têxteis (Senet al., 2016). É um processo mediado por enzimas (Kaushik & Malik, 2015) que compreendem principalmente azoredutases, peroxidases, e lacases (Saratale et al., 2011). O objetivo ideal da biodegradação é a degradação completa de um composto, também chamada de mineralização, que ocorre através da sua decomposição em água, dióxido de carbono e/ou um produto final inorgânico (Kaushik & Malik, 2015). Nessa busca, o potencial metabólico dos microrganismos pode ser utilizado para degradar ou transformar contaminantes orgânicos para produzir compostos menos agressivos ao meio ambiente (Qu, Hong, & Zhao, 2018).

As azoredutases são enzimas chave para a descoloração de corantes têxteis. Eles promovem a clivagem redutora das ligações azo e liberam as aminas aromáticas que serão degradadas em CO₂ e H₂O (Imran et al., 2015). Acredita-se que essa reação de clivagem redutiva possa ocorrer por meio de mecanismos diretos, onde as enzimas azoredutase interagem fisicamente com as moléculas do corante têxtil transferindo os elétrons (Imran et al., 2015), ou por meio de mecanismos indiretos, onde é necessária a cooperação de coenzimas, como nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD+), nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP+) e flavina e adenina dinucleotídeo (FAD) (Guo, Kang, Wang, & Yang, 2010; Sen et al., 2016). As enzimas azoredutase então transferem os elétrons para essas coenzimas que por sua vez os transportam para as moléculas de corantes têxteis promovendo a quebra de suas ligações azo. Portanto, as coenzimas não fazem parte da estrutura enzimática, mas são carreadores intermediários (Mcguire & Beerman, 2006; Vanmeter, Vanmeter, & Hubert, 2013), ou mediadores redox (Telke et al., 2015), que aceleram a taxa de o processo de transferência de elétrons responsável pela clivagem redutiva (Guo et al., 2010; Rather, Akhter, & Hassan, 2018). Em suas formas oxidadas NAD+, NADP+ e FAD, as coenzimas recebem os elétrons das enzimas azoredutase e são reduzidas a NADH, NADPH e FADH. Essas formas reduzidas são então oxidadas quando doam esses mesmos elétrons para as moléculas dos corantes têxteis e retornam às suas formas originais NAD+, NADP+ e FAD (Figura 7). Esse mecanismo indireto, no entanto, requer a ausência de oxigênio (O₂), pois pode competir com as moléculas dos corantes têxteis, oxidando preferencialmente os fatores NADH, NADPH e FADH, o que inibe o processo de transferência de elétrons para a clivagem redutiva (Sen et al., 2016).

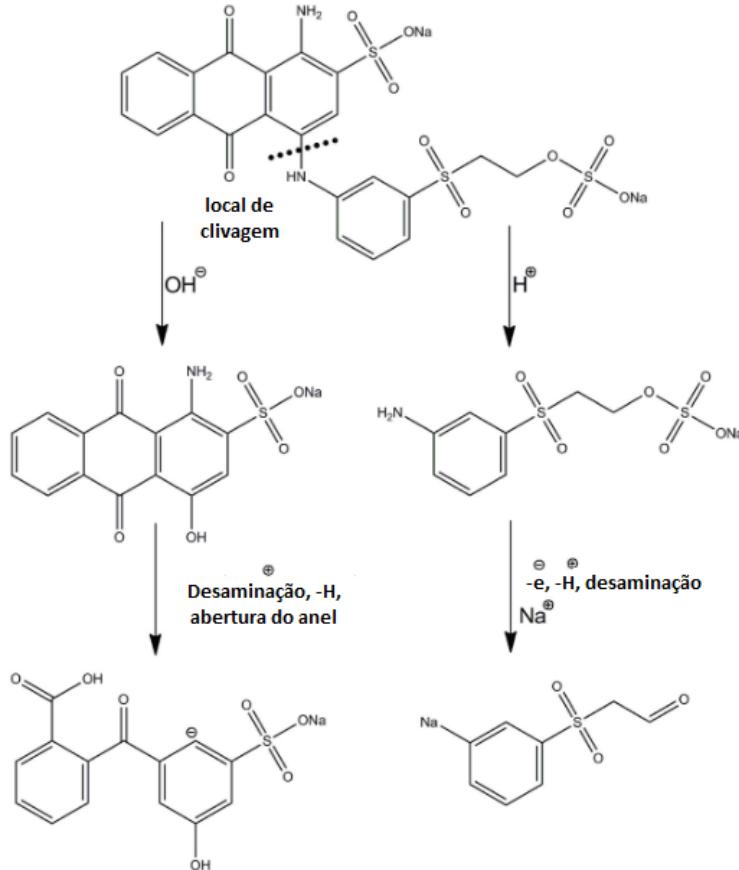
Figura 7 – Mecanismo proposto de azoredutases para degradação de corantes azo.



Fonte: Adaptado de Lellis et al (2019).

As enzimas lacase também são chamadas de fenoloxidases (Saratale et al., 2011). No centro catalítico (Baldrian, 2009) de cada um deles há quatro átomos de cobre (Singh, 2006) distribuídos em três sítios diferentes, sendo que o cobre tipo I confere sua intensa cor azul (Lellis et al., 2019). As lacases oxidam vários fenóis e seus derivados, como éteres, aminas aromáticas e outros compostos não fenólicos (Boulatov, 2006). Os substratos oxidados pelas lacases perdem elétrons que são transferidos para o O₂ (Kruus, Niku-Paavola, & Viikari, 2001) e o sistema de transporte enzimático de elétrons ocorre do cobre tipo I para os tipos II e III. O O₂ é então reduzido a H₂O (Hofrichter & Ullrich, 2011) nos sítios de cobre tipos II e III, enquanto os substratos geralmente dão radicais livres (Kruus et al., 2001) que podem participar de outras reações, como polimerização e hidratação (Sen et al., 2016). Por estas razões, as lacases podem ser utilizadas para a desintoxicação de diversos efluentes industriais, entre os quais o têxtil que produz altos teores de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Ning et al., 2015) e aminas aromáticas sulfonadas (Arslan-Alaton & Olmez-Hancı, 2010). A figura 8 mostra que o tratamento proporcionou subprodutos com o grupo cromóforo quebrado e moléculas com menor peso molecular, sendo esperado que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente que a molécula do corante original.

Figura 8 – Produtos de degradação do Remazol Brilliant Blue R usando uma lacase de *Trametes pubescens*.

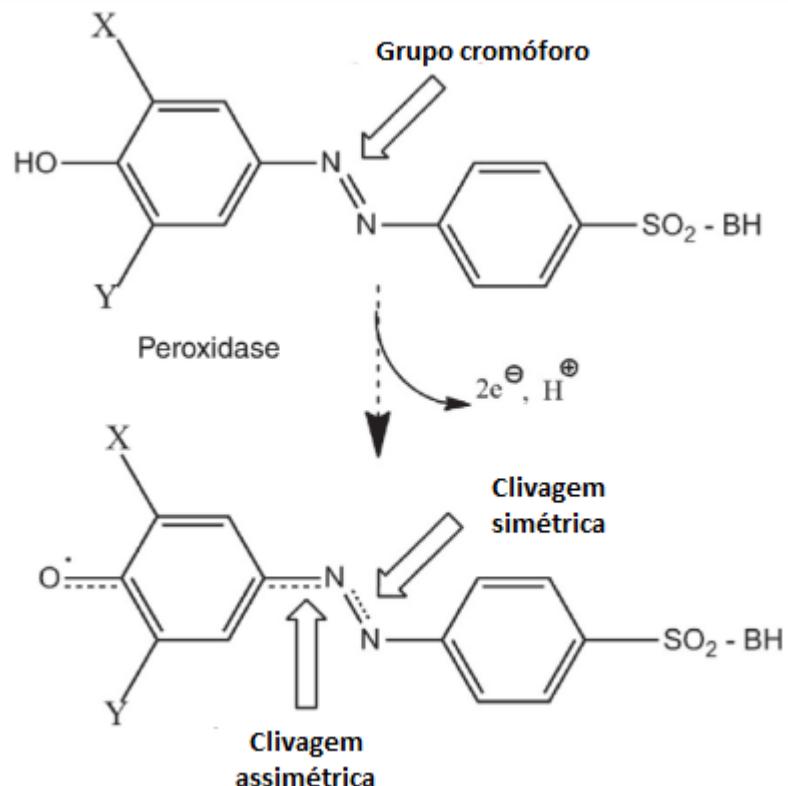


Fonte: Adaptado de Lellis et al (2019).

As peroxidases, por sua vez, apresentam hemiproteínas (El Enshasy et al., 2017), ou seja, possuem um grupo heme, que é um complexo entre um cátion de ferro (Fe^{3+}) e a protoporfirina IX (Husain, 2010), responsável por um inúmeras funções, como transferência de elétrons e catálise redox (Battistuzzi, Bellei, Bortolotti, & Sola, 2010). Essas enzimas, ao contrário das lacases, usam o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) como receptor de elétron-terminal (Husain, 2010), que é então reduzido para permitir a oxidação de uma ampla variedade de substratos orgânicos e inorgânicos (Battistuzzi et al., 2010). McMullan et ai. (2001) propõem uma via das peroxidases para a degradação de corantes azo sulfonados, e demonstram que a atividade da peroxidase promove uma clivagem inicial em sítios no grupo cromóforo (Fig. 9). Devido à sua baixa especificidade de substratos, as peroxidases encontram aplicação em múltiplas áreas, inclusive sendo indicadas para o tratamento de efluentes contendo corantes têxteis (Mendes, Robalo, & Martins, 2015).

As peroxidases mais comumente estudadas para a descoloração de corantes têxteis compreendem a lignina peroxidase e a Mn peroxidase (Husain, 2010). A lignina peroxidase tem um alto potencial redox (Lellis et al., 2019) catalisando, na presença de H₂O₂, a oxidação de anéis aromáticos não fenólicos na lignina (Bajpai, Anand, & Bajpai, 2006) e muitos compostos fenólicos para a geração de radicais cação (Wertz, Deleu, Coppée, & Richel, 2018). Estas, por sua vez, são moléculas instáveis que podem desencadear, por exemplo, a desmetilação, a abertura de anéis aromáticos e a dimerização de fenóis (Rahi, Rahi, Pandey, & Rajak, 2009). Isso permite que a lignina peroxidase mineralize compostos aromáticos recalcitrantes, incluindo corantes azo têxteis (Imran et al., 2015). Por outro lado, a Mn peroxidase é oxidada pelo H₂O₂ (Yadav, Singh, Yadava, & Yadav, 2015) para formar um composto intermediário que, por sua vez, oxida o cátion Mn²⁺ em Mn³⁺ (Husain, 2010). O cátion Mn³⁺ interage com ácidos orgânicos para formar um complexo capaz de oxidar diversos substratos, como a própria lignina (Rahi et al., 2009), fenóis (Yadav et al., 2015) e corantes têxteis (Husain, 2010).

Figura 9 – Atividade da peroxidase na degradação do corante azo sulfonado. A atividade da peroxidase fornece dois sítios de clivagem no grupo cromóforo $-N=N-$, que podem produzir um corte simétrico ou assimétrico na molécula do corante azo.



Fonte: Adaptado de Lellis et al (2019).

2.4.2.2 Bioacumulação

A bioacumulação é um processo baseado na capacidade de absorção da biomassa viva dependente de seu desempenho metabólico, que irá permitir a ligação de diversos tipos de moléculas a serem acumuladas na superfície da célula ou nos sítios ativos do biossorvente, e de sua tolerância (saturação), estando diretamente relacionada a concentração do poluente, de forma que o crescimento celular é inibido em concentrações muito altas de contaminantes (Kumar et al., 2018).

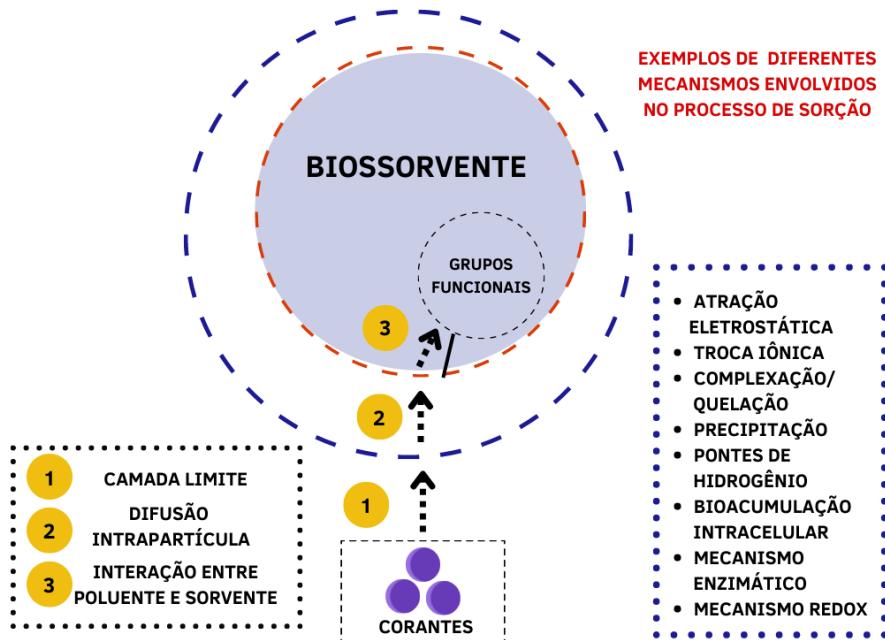
2.4.2.3 Biossorção

O mecanismo de biossorção ocorre por meio da interação entre os grupos funcionais do biossorvente e os contaminantes, formando complexos a partir de interações físicas e/ou químicas, sobretudo troca iônica, não havendo formação de metabólitos intermediários (Almeida e Corso, 2019). Esse processo pode ser realizado com a biomassa viva ou morta, dessa forma, não depende da utilização de energia metabólica (Beni e Esmaeili, 2019).

A Figura 10 mostra os diferentes mecanismos envolvidos no processo de biossorção. A interação entre poluentes da água e biossorventes ocorre principalmente em dois cenários diferentes; sorção de superfície e sorção intersticial. Durante a sorção superficial, as moléculas de sorbato migram da solução aquosa para a superfície biossorvente. Uma vez que os poluentes (moléculas e/ou íons) passam pela camada limite ao redor do biossorvente, eles se ligam aos sítios ativos encontrados em sua superfície e posteriormente são removidos das soluções aquosas. Normalmente, esse tipo de sorção é alcançado por interações dipolares, ligações de hidrogênio ou forças de Van Der Waals (Sulyman et al., 2017). Enquanto que, durante a sorção intersticial, os poluentes (moléculas e/ou íons) se difundem em direção aos poros biossorventes (macro, meso e/ou microporos). Finalmente, eles são biossorvidos na superfície interior do biossorvente (Joseph et al., 2019).

Além disso, as interações eletrostáticas podem explicar o combate a diferentes poluentes da água e das águas residuais. Eles foram identificados como um dos principais contribuintes para a biossorção de contaminantes da água. A existência de grupos funcionais abundantes na superfície biossorvente os torna candidatos típicos para capturar eficientemente poluentes de diferentes sistemas hídricos. A capacidade desses grupos funcionais é significativamente influenciada pelo pH do meio. Valores de pH mais baixos levam à protonação de vários grupos funcionais. Isso leva ao desenvolvimento de uma carga positiva na superfície biossorvente. Consequentemente, ocorre a repulsão eletrostática, reduzindo e/ou impedindo a sorção de poluentes carregados positivamente. Por outro lado, a repulsão eletrostática diminui com o aumento do pH do meio. Isso leva a um aumento em sua biossorção em termos de fenômenos de atração eletrostática.

Figura 10 – Mecanismos envolvidos no processo de biossorção.



Fonte: Adaptado de Elgarahy et al (2021).

2.4.2.4 Tratamento biológico de efluentes têxteis utilizando fungos filamentosos

Os fungos filamentosos são microrganismos versáteis que podem produzir enzimas intracelulares e extracelulares capazes de degradar uma variedade de xenobióticos. Eles podem ser isolados em todos os lugares, como no solo e até mesmo de resíduos orgânicos. Os mecanismos utilizados pelos fungos filamentosos para descolorir e degradar os corantes azo dependem das atividades combinadas do processo de biossorção e das enzimas extracelulares produzidas (Dhir, 2022; Fu; Viraraghavan, 2002; Clavas et al., 2002). Além disso, investigações sobre fungos filamentosos como biossorventes para efluentes contendo corantes foram realizadas em configurações de biomassa viva e morta.

A biomassa morta de fungos tem sido de grande interesse, pois demonstrou absorver maior concentração de corantes do que a biomassa viva. O uso de células mortas geralmente depende de interações físico-químicas como adsorção, deposição e troca iônica para servir como biossorvente para o tratamento de corantes. Neste processo, as moléculas de corante aderem aos micélios fúngicos por meio de troca

iônica (Dhir, 2022). Os heteropolissacarídeos presentes na parede celular de fungos, como quitina, quitosana, glucana, lipídios e fosfolipídios, servem como sítios de ligação com grupos funcionais, como grupos carboxi, hidroxi e fosforil que ajudam a facilitar o processo de bioassorção. Os grupos fosfato e carboxila, originários do ácido glicurônico, provavelmente são os responsáveis pelas cargas negativas, enquanto os grupos amino, originários da quitosana, criam cargas positivas na parede celular do fungo (Naja & Volesky, 2011). Esses grupos funcionais permitem a ligação ou bioassorção das moléculas de corante têxtil à superfície da parede celular do fungo em um processo que pode ser concluído em poucas horas (Kaushik & Malik, 2015), de tal forma que as interações envolvidas são essencialmente de ordem físico-química (Srinivasan & Viraraghavan, 2010). Foi demonstrado que as células fúngicas mortas de *Aspergillus niger* podem remover os corantes Basic Blue 9, Acid Blue 29 e Reactive Brilliant Red (Fu; Viraraghavan, 2002; Fu; Viraraghavan, 2000). A integridade da parede celular também desempenha um papel importante, pois as células rompidas mostraram menos eficiência na adsorção de soluções de corante após 24 h do que as intactas (Gallagher et al., 1997; Brahim et al., 1992). Fungos filamentosos também servem como uma fonte de energia para diferentes enzimas que podem converter vários corantes. Algumas das enzimas fúngicas conhecidas envolvidas na degradação de corantes são lacases, lignina peroxidases e manganês peroxidases.

Vários estudos compararam essas duas abordagens para aplicação de biomassa fúngica para tratamentos de corantes. Foi demonstrado que as células vivas e mortas eram igualmente eficazes para a remoção da cor do corante (Mou et al., 1991). Enquanto isso, uma ampla triagem em diferentes tipos de microrganismos mostrou que as formas mortas tinham melhores taxas de descoloração para Reactive Black 5 e Reactive Blue 19 [108]. Um estudo de Przytas et al., comparou a eficiência de fungos imobilizados, a saber, *Pleurotus ostreatus* BWPH, *Gleophyllum odoratum* DCa e *Polyporus picipes* - na forma viva e autoclavada, e corroborou achados anteriores onde foi demonstrado que as taxas de descoloração dos corantes foram maiores na biomassa fúngica morta (Przytas et al., 2019).

Ambas as abordagens para o uso de biomassa fúngica têm vantagens e desvantagens. Como mencionado anteriormente, as células vivas podem ter uma variedade de mecanismos diferentes para descoloração e degradação do corante. No entanto, isso implica otimizar as condições operacionais, como pH, umidade,

temperatura, fornecimento de nutrientes e manutenção da cultura, pois todos podem afetar a capacidade dos fungos de secretar enzimas. Por outro lado, a biomassa morta parece ser um bioassorvente eficaz, mas como qualquer adsorvente (físico), a questão do descarte de resíduos sempre permanecerá. Isto é especialmente verdadeiro para o adsorvente então enriquecido com corante. A biomassa fúngica provavelmente se degrada rapidamente, e o corante anteriormente adsorvido persiste no local de descarte e pode ser exposto ao intemperismo.

2.5 APLICAÇÃO DE FUNGOS DO GÊNERO *Aspergillus* NA DESCOLORAÇÃO DE CORANTES.

Os fungos do gênero *Aspergillus* são organismos pertencentes ao filo Ascomycota, classe dos Eurotiomycetes, ordem Eurotiales e família Trichocomaceae. Esse gênero microrganismos apresenta uma ampla distribuição na natureza, sendo representado por cerca de 260 espécies, todavia apenas cerca de 20 têm sido encontradas como geradores de doenças em organismos. Geralmente, as colônias desses micro-organismos têm rápido crescimento e são densamente distribuídos nos substratos, inicialmente apresentam-se com colorações esbranquiçadas, amareladas, passando para o marrom, o esverdeado ou para o negro. As colônias são compostas por micélios aéreos com conidióforos eretos sobre a superfície do meio (Da Silva et al., 2017; Soltani et al., 2016; Prado et al., 2017; Hubka et al., 2013; Silva, 2014).

Recentes estudos apontam que os fungos filamentosos apresentam um grande potencial biotecnológico, uma vez que suas características metabólicas, são capazes de degradar diversos compostos químicos recalcitrantes, como corantes (Bhateria e Dhaka et al., 2019; Barberis et al., 2019; Chen et al., 2019). Os fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus* têm sido amplamente utilizados como agentes biorremediadores, pela capacidade de degradar diferentes corantes, conforme a tabela 1, sendo aplicados principalmente para bioassorver corantes, o que permite utilizar a biomassa viva ou morta como bioassorvente, cujo processo varia conforme estrutura e complexidade do corante (Przystaś et al., 2018).

Dessa maneira, a aplicação do gênero fúngico *Aspergillus* é uma alternativa promissora para novas investigações e aprofundamento experimental na busca por micro-organismos que contribuam na formação e consolidação de processos de tratamento mais eficientes, menos onerosos e sustentáveis, tornando-os matéria-prima biotecnológica nos processos de biorremediação, como forma de minimizar o gargalo enfrentado na região Agreste de Pernambuco devido o lançamento de efluentes das atividades industriais têxteis nos corpos de água da região.

Tabela 2 - Seleção de fungos do gênero *Aspergillus* para remoção de corantes têxteis.

Fungo	Corante têxtil	Referência
<i>Aspergillus fumigatus</i> A23	Reactive Violet 5R Direct Yellow 12 Acid Black 52	Dharajiya et al. (2016)
<i>Aspergillus tamari</i>	Reactive Black 5 Reactive Violet 5 Reactive Orange 16	Dharajiya et al. (2016)
<i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus terreus</i>	Acid Blue 161 Procion Red MX-5B	Almeida & Corso (2019)
<i>Aspergillus terreus</i>	Direct Blue - 1	Singh e Dwivedi (2020)
<i>Aspergillus terreus</i> GS28 e <i>Aspergillus flavus</i> CR500	Direct Blue - 1	Singh & Dwivedi (2021)

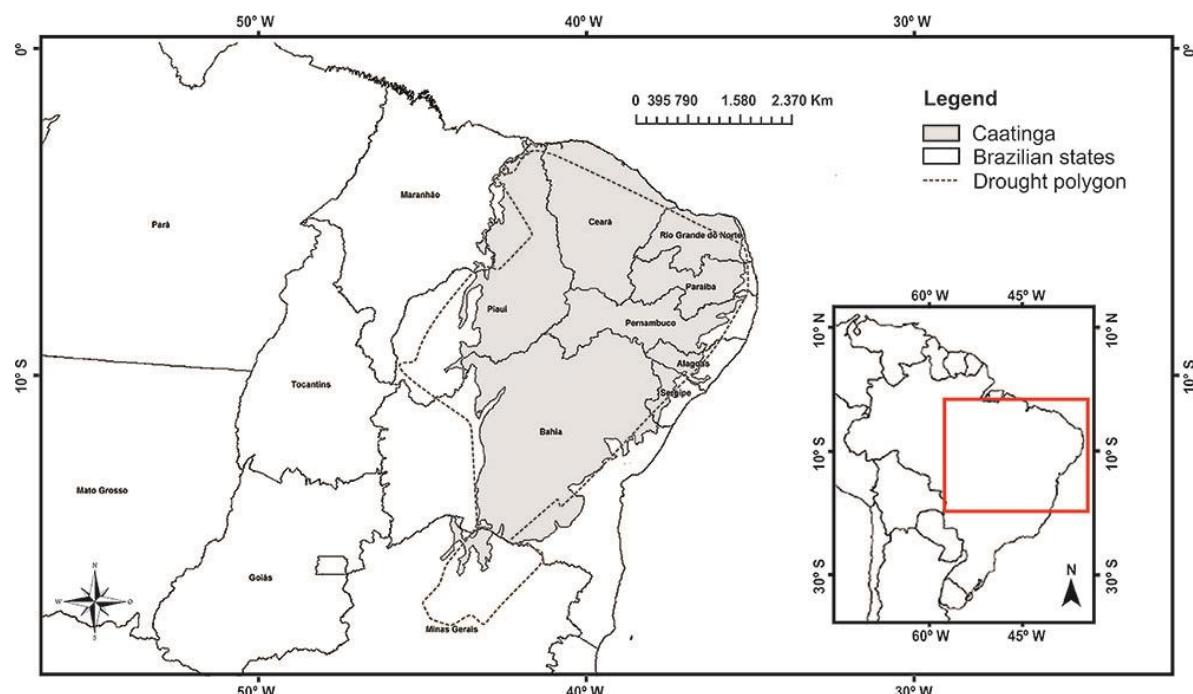
Fonte: O Autor

2.6 POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE FUNGOS ISOLADOS DO BIOMA CAATINGA.

O Brasil possui em seu território uma diversidade de ecossistemas cujas riquezas não são ainda totalmente conhecidas, como a Caatinga na região semiárida (figura 11). O bioma Caatinga abrange cerca de aproximadamente 834.478 km², contemplando oito estados nordestino (Alagoas, Bahia, Ceará, Piauí, Paraíba, Pernambuco, Rio grande do Norte, Sergipe e uma parte da região Sudeste com o

norte de Minas Gerais) (FILIZOLA e SAMPAIO, 2015). A região é caracterizada por possuir condições ambientais diferenciadas, com altas temperaturas, médias anuais entre 25°C e 30°C, diferentes disponibilidades de nutrientes de acordo com os tipos de solos encontrados e disponibilidade hídrica baixa. A caatinga é considerada como o único bioma exclusivamente brasileiro e apesar de sua biodiversidade ainda ser mal conhecida é a mais diversa do que qualquer outro bioma o qual esteja exposto às mesmas condições de clima e de solo (Moura et al., 2015; Silva et al., 2015).

Figura 11 - Localização geográfica do domínio do Bioma Caatinga.



Fonte: Barbosa et al (2020).

Devido as suas condições ambientais, espécies oriundas deste bioma desenvolveram adaptações fisiológicas e reprodutivas para viver nesta região. Deste modo, apresentam diferentes tipos de metabolismos e respostas adaptativas interessantes no âmbito científico e potencialmente exploráveis nos processos biotecnológicos. Nas últimas décadas microrganismos do Bioma Caatinga são alvos de pesquisas para busca de espécies ou isolados capazes de degradar e sintetizar

compostos utilizados em processos biotecnológicos de interesse agrícola, industrial e/ou ambiental (Oliveira et al., 2012; Silva, 2018).

Nas regiões do semiárido, presente em países tropicais, países esses onde grande parte da diversidade fúngica está presente, geralmente os fungos apresentam ampla capacidade de resistência osmótica e adaptabilidade a condições específicas de pH e salinidade, sendo assim fungos destas regiões tornam-se alvos promissores de bioprospecção (GIULIETTI & QUEIROZ, 2006) e além disso, podem desenvolver mecanismos de adaptação para possível aplicação em biorremediação de áreas contaminadas por efluentes têxteis e outras substâncias recalcitrantes.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial do *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279, isolado do Bioma Caatinga, em biorremediar corantes presentes nos efluentes têxteis das lavanderias do Pólo de confecções de Pernambuco.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a capacidade do *Aspergillus tamarii* Kita em descolorir diferentes corantes utilizados na indústria têxteis.
- Comparar a eficiência de descoloração utilizando a biomassa do *Aspergillus tamarii* Kita nas condições viva e morta.
- Realizar avaliação toxicológica da solução do corante bruta e pós tratamento
- Avaliar o potencial fúngico no processo de descoloração, utilizando diferentes gramaturas de biomassa.
- Analisar a capacidade de reutilização da biomassa em suas distintas gramaturas e condições (vivo ou morto).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIQUIM, Associação Brasileira da Indústria Química. **Corantes e pigmentos.** Disponível em: www.abiquim.org.br/corantes. Acesso em 08/06/2016.
- ABIT 2015. São Paulo: Associação Brasileira de Indústria Têxtil e de Confecção, 2015.
- ABIT. Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. **Indústria Têxtil e de Confecção Brasileira**, 2013. Disponível em: . Acessado em: 26 de setembro de 2022.
- ABIT. Relatório de Atividades
- ABIT. Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecções. **4º Modavil leva informações sobre negócios da moda de Caruaru**, 2012. Disponível em: <http://www.abit.org.br>. Acessado em: 26 de setembro de 2022.
- AJAZ, M.; SHAKEEL, S.; REHMAN, A. Microbial use for azo dye degradation—a strategy for dye bioremediation. **International Microbiology**, p. 1-11, 2019.
- ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, C. R. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi Aspergillus niger and Aspergillus terreus. **Chemosphere**, v. 112, p. 317- 322, 2014.
- ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, C. R. Decolorization and removal of toxicity of textile azo dyes using fungal biomass pelletized. **International journal of environmental science and technology**, v. 16, n. 3, p. 1319-1328, 2019.
- AL-SABTI, K. Chlorotriazine Reactive Azo Red 120 textile dyes induces micronuclei in fish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 147, p. 149-155, Maryland Heights, 2000.
- AMARAL, F. M. KATO, M. T.; FLORÊNCIO, L.; GAVAZZA, S. Micro-aerating an UASB reactor to promote the complete removal of the azo dye Direct Black 22. In: 14th WORLD CONGRESS ON ANAEROBIC DIGESTION, 2015, Viña del Mar. **Anais...** Viña del Mar: International Water Association, 2015.
- Anaerobic reactor type UASB conjunction with process Fenton to remove color and chemical oxygen demand textile industry of synthetic wastewater. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 2, p. 285-292, 2017.
- ARSLAN, Idil; BALCIOĞLU, İşil Akmeht; BAHNEMANN, Detlef W. Advanced chemical oxidation of reactive dyes in simulated dyehouse effluents by ferrioxalate-Fenton/UV-A and TiO₂/UV-A processes. **Dyes and pigments**, v. 47, n. 3, p. 207-218, 2000.
- ARSLAN-ALATON, Idil; OLMEZ-HANCI, Tugba. Biological, chemical and photochemical treatment of commercially important naphthalene sulphonates. In: **Xenobiotics in the urban water cycle**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 413-430.
- ASGHAR, Anam; RAMAN, Abdul Aziz Abdul; DAUD, Wan Mohd Ashri Wan. Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for

textile wastewater treatment: a review. **Journal of cleaner production**, v. 87, p. 826-838, 2015.

BAJPAI, Pratima; ANAND, Aradhna; BAJPAI, Pramod K. Bleaching with lignin-oxidizing enzymes. **Biotechnology annual review**, v. 12, p. 349-378, 2006.

BALAPURE, Kshama; BHATT, Nikhil; MADAMWAR, Datta. Mineralization of reactive azo dyes present in simulated textile waste water using down flow microaerophilic fixed film bioreactor. **Bioresource technology**, v. 175, p. 1-7, 2015.

BALDRIAN, Petr. Laccases of fungi in nature and biotechnology. **Advances in fungal biotechnology: IK International Pvt Ltd**, p. 109, 2009.

BATTISTUZZI, Gianantonio et al. Redox properties of heme peroxidases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 500, n. 1, p. 21-36, 2010.

BENI, A. A.; ESMAEILI, A. Biosorption, an efficient method for removing heavy metals from industrial effluents: A Review. **Environmental Technology & Innovation**, 2019.

BENKHAYA, Said; M'RABET, Souad; EL HARFI, Ahmed. A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 115, p. 107891, 2020.

BERRADI, Mohamed et al. Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs. **Helijon**, v. 5, n. 11, p. e02711, 2019.

BHATIA, Deepika et al. Biological methods for textile dye removal from wastewater: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 19, p. 1836-1876, 2017.

BHATIA, Deepika et al. Biological methods for textile dye removal from wastewater: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 19, p. 1836-1876, 2017.

BLAISI, Nawaf I. et al. Date palm ash-MgAl-layered double hydroxide composite: sustainable adsorbent for effective removal of methyl orange and eriochrome black-T from aqueous phase. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 34, p. 34319-34331, 2018.

BOULATOV, Roman. Billion-year-old oxygen cathode that actually works: Respiratory oxygen reduction and its biomimetic analogs. In: **N4-macrocyclic metal complexes**. Springer, New York, NY, 2006. p. 1-40.

BRAHIMI-HORN, M.C.; LIM, K.K.; LIANG, S.L.; MOU, D.G. Binding of textile azo dyes by Myrothecium verrucaria. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** 1992, 10, 31–36.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução do CONAMA n. 430**, de 13 de maio de 2011, 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução do CONAMA n. 357**, de 17 de março de 2005, 2012.

CARNEIRO, P. A.; OSUGI, M. E.; FUGIVARA, C. S.; BORALLE, N.; FURLAN, M.; ZANONI, M. V. B. Evaluation of different electrochemical methods on the oxidation and degradation of Reactive Blue 4 in aqueous solution. **Chemosphere**, v.59, p. 431-439, Kidlington, 2004.

CAVALCANTI, André Marques; DOS SANTOS, Gilson Ferreira. A indústria têxtil no Brasil: uma análise da importância da competitividade frente ao contexto mundial. **Exacta**, v. 20, n. 3, p. 706-726, 2022.

CHANDANSHIVE, V. V. et al. In situ phytoremediation of dyes from textile wastewater using garden ornamental plants, effect on soil quality and plant growth. **Chemosphere**. v. 210, p. 968-976, 2018.

CHATTERJEE, S. et al. Biodegradation of Congo Red by mangicolous filamentous fungus Aspergillus flavus JKSC-7 isolated from Indian Sundabaran mangrove ecosystem. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 56, n. 6, p. 708-717, 2020.

CHEN, Guotao et al. Genome and transcriptome analysis of a newly isolated azo dye degrading thermophilic strain Anoxybacillus sp. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 203, p. 111047, 2020.

CLAUS, H.; FABER, G.; KÖNIG, H.J.A.M. Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 2002, 59, 672–678.

CPRH – Companhia Pernambucana do Meio Ambiente. **Roteiro Complementar de Licenciamento e Fiscalização para Tipologia Têxtil**. Recife, 2005. Disponível em: <http://www.cprh.pe.gov.br/downloads/roteiro-textil.pdf>. Acessado em: 26 de setembro de 2022.

DA SILVA FILHO, Antonio Romão Alves et al. Análise da importância do reuso da água em lavanderias de beneficiamento de jeans. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e40710614402-e40710614402, 2021.

DHIR, B. Degradation of dyes using filamentous fungi. In **Dye Biodegradation, Mechanisms and Techniques**; Springer: Singapore, 2022; pp. 51–66.

DIL, E. Alipanahpour et al. Modeling of quaternary dyes adsorption onto ZnO–NR–AC artificial neural network: analysis by derivative spectrophotometry. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 34, p. 186-197, 2016.

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

ENSHASY, Hesham A. El et al. Mycoremediation: decolourization potential of fungal ligninolytic enzymes. **Mycoremediation and environmental sustainability**, p. 69-104, 2017.

FERRAZ, A.D.N.; KATO, M.T.; FLORENCIO, L.; GAVAZZA, S. Textile effluent treatment in a UASB reactor followed by submerged aerated biofiltration. **Water Science and Technology** 64, 1581–1589, 2011.

FERREIRA, W. M. et al. Corantes: Uma abordagem com enfoque ciência, tecnologia e sociedade (CTS) usando processos oxidativos avançados. **Revista Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 249-257, 2018.

FIEMG. Guia técnico Ambiental Da indústria Têxtil, 2014. Disponível em: http://www7.fiemg.com.br/Cms_Data/Contents/central/Media/Documentos/Biblioteca/PDFs/FIEMG/MeioAmbiente/2014/CartilhasPublica%C3%A7%C3%B5es/FI-0054-14-CARTILHA-PRODUCAO-MAIS-LIMPA-INTRANET.pdf. Acessado em: 26 de setembro de 2022.

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Removal of a dye from an aqueous solution by the fungus Aspergillus niger. **Water Qual. Res.** J. 2000, 35, 95–112

FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus Aspergillus niger. **Adv. Environ. Res.** 2002, 7, 239–247.

GALLAGHER, K.A.; HEALY, M.G.; ALLEN, S.J. Biosorption of synthetic dye and metal ions from aqueous effluents using fungal biomass. In Studies in Environmental Science; Elsevier: Amsterdam, **The Netherlands**, 1997; Volume 66, pp. 27–50.

GHAEDI, M. et al. Modeling of competitive ultrasonic assisted removal of the dyes—Methylene blue and Safranin-O using Fe₃O₄ nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, v. 268, p. 28-37, 2015.

GIULIETTI, A.M.; QUEIROZ, L.P., eds. Diversidade e caracterização dos fungos do semiárido brasileiro. Recife: **Associação de Plantas do Nordeste**, 2006. 219 p. il. v. 2.

GOTTILIEB, A.; SHAW, C.; SMITH, A., WHEATLEY, A.; FORSYTHE, S.; The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 101, p. 49-56, 2003.

GOVINDWAR, Sanjay P. et al. Decolorization and degradation of xenobiotic azo dye Reactive Yellow-84A and textile effluent by *Galactomyces geotrichum*. **Chemosphere**, v. 109, p. 234- 238, 2014.

GUO, Jianbo et al. Decolorization and degradation of azo dyes by redox mediator system with bacteria. **Biodegradation of azo dyes**, p. 85-100, 2010.

GUPTA, Vinod K. et al. Removal of the hazardous dye—tartrazine by photodegradation on titanium dioxide surface. **Materials science and engineering: C**, v. 31, n. 5, p. 1062-1067, 2011.

HOFRICHTER, Martin; ULLRICH, René. New trends in fungal biooxidation. In: **Industrial applications**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011. p. 425-449.

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

HUANG, Xin et al. Effects of compound bioflocculant on coagulation performance and floc properties for dye removal. **Bioresource technology**, v. 165, p. 116-121, 2014.

HUSAIN, Qayyum. Peroxidase mediated decolorization and remediation of wastewater containing industrial dyes: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 9, n. 2, p. 117-140, 2010.

IHSANULLAH, Ihsanullah et al. Bioremediation of dyes: Current status and prospects. **Journal of Water Process Engineering**, v. 38, p. 101680, 2020.

IHSANULLAH, Ihsanullah et al. Bioremediation of dyes: Current status and prospects. **Journal of Water Process Engineering**, v. 38, p. 101680, 2020.

IMRAN, Muhammad et al. Microbial biotechnology for decolorization of textile wastewaters. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, n. 1, p. 73-92, 2015.

ISCEN, C. F. et al. Decolorization of dye solution containing Remazol Black B by Aspergillus niger isolated from hypersaline environment. **International Journal of Environmental Science and Technology**, p. 1-8, 2022.

JADHAV, Ananda Jaysing; SRIVASTAVA, Vimal Chandra. Adsorbed solution theory based modeling of binary adsorption of nitrobenzene, aniline and phenol onto granulated activated carbon. **Chemical engineering journal**, v. 229, p. 450-459, 2013.

JONSTRUP, Maria et al. Sequential anaerobic-aerobic treatment of azo dyes: decolourisation and amine degradability. **Desalination**, v. 280, n. 1, p. 339-346, 2011.

KADAM, A. A. et al. Decolorization of adsorbed textile dyes by developed consortium of Pseudomonas sp. SUK1 and Aspergillus ochraceus NCIM-1146 under solid state fermentation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n. 1-2, p. 486-494, 2011.

KARCHER, Silke; KORNMÜLLER, Anja; JEKEL, Martin. Anion exchange resins for removal of reactive dyes from textile wastewaters. **Water research**, v. 36, n. 19, p. 4717-4724, 2002.

KHAN, R.; PATEL, V.; KHAN, Z. Bioremediation of dyes from textile and dye manufacturing industry effluent. In: **Abatement of Environmental Pollutants**. Elsevie. p. 107-125, 2020.

KHAN, Razia; BHAWANA, P.; FULEKAR, M. H. Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 12, n. 1, p. 75-97, 2013.

KRUUS, Kristiina; NIKU-PAAVOLA, Marja-Leena; VIIKARI, Liisa. Laccase—a useful enzyme for modification of biopolymers. In: **Biorelated polymers**. Springer, Boston, MA, 2001. p. 255-261.

KUMAR, M. A. et al. Role of Bacterial Consortia in Bioremediation of Textile Recalcitrant Compounds. In: **Waste Bioremediation**. Springer, Singapore. p. 165-183, 2018.

LEE, Jae-Wook et al. Evaluation of the performance of adsorption and coagulation processes for the maximum removal of reactive dyes. **Dyes and pigments**, v. 69, n. 3, p. 196-203, 2006.

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

LIANG, Can-Zeng et al. Treatment of highly concentrated wastewater containing multiple synthetic dyes by a combined process of coagulation/flocculation and nanofiltration. **Journal of Membrane Science**, v. 469, p. 306-315, 2014.

LIU, Jiashu et al. Chemically induced oxidative stress improved bacterial laccase-mediated degradation and detoxification of the synthetic dyes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 226, p. 112823, 2021.

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

MCGUIRE, Michelle; BEERMAN, Kathy A. **Nutritional sciences: from fundamentals to food**. Cengage Learning, 2022.

MENDES, Sónia; ROBALO, Maria Paula; MARTINS, Lígia O. Bacterial enzymes and multi-enzymatic systems for cleaning-up dyes from the environment. In: **Microbial degradation of synthetic dyes in wastewaters**. Springer, Cham, 2015. p. 27-55.

MOGHADDAM, S. Sadri; MOGHADDAM, MR Alavi; ARAMI, M. Coagulation/flocculation process for dye removal using sludge from water treatment plant: optimization through response surface methodology. **Journal of hazardous materials**, v. 175, n. 1-3, p. 651-657, 2010.

MOHAMMADI, Nourali et al. Adsorption process of methyl orange dye onto mesoporous carbon material—kinetic and thermodynamic studies. **Journal of colloid and interface science**, v. 362, n. 2, p. 457-462, 2011.

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

MOU, D.G.; LIM, K.K.; SHEN, H.P. Microbial agents for decolorization of dye wastewater. **Biotechnol. Adv.** 1991, 9, 613–622.

MOURA PA, Bezerra Filho CM, Silva LCN, Silva MV, Correia MTS. Caatinga plants as weapons against microorganisms : advances and challenges. In: Méndez-Vilas A, editor. **The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs**. Formatec Research Center, 2015. p. 117-124.3.

NEKOUEI, Farzin et al. Kinetic, thermodynamic and isotherm studies for acid blue 129 removal from liquids using copper oxide nanoparticle-modified activated carbon as a novel adsorbent. **Journal of Molecular Liquids**, v. 201, p. 124-133, 2015.

NING, Xun-An et al. Aromatic amine contents, component distributions and risk assessment in sludge from 10 textile-dyeing plants. ***Chemosphere***, v. 134, p. 367-373, 2015.

NOURI, Hoda et al. Biosorption performance and cell surface properties of a fungal-based sorbent in azo dye removal coupled with textile wastewater. ***International Journal of Environmental Science and Technology***, v. 18, n. 9, p. 2545-2558, 2021.

OLIVEIRA G, Araujo MB, Rangel TF, Algador D, Diniz-Filho JAF. Conserving the Brazilian semiarid (Caatinga) biome under climate change. **Biodivers. Conserv.** 2012; 21(11): 2913-26.

OLIVEIRA, L. G. et al. Uma Revisão do Uso de Processos Oxidativos Avançados para Descoloração de Águas Residuais de Efluentes. ***Revista Processos Químicos***, v. 13, n. 26, p. 105-112, 2019.

OSMA, Johann F.; TOCA-HERRERA, José L.; RODRÍGUEZ-COUTO, Susana. Transformation pathway of Remazol Brilliant Blue R by immobilised laccase. ***Bioresource technology***, v. 101, n. 22, p. 8509-8514, 2010.

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

PRADO, M. V. (2018). **Relatório Setorial da Indústria Têxtil Brasileira**. IEMI, 18(18), 192

PRATO-GARCIA, Dorian; CERVANTES, Francisco J.; BUITRÓN, Germán. Azo dye decolorization assisted by chemical and biogenic sulfide. ***Journal of hazardous materials***, v. 250, p. 462-468, 2013.

PRZYSTAś, W.; ZABŁOCKA-Godlewska, E.; GRABIńska-Sota, E. Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. ***Braz. J. Microbiol.*** 2018, 49, 285–295

RAHI, Deepak K. et al. Enzymes from mushrooms and their industrial application. ***Advances in fungal biotechnology***, p. 136-184, 2009.

RAMOS, M. D. N. et al. Critical analysis of the characteristics of industrial effluents from the textile sector in Brazil. ***Rev Virtual Quim***, v. 12, n. 4, p. 913-929, 2020.

RAMOS, Márcio Daniel Nicodemos et al. A critical analysis of the alternative treatments applied to effluents from Brazilian textile industries. ***Journal of Water Process Engineering***, v. 43, p. 102273, 2021.

RATHER, Luqman Jameel; AKHTER, Sabiyah; HASSAN, Qazi Parvaiz. Bioremediation: green and sustainable technology for textile effluent treatment. In: ***Sustainable innovations in textile chemistry and dyes***. Springer, Singapore, 2018. p. 75-91.

REGTI, Abdelmajid et al. Potential use of activated carbon derived from *Persea* species under alkaline conditions for removing cationic dye from wastewaters. ***Journal***

of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences, v. 24, p. 10-18, 2017.

ROBINSON, Tim 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. 247-255, 2001.

RONDON, Hector et al. Application of enhanced membrane bioreactor (eMBR) to treat dye wastewater. **Bioresource technology**, v. 183, p. 78-85, 2015.

SAHOO, Priya Ranjan et al. Efficient Reversible Optical Sensing of Water Achieved through the Conversion of H-Aggregates of a Merocyanine Salt to J-Aggregates. **ChemistrySelect**, v. 2, n. 21, p. 5924-5932, 2017.

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

SANTOS, E. M. A. et al.

SARATALE, Rijuta Ganesh et al. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 42, n. 1, p. 138-157, 2011.

SARAVANAN, R. et al. Conducting PANI stimulated ZnO system for visible light photocatalytic degradation of coloured dyes. **Journal of molecular liquids**, v. 221, p. 1029-1033, 2016.

SELVARAJ, V. et al. An over review on recently developed techniques, mechanisms and intermediate involved in the advanced azo dye degradation for industrial applications. **Journal of molecular structure**, v. 1224, p. 129195, 2021.

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

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

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

SHI, Baoyou et al. Removal of direct dyes by coagulation: the performance of preformed polymeric aluminum species. **Journal of hazardous materials**, v. 143, n. 1-2, p. 567-574, 2007.

SHI, Baoyou et al. Removal of direct dyes by coagulation: the performance of preformed polymeric aluminum species. **Journal of hazardous materials**, v. 143, n. 1-2, p. 567-574, 2007.

SIDDQUA, Umme Habibah et al. Relationship between structure and dyeing properties of reactive dyes for cotton dyeing. **Journal of Molecular Liquids**, v. 241, p. 839-844, 2017.

SILVA I, Coelho L, Silva L. Biotechnological Potential of the Brazilian Caatinga Biome. **Adv. Res.** 2015; 5(1): 1-17. 4.

SINGH, Harbhajan. **Mycoremediation: fungal bioremediation**. John Wiley & Sons, 2006.

SINGH, Ram Lakhan; SINGH, Pradeep Kumar; SINGH, Rajat Pratap. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes—A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 104, p. 21-31, 2015.

SLAMA, Houda Ben et al. Diversity of synthetic dyes from textile industries, discharge impacts and treatment methods. **Applied Sciences**, v. 11, n. 14, p. 6255, 2021.

SZYGUŁA, Agata et al. The removal of sulphonated azo-dyes by coagulation with chitosan. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 330, n. 2-3, p. 219-226, 2008.

TAN, Boon Hai; TENG, Tjoon Tow; OMAR, AK Mohd. Removal of dyes and industrial dye wastes by magnesium chloride. **Water research**, v. 34, n. 2, p. 597-601, 2000.

TAN, Liang et al. Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast *Magnusiomyces ingens* LHF1. **Bioresource technology**, v. 158, p. 321-328, 2014.

TELKE, Amar A.; KADAM, Avinash A.; GOVINDWAR, Sanjay P. Bacterial enzymes and their role in decolorization of azo dyes. In: **Microbial degradation of synthetic dyes in wastewaters**. Springer, Cham, 2015. p. 149-168.

TIAN, Gui-Peng et al. Enhanced decomposition of 1, 4-dioxane in water by ozonation under alkaline condition. **Water science and technology**, v. 70, n. 12, p. 1934-1940, 2014.

VANMETER, Karin C.; HUBERT, Robert J. **Microbiology for the healthcare professional-e-book**. Elsevier Health Sciences, 2021.

VIKRANT, Kumar et al. Recent advancements in bioremediation of dye: current status and challenges. **Bioresource technology**, v. 253, p. 355-367, 2018.

VITOR, Vivian; CORSO, Carlos Renato. Decolorization of textile dye by *Candida albicans* isolated from industrial effluents. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 35, n. 11, p. 1353-1357, 2008.

WANG, Jianlong; CHEN, Hai. Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: recent advances and perspective. **Science of the Total Environment**, v. 704, p. 135249, 2020.

WANG, L.; YAN, J.; HARDY, W.; MOSLEY, C.; WANG, S.; YU, H. Light-induced mutagenicity in *Salmonella* TA102 and genotoxicity/cytotoxicity in human T-cells by 3,3'-dichlorobenzidine: a chemical used in the manufacture of dyes and pigments and in tattoo inks. **Toxicology**, v. 207, p. 411-418, Amsterdam, 2005.

WERTZ, Jean-Luc et al. **Hemicelluloses and lignin in biorefineries**. CRC Press, 2018.

XAVIER, Twane Maria Cordeiro. Polo de confecções do agreste de pernambuco: formação de aglomerado produtivo e suas dinâmicas espaciais. **Caminhos de Geografia**, v. 21, n. 73, p. 429-444, 2020.

XIE, Xuehui et al. Comparison of microbial community in hydrolysis acidification reactor depending on different structure dyes by Illumina MiSeq sequencing. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 111, p. 14-21, 2016.

YADAV, Meera et al. Ligninolytic Enzymes for Water Depollution, Coal Breakdown, and Paper Industry. In: **CO₂ Sequestration, Biofuels and Depollution**. Springer, Cham, 2015. p. 359-386.

YANG, Chengyu et al. Fabrication and characterization of a high performance polyimide ultrafiltration membrane for dye removal. **Journal of colloid and interface science**, v. 562, p. 589-597, 2020.

YEAP, Kiew Lee et al. Preparation and characterization of coagulation/flocculation behavior of a novel inorganic–organic hybrid polymer for reactive and disperse dyes removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 243, p. 305-314, 2014.

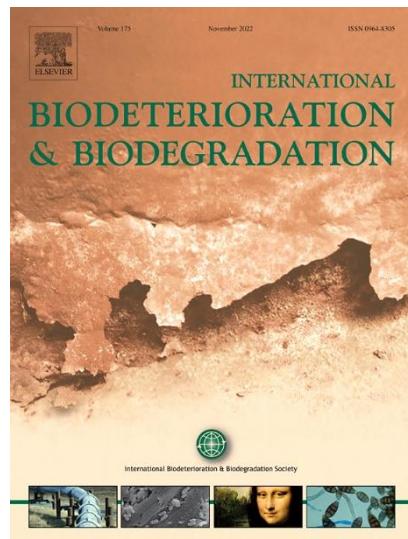
ZANONI, Maria V. B.; CARNEIRO, Patricia A.; O descarte dos corantes têxteis. **Ciência Hoje**. v. 9, n. 174, p. 61-64, agosto 2001.

ZHANG, Meng-Meng et al. Comparative study on characteristics of azo dye decolorization by indigenous decolorizers. **Bioresource technology**, v. 101, n. 8, p. 2651-2656, 2010.

ZUBAIR, Mukarram et al. Starch-NiFe-layered double hydroxide composites: efficient removal of methyl orange from aqueous phase. **Journal of Molecular Liquids**, v. 249, p. 254-264, 2018.

CAPÍTULO I

HIGH DECOLORIZATION EFFICIENCY BY *Aspergillus tamarii* Kita ISOLATED FROM CAATINGA SOIL FOR THE REMEDIATION OF WASTEWATER



HIGH DECOLORIZATION EFFICIENCY BY *Aspergillus tamarii* Kita ISOLATED FROM CAATINGA SOIL FOR THE REMEDIATION OF WASTEWATER

Raphael Luiz Andrade Silva¹; Romero Marcos Pedrosa Brandão-Costa², Anna Gabrielly Duarte Neves¹, Karlla Mayara Nunes de Sousa^{2,5}, Sávia Gavazza⁴, Patyanne Carvalho Correia¹, Ana Lucia Figueiredo Porto¹, Marcia Vanusa da Silva³

¹Department of Morphology and Animal Physiology, Laboratory of Bioactive products and technology, Federal Rural University of Pernambuco - UFRPE, Dom Manoel de Medeiros Street, s/n, Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE

²Laboratory of Advances in Peptides and Protein Biotechnology (LABIOPPROT), Institute of Biological Sciences, University of Pernambuco, Santo Amaro, Recife – PE, Brazil.

³Department of Biochemistry, Center of Biological Sciences, Federal University of Pernambuco - UFPE, Prof. Moraes Rego Avenue, s/n, CEP 50.670-420 Recife, PE, Brazil.

⁴Department of Civil Engineering, Laboratory of Environmental Sanitation, Federal University of Pernambuco – UFPE, Prof. Moraes Rego Avenue, s/n, CEP 50.670-420 Recife, PE, Brazil.

⁵Laboratory of Biotechnology Applied to Infectious and Parasitic Diseases, Biological Science Institute, University of Pernambuco (UPE), Arnóbio Marques, 50100-130 Recife, PE, Brazil

*Corresponding author: Prof. Romero Brandão-Costa, Ph.D.

Laboratory of Advances in Peptides and Protein Biotechnology, Institute of Biological Sciences, University of Pernambuco, Santo Amaro, Recife – PE.

E-mail address: romero.brandao@upe.br

Abstract

This study aimed to evaluate the potential of fungi isolated from the caatinga biome in the bioremediation of environments contaminated with dyes in the textile industry. *Aspergillus tamarii* Kita, *Mucor subtilissimus* and *Cunninghamella phaeospora* were evaluated in a time interval of 180 min. *Aspergillus tamarii* Kita was the fungus selected for presenting a better discoloration performance, observed in 60 min. The maximum discoloration of Direct Black 22 (DB22) was 100%, 97% and 63% in the time interval of 75 min, 180 min and 180 min, respectively when the concentration was 50mg/L, 125mg/L and 250mg/ L, respectively, under agitation (120RPM). 100%, 79% and 43% of DB22 could be decolorized by *Aspergillus tamarii* Kita in 180 min when the respective dye concentrations were 50mg/L, 125mg/L and 250mg/L, under static conditions. The analysis of dead biomass of *Aspergillus tamarii* Kita was also performed to evaluate the discoloration of DB22 at a concentration of 125mg/L, under agitation conditions (120 RPM) and for 180 min. 41% and 97% of DB22 can be discolored after treatment with dead and live *Aspergillus tamarii* Kita biomass, respectively. In summary, our study demonstrated that *Aspergillus tamarii* Kita may be well suited for potential applications in textile effluent bioremediation.

Keywords: Direct Black 22; Decolorization; Bioremediation; Caatinga.

1. Introduction

Industrial activities have been a major threat to most water sources in the world due to contamination of water bodies. In particular, the textile industry has aroused the interest of the scientific community, because of the serious pollution caused by the discharge of untreated wastewater. Such effluents contain dyes and complex chemicals, thus causing the deterioration of ecosystems and, consequently, increasing environmental concerns [1-3].

As a result of its adverse ecotoxicological effects and consequent bioaccumulation in wildlife, the disposal of wastewater from the textile industry is considered a serious threat to the environment and human health. During industrial textile procedures, large amounts of dye are lost due to inefficiency in the dyeing process, generating colored effluents and providing an aesthetically unpleasant environment, in addition to a serious environmental problem due to their inhibitory effect on aquatic photosynthesis, the ability to exclude dissolved oxygen, toxicity to flora and fauna and their potential human toxicity [4-6].

Azo dyes represent the main class of commercial synthetic dyes, showing a wide variety of structures and colors, representing up to 70% of the total textile dyes used [7]. The simple application, the high photolytic stability, the availability of a wide range of brilliant tones, the strong covalent adhesion to the textile fibers and the minimal use of energy attract the preference of the textile industries for azo dyes, as they are attractive and have profitable characteristics [8]. These dyes belong to the class of aromatic and / or heterocyclic compounds that are characterized by the presence of one or more azo groups (-N = N-), and their degradation products are generally toxic and even carcinogenic to aquatic organisms. In addition to animals, human beings are exposed to a high risk of infections and other serious diseases, such as cancer and skin allergies, when there is an increase in the dosage of these mutagenic dyes. Therefore, the effective removal of these dyes in the effluents before discharge into the environment is extremely important [9,10].

However, the removal of synthetic dyes present in effluents is a major problem in many developing countries, as they are resistant to biodegradation. Therefore, it is necessary to develop an effective, economical and sustainable method to completely eliminate toxic dyes from textile wastewater. Several conventional methods, such as

the most common physical-chemical methods (adsorption, chemical oxidation, photodegradation, precipitation and membrane filtration, among others) and some engineering techniques, including photoionization, are available for the treatment of textile effluents. Such methods help to discolour the dyes, however, the high operational and capital costs, the formation of harmful by-products and the issues of sludge disposal generally limit their application [11,12].

From an economic and ecological point of view, biological treatment methods have received great attention due to their advantages, such as less sludge production, less energy consumption, being a sustainable and simple treatment. There are many publications confirming the high potential of bacterial, fungal and algae species in removing dyes. Among microorganisms, fungi deserve to be highlighted because they have exclusive mechanisms to remove azo dyes. Previous studies have reported that both live and dead fungal biomass have been used to remove dyes due to their adsorbent nature and their ecologically correct and economical application [13-15].

Several studies have been carried out to assess the adsorption capacity of fungi [16]. The ability of the amino, carboxyl, thiol and phosphate groups, present in the fungal cell wall, to bind dye molecules, means that fungal biomass can be used as a cheap source of biosorbent. Therefore, different types of fungal materials can be used as biosorbents for the removal of dyes from polluted water, including macro and micro-fungi [17]. However, there are few reports on the potential for discoloration of filamentous fungi isolated from regions of extreme conditions. In this study, a fungus isolated from the soil of Serra Talhada, Pernambuco, Brazil, a region of high temperatures, was chosen because it is a potent biosorbent for the removal of dye from wastewater. Direct Black dye (DB22) has been widely used in the main industries of the clothing industry in Pernambuco. Consequently, this work aimed to optimize the discoloration of this azo dye through the *Aspergillus Tamarii* Kita biomass.

2. Material and methods

2.1 Dye

The dye used in this research was the tetra-azo Direct black 22 (C. I. 35435; CAS 6473-13-8), purchased from Exatacor Araquímica, Industry and Commerce, Brazil. All the reagents were in analytical grade.

The dye was subjected to prior hydrolysis, ratifying similar procedures. This step showed the pH adjustment of the dye solution, prepared in deionized water to 11.0 +/- 0.05 using 20% NaOH, followed by 1h of heating at 80°C; after cooling the solution, it was neutralized to pH 7.0 +/- 0.05 with HCl [18-19].

2.2 Strains and media

The filamentous fungi strains were isolated from the soil of the Caatinga biome (Northeastern Region of Brazil) and preserved in The Collection of Microorganisms of the Catholic University of Pernambuco (UCP), Recife, Pernambuco, Brazil. Strains were maintained on Czapek agar medium. The liquid medium contained (g/L deionized water): 10g meat extract, 3g peptone and 20g glucose.

2.3 Screening of filamentous fungi with potential for decolorization of Direct Black 22

Three species of filamentous fungi were tested in the decolorization of *Direct Black* 22 dye. A randomized test was performed with the objective of selecting the fungus with the greatest potentiality in the decolorization of the dye under study in a shorter time for later tests. A loopful of each microbial culture was inoculated into tubes containing Czapek agar medium and incubated at a temperature of 30°C for 5 days. After this period, from a completely sporulated tube, spores were removed to produce a solution of resuspended spores (0.05% Tween 80 medium), properly autoclaved.

The spore count was carried out by filling with 20ul of the solution resuspending the Neubauer chamber with concentration factor 10⁴.

Erlenmeyer flasks containing 60 ml of liquid medium (glycoside broth) were inoculated with different fungal cells each, from the spore suspension. After the inoculum, the weights were incubated at 30°C on a shaker table (120 rpm) for 2 days. At the end of the established time limit, 15 ml of the solution of *Direct Black 22* at a concentration of 50 mg/L was added to each flask. After the dye was added, the flasks were incubated again at 30°C on a shaker table (120 rpm) and monitored at different time intervals.

2.4 Decolorization of Direct Black 22 dye in submerged cultures of *Aspergillus* sp.

The Direct Black 22 decolorization test was accomplished under static conditions, as well as in conditions of agitation (120 rpm), both at 30°C in Erlenmeyer flasks containing 80 ml of glycoside broth with the selected fungus 48h grown and 20 ml of the Direct Black 22 dye. Different concentrations of the dye were tested (50 mg/L, 125 mg/L and 250mg/L) in order to study the decolorization performance.

Aliquots of each flask were taken at 15 min time intervals for 3 hours, centrifuged at 10.000 rpm for 10 minutes and the supernatant used to determine the efficiency of the decolorization spectrophotometrically. The decolorization was monitored by measuring the absorbance of the supernatant at 475 nm for Direct Black 22. The percentage of decolorization was calculated as follows [17]:

$$\text{Decolorization (\%)} = \frac{\text{Initial absorbance} - \text{Observed absorbance}}{\text{Initial absorbance}} \times 100$$

2.5 Efficiency of decolorization of Direct Black 22 dye using living and dead fungal biomass.

Similar to the decolorization method with live biomass mentioned in the previous topic, the rate of decolorization by dead fungal biomass was determined. After 2 days of cultivation in glucose broth, the flasks containing *Aspergillus tamarii* Kita were

autoclaved at 121°C for 30 minutes to test the decolorization potential of dead biomass. Subsequently, 20 ml of Direct Black 22 dye at a concentration of 125 mg/L were added under agitation (120 rpm) at 30° C. Dissolved oxygen and redox potential were monitored by the potentiometric analytical method according to Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. The entire process was carried out in triplicate.

2.6 Toxicity assay

The toxicity tests of the raw dye solution treated with *Artemia salina* were performed with adaptations, using previously autoclaved sea water, to hatch *Artemia* eggs and to prepare the other dilutions. The eggs were placed to hatch in a beaker containing sea water and kept under illumination at 25°C for a period of 48 hours.

After the hatching of the eggs, the test was performed in 24-well plates, where each analysis was done with ten nauplii of *Artemia* sp. The reactions occurred by adding 0.5 mL of the raw dye solution in different concentrations (0.050 mg/mL, 0.125 mg/mL and 0,250mg/L) in different wells to 2 mL of sea water. The tests were performed in triplicate and constant temperature at 25°C for 24 hours, being the negative control in sea water conducted in parallel. After the exposure period, the number of live larvae was counted.

3. Results and discussion

3.1 Screening of Isolates

Three strains of fungi isolated from the Caatinga's soil were selected to evaluate their ability to remove Direct Black 22 dye (50 mg / L) in a shorter time interval. The results showed that only two of the strains tested were able to remove the color in a time interval less than 120 min. (table 1). The strain UCP1279 showed a greater efficiency in the decolorization in 60 minutes, a shorter period of time in the study, therefore, it was selected for the later studies. Many studies have shown good results in the decolorization of dyes using the fungus belonging to the genus *Aspergillus* [20].

Mucor subtilissimus UCP 1262 showed a more effective decolorization in a time interval greater than 60 minutes and less than 120 minutes. *Cunninghamella phaeospora* UCP1303, in turn, did not show complete decolorization in less than 180 minutes. Thus, *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 showed a better decolorization potential when compared to the others mentioned.

Table 1: Screening of fungi isolated from the Caatinga and its efficiency time interval on the decolorization of the dye.

Identification	Strains	Decolorization Time (min)		
		60	60-120	120-180
UCP1279	<i>Aspergillus Tamarii</i> Kita.	+		
UCP1262	<i>Mucor subtilissimus</i>	-	+	
UCP1303	<i>Cunninghamella phaeospora</i>	-	-	-

3.2 Decolorization of Direct Black 22 in submerged cultures of *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279

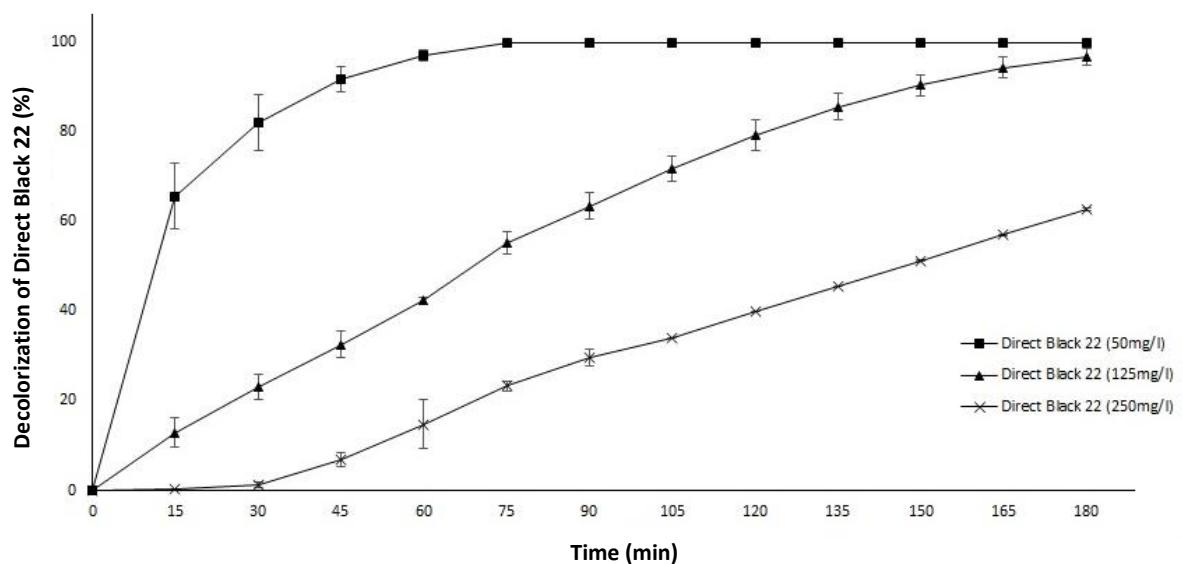
The performance of *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 in the decolorization of azo dye Direct Black 22 was evaluated. The decolorization process was performed under agitation (120 rpm) and under static conditions. After Direct Black 22 in different concentrations was added to cultures of *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 grown had a 100% decolorization efficiency over a time interval of 75 min (Fig. 1). While with increasing concentrations of Direct Black 22, the efficiency of decolorization after 75 min decreased. The dye fading rates at concentrations of 125 mg/L and 250 mg/L in a time period of 180 minutes were 97% and 63%, respectively.

The present study suggested that high concentrations of the Direct Black 22 dye can be effectively decolorized by the *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 fungus under agitation (120 rpm) at 30°C. *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 has strong adaptability

and tolerance to high concentrations of *Direct Black 22*. Therefore, from a practical application point of view, fungus use is more effective.

It has been reported in the literature that fungi of the same genus (*Aspergillus*) have the ability to decolor Black dyes. However, the efficiencies of the decolorizations through these fungi were relatively low when compared to the results of the present study. A 22% rate on Reactive Black decolorization at a concentration of 200 mg/L for 48 hours of the process by *Aspergillus sulphureus* [21]. *Aspergillus flavus* presented 98% and 58% efficiencies in the decolorization of Acid Red 151 and Orange II dyes, respectively at a concentration of 20 mg/L and a temperature of 30°C in a 24-hour process period [22]. *Aspergillus niger* showed a rate of 80% decolorization of Acid Blue 9 dye with a concentration of 50 mg/L in a time range of 30h [23]. *Aspergillus flavipes* presented a percentage of decolorization of 100% Reactive Black dye at 20 mg/L in 80 hours [24].

Figura 1 – Decolorization of azo dye Direct Black 22 at different concentrations by *Aspergillus tamarii* Kita. UCP1279 under agitation (120 rpm) at 30°C.



A decline in the rate of decolorization over time was observed in Figure 2 when the process occurred under static conditions. At 50 mg/L, Direct Black 22 showed 100% decolorization only after 180 minutes of the process. However, the dye at

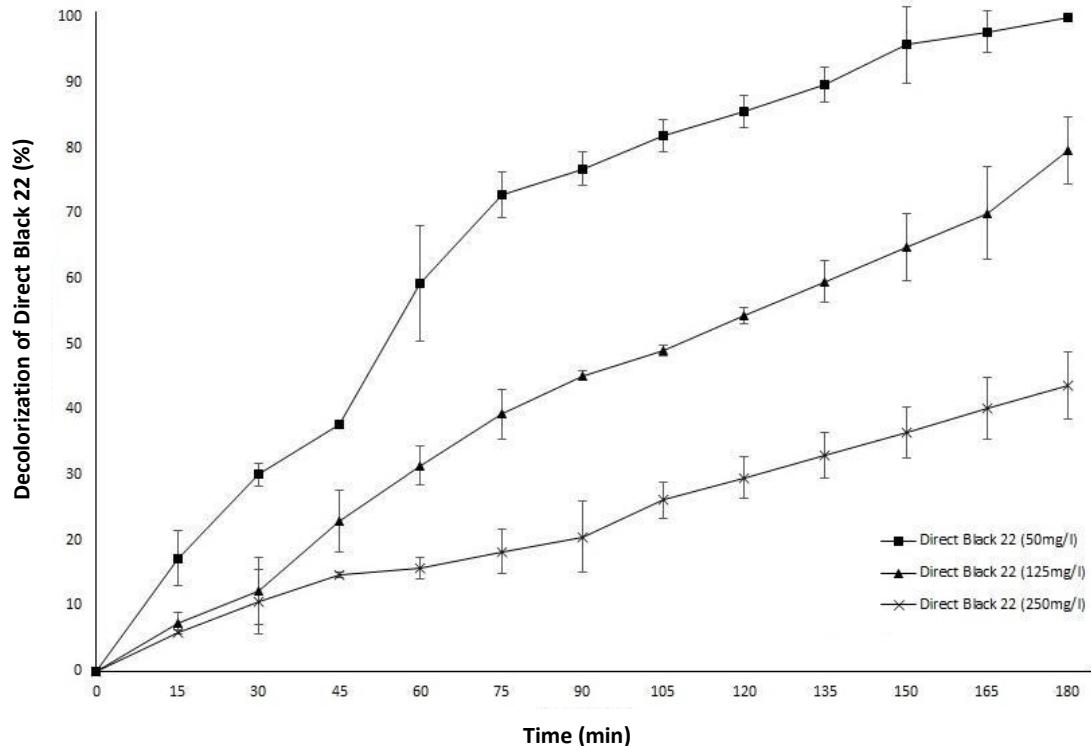
concentrations of 125 mg/L and 250 mg/L showed a decolorization rate of 79% and 43% in the time period of 180 minutes, respectively.

A percentage of decolorization of 77% under static conditions was reported [21]. The study used *Aspergillus sulphureus* on Reactive Black HFGR decolorization at 200 mg/L over a period of 10 days. In addition, the same study showed a 10% decolorization rate under the same static condition and dye concentration during 2 days of the process. Therefore, the cited study presented a lower efficiency in decolorization when compared to the present study, in relation to the period of time of decolorization. *Aspergillus alhabadii*, in turn presented a percentage of Reactive Black dye (150 mg / l) smaller than 10% in a period of 48h and a decolorization rate of 76% in 10 days, both under static conditions [25].

The results indicated that agitation conditions have a more significant impact under decolorization when compared to static conditions. The percentage of decolorization was higher by treatment under agitation because it facilitates the transfer and distribution of nutrients and oxygen between the medium and the microbial cells [21]. In addition, as reported in previous studies, dye concentration directly affected the efficiency of decolorization [24,26]. However, it was observed that the higher concentrations of the dye studied were not toxic to the metabolic activities of the fungus.

A greater efficiency in the removal of the Poly R-478 dye under agitation conditions compared to static conditions was reported [27]. In shaking cultures, the dye removal efficiency ranged from 50% to 93%, while in static cultures it ranged from 26% to 52.95. In addition, agitation conditions are better for the decolorization (20 days) of Reactive Blue-25 dye (100 mg / l), compared to static conditions (25 days for decolorization) by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146 [28].

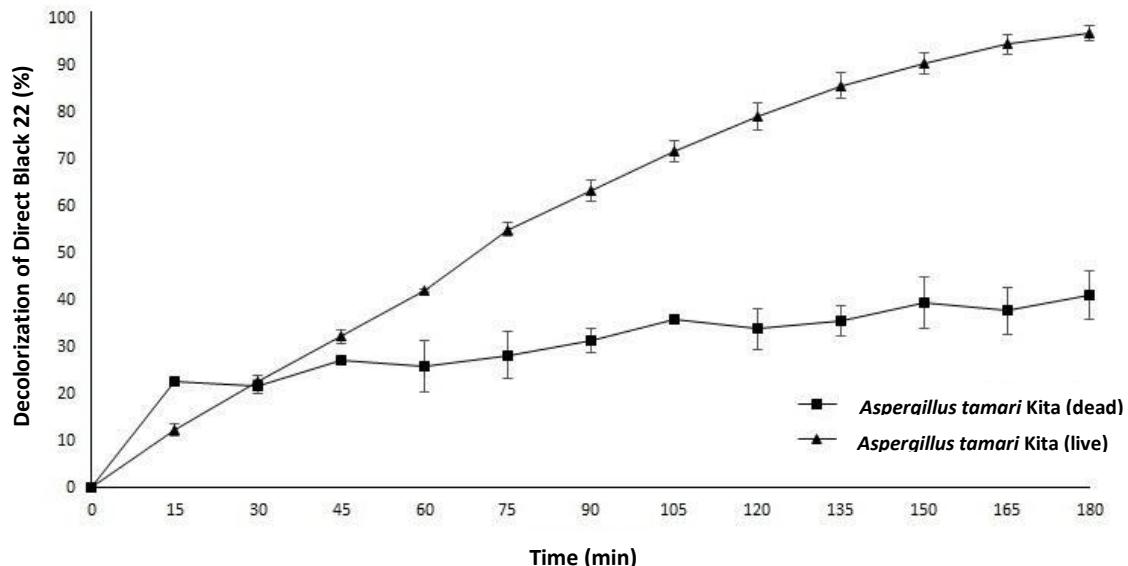
Figura 2 - Decolorization of azo dye Direct Black 22 at different concentrations by *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 under static conditions at 30°C.



3.3 Comparison between Living and Dead biomass of *Aspergillus Tamarii* Kita in the decolorization of Direct Black 22 dye.

The live and dead fungal biomasses were compared and their respective efficiencies were calculated. As a result, presented in figure 3, the discoloration through the live biomass of *Aspergillus* sp UCP1279 was greater when compared to the discoloration by the dead (autoclaved) biomass. In a period of 180 minutes the percentage of discoloration between the living and dead biomasses was 97% and 41%, respectively.

Figura 3 - Decolorization of azo dye Direct Black 22 by live biomass and dead (autoclaved) biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 (180h; 30 °C; under agitation of 120 rpm;125 mg/L).

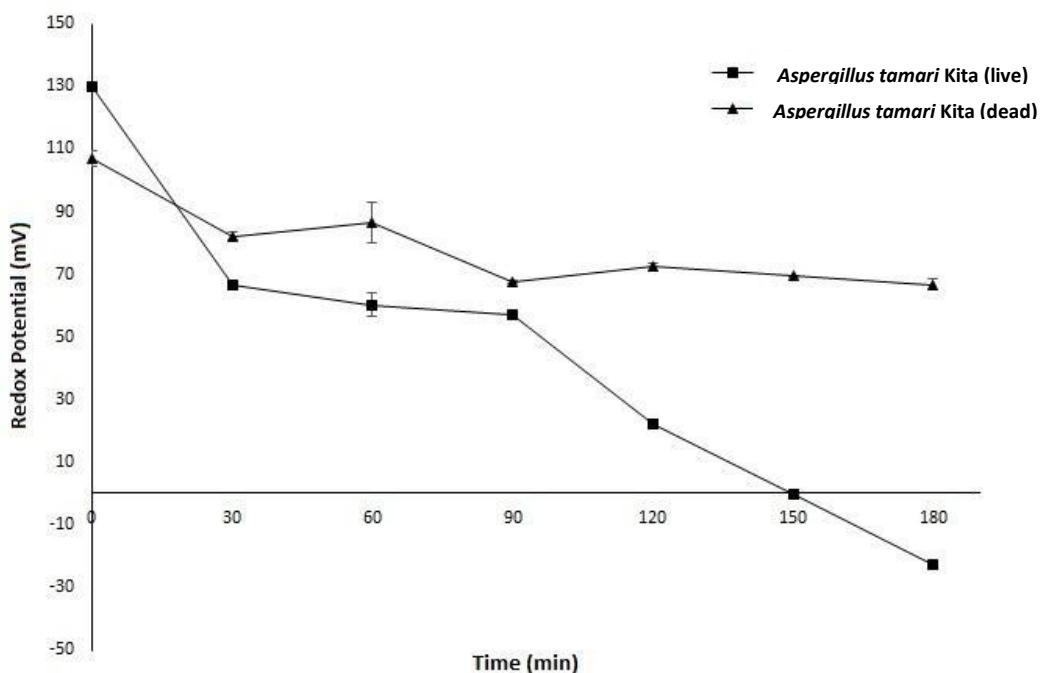


95% of discoloration was observed with *Aspergillus fumigatus* for 4 days under agitation and at a temperature of 30°C, using the dye Active Black 52, 100 mg/L [29]. The literature does not emphasize assays with dead microorganisms, however the results of the present study prove that even the dead microorganisms have a greater bleaching potential when compared to other studies. There was a total consumption of oxygen in the medium by the live biomass of *Aspergillus Tamarii* Kita UCP1279, while the oxygen remained practically constant in the test with the dead fungus biomass. The transfer of oxygen between the cells and the medium depends on aerobic mechanism. The result demonstrated that for a more efficient uptake, the biomass needs to be metabolically viable [14].

Throughout the experimental period the values of the redox potential were measured. Usually the redox potential is affected by the concentration of dissolved oxygen. As the redox potential decreases in water, there is a decrease in the concentration of dissolved oxygen and a reduction in ions and molecules important to the nutrition of microorganisms.

The Figure 4 showed the redox potential values found in the experiment with live and dead biomass. The decolorization test with live biomass showed a rapid decrease in the redox potential, due to the drop of dissolved oxygen in the medium, while the values of the redox potential in the test with dead biomass indicated the presence of oxygen in the medium.

Figura 4 - Monitoring of the redox potential throughout the discoloration process of Direct Black 22 in the living/dead *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 biomass.



3.4 Toxicity study

The result concerning the acute toxicity test using the microcrack *Artemia salina* was based on the number of dead larvae during 48 hours of exposure to the dye. The results were obtained from the dye solution before and after the biotreatment in different concentrations.

The toxicity study of the treated dye solution sought to evaluate the efficiency of the biotreatment in relation to the acute toxicity of the dye to living organisms, as well as to evaluate if the treatment used could generate compounds more toxic than the effluent in natura. The toxicity study of the crude dye solution, in turn, sought to verify the degree of toxicity it represents.

Concentrations of the dye did not cause mortality of the organisms, which also occurred in the solution of the dye after treatment using *Aspergillus* sp. These results demonstrate that the crude dye at the concentrations studied is non-toxic. The absence of toxicity observed prior to treatment can be attributed to the absence of the breakdown of the amine bonds releasing toxicity to the medium

4. Conclusions

The filamentous fungi *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 isolated from the Caatinga's rhizosphere biome presented a strong ability in the decolorization of Direct Black 22 dye in different concentrations. The fungus has a great potential for practical application in the field of environmental biotechnology as the decolorization of different industrial dyes and textile effluents.

Physical-Chemical parameters such as dye concentration and agitation had a significant effect on dye decolorization. The *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 was efficient in the decolorization process under agitation. The temperature as well as the constant carbon source provided the necessary conditions for fungal growth and adaptation.

The high level of toxicity of the raw dye solution against *Artemia salina* was zero, as for the treated solution, in the absence of amines breaking bonds, which in turn are highly toxic.

Few studies described the capacity of isolated Caatinga fungi in the process of decolorization of textile dyes. However, their activities can be optimized by carrying out studies that establish more specific conditions.

References

1. ARIKAN, Ezgi Bezirhan, et al. Investigation of immobilized filamentous fungi for treatment of real textile industry wastewater using up flow packed bed bioreactor. ***Bioresource Technology Reports***, 2019, 7: 100197.
2. KURADE, Mayur B., et al. Decolorization of textile industry effluent using immobilized consortium cells in upflow fixed bed reactor. ***Journal of cleaner production***, 2019, 213: 884-891.
3. ISIK, Zelal, et al. Bioactive ultrafiltration membrane manufactured from Aspergillus carbonarius M333 filamentous fungi for treatment of real textile wastewater. ***Bioresource Technology Reports***, 2019, 5: 212-219.
4. KURADE, Mayur B., et al. Decolorization of textile industry effluent using immobilized consortium cells in upflow fixed bed reactor. ***Journal of cleaner production***, 2019, 213: 884-891.
5. ZENG, Xiangkang, et al. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated Trametes trogii strain cultivated on solid agro-industrial residue. ***Journal of Hazardous Materials***, 2011, 187.1-3: 517-525.
6. SAROJ, S et al. Evaluation of the efficacy of a fungal consortium for degradation of azo dyes and simulated textile dye effluents. ***Sustainable Water Resources Management***. 2015:1:233-243.
7. LANG, W et al. Characterization of a new oxygen-insensitive azoreductase from Brevibacilluslaterosporus TISTR1911: Toward dye decolorization using a packed-bed metal affinity reactor. ***Bioresource technology***. 2013:150:298-306.
8. VIKRANT, Kumar et al. Recent advancements in bioremediation of dye: current status and challenges. ***Bioresource technology***, 2018:253:355-367.
9. TAN, L et al. Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast Magnusiomycesingens LH-F1. ***Bioresource technology***. 2014:158:321-328.

10. RITA DE CÁSSIA, M. et al. Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by Curvularialunata URM 6179 and Phanerochaete chrysosporium URM 6181. *Bioresource technology*. 2013;142:361-367.
11. KADAM, AA et al. Decolorization of adsorbed textile dyes by developed consortium of *Pseudomonas* sp. SUK1 and *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146 under solid state fermentation. *Journal of hazardous materials*. 2011;189:486-494.
12. SINGH, RL; Singh, PK; Singh, RP. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes–A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2015;104:21-31.
13. KHAN, R; Bhawana, P.; Fulekar, MH. Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 2013;12:75-97.
14. SOLÍS, M et al. Microbial decolouration of azo dyes: a review. *Process Biochemistry*. 2012;47:1723-1748.
15. DOS SANTOS, AB. Bisschops, IAE, Cervantes, FJ, Van lier, JB. The transformation and toxicity of anthraquinone dyes during thermophilic (55°C) and mesophilic (30°C) anaerobic treatments. *J. Biotechnol.* 2005;115:345.
16. ALBUQUERQUE, MGE., Lopes, AT, Serralheiro, ML. Biological Sulphate Reduction and Redox Mediator Effects on Azo Dye Decolourisation in Anaerobic-Aerobic Sequencing Batch Reactors. *Enzyme and Microbial Technology*. 2005;36:790–799.
17. GOVINDWAR, SP et al. Decolorization and degradation of xenobiotic azo dye Reactive Yellow-84A and textile effluent by *Galactomyces geotrichum*. *Chemosphere*. 2014;109:234-238.
18. DOS SANTOS, AB. Bisschops, IAE, Cervantes, FJ, Van lier, JB. The transformation and toxicity of anthraquinone dyes during thermophilic (55°C) and mesophilic (30°C) anaerobic treatments. *J. Biotechnol.* 2005;115:345.
19. ALBUQUERQUE, MGE., Lopes, AT, Serralheiro, ML. Biological Sulphate Reduction and Redox Mediator Effects on Azo Dye Decolourisation in Anaerobic-Aerobic Sequencing Batch Reactors. *Enzyme and Microbial Technology*. 2005;36:790–799.
20. IMRAN, M et al. Microbial biotechnology for decolorization of textile wastewaters. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2015;14:73-92.

21. SALAR, RK; ROHILLA, SK; ROHILLA, JK. Decolorization of reactive black HFGR by *Aspergillus sulphureus*. *Ann Biol Re.* 2012;3:3811-3817.
22. ALI, N; Hameed, Al; Ahmed, S. Role of brown-rot fungi in the bioremoval of azo dyes under different conditions. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010;41:907-915.
23. FU, Y, Viraraghavan, T.. Removal of Acid Blue 29 from an aqueous solution by *Aspergillus niger*. Am.Assoc. *Text. Chem. Color.* Rev. 2001;1:36-40.
24. AYDOGAN, Mehmet Nuri; ARSLAN, Nazli Pinar. Removal of textile dye reactive black 5 by the cold-adapted, alkali-and halotolerant fungus *Aspergillus flavipes* MA-25 under non-sterile conditions. *Desalination and Water Treatment*, 2015;56:2258-2266.
25. ROHILLA, S. K.; SALAR, R. K.; KUMAR, J. Optimization of physiochemical parameters for decolorization of Reactive Black HFGR using soil fungus, *Aspergillus alhababii* MTCC 9988. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*. 2012;2012:3811-3817.
26. KAUSHIK, Prachi; MALIK, Anushree. Alkali, thermo and halo tolerant fungal isolate for the removal of textile dyes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010;81:321-328.
27. RIGAS, F.; DRITSA, V. Decolourisation of a polymeric dye by selected fungal strains in liquid cultures. *Enzyme and microbial technology*. 2006;39:120-124.
28. PARSHETTI, G. K. et al. Biodegradation of Reactive blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 18, p. 3638-3642, 2007.
29. SEYIS, Isil; SUBASIOGLU, Tugba. Comparison of live and dead biomass of fungi on decolorization of methyl orange. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, n. 12, 2008.

CAPÍTULO II

**REUSE OF BIOMASS FROM *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 IN DIRECT
MARINE 2R TEXTILE DECOLORIZATION**

**REUSE OF BIOMASS FROM *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 IN DIRECT
MARINE 2R TEXTILE DECOLORIZATION**

Raphael Luiz Andrade Silva¹; Romero Marcos Pedrosa Brandão-Costa³, Anna Gabrielly Duarte Neves¹, Nayara Vitória Dos Santos Cruz¹, Juanize Matias da Silva Batista¹, Ana Lucia Figueiredo Porto¹

¹Department of Morphology and Animal Physiology, Laboratory of Bioactive products and technology (LABTECBIO), Federal Rural University of Pernambuco - UFRPE, Dom Manoel de Medeiros Street, s/n, Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE

²Laboratory of Advances in Peptides and Protein Biotechnology (LABIOPPROT), Institute of Biological Sciences, University of Pernambuco, Santo Amaro, Recife – PE, Brazil.

³Laboratory of Biotechnology Applied to Infectious and Parasitic Diseases, Biological Science Institute, University of Pernambuco (UPE), Arnóbio Marques, 50100-130 Recife, PE, Brazil

*Corresponding author: Prof. Romero Brandão-Costa, Ph.D.

Laboratory of Advances in Peptides and Protein Biotechnology, Institute of Biological Sciences, University of Pernambuco, Santo Amaro, Recife – PE.

E-mail address: romero.brandao@upe.br

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the potential of the fungus *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279, isolated from the Caatinga Biome, in the bioremediation of the textile dye Direct Marine 2R. Dye discoloration was evaluated at a concentration of 50 mg/L. The experiments were carried out using different weights of biomass (2, 4 and 6 grams) under live and dead conditions. In addition, biomass reuse was evaluated, so that, after the first 120-minute decolorization trial, two more decolorization sequences of 120 minutes each were conducted for both conditions. The maximum discoloration of Direct Marine 2R verified was 100% with the fungal treatment lasting 15 minutes, when using 4 and 6 grams of biomass in the live condition. The best condition obtained using 2 grams of biomass was 97%, in just 15 minutes of experiment, using dead biomass. In the biomass reuse tests, both conditions (alive/dead) showed maximum efficiency in the discoloration of the dye in the first 15 minutes of the tests with the different amounts of biomass, thus showing the potential of the microorganism to perform the discoloration of the textile dye. Therefore, our study demonstrated that *Aspergillus tamarii* Kita may be well suited for potential applications in the bioremediation of textile effluents.

Keywords: Bioremediation; textile effluent; fungus; Caatinga.

1. INTRODUCTION

Due to the accelerated industrialization, there was a need to produce and use different chemical products during the processes carried out by the factories (Chanwala et al., 2019). Concomitantly with the agriculture sector, textile factories are among the largest industries in the world, providing employability for a large number of people (Bathrinath, Bhalaji; Saravanasankar, 2021). In Brazil, the textile sector has more than 33,000 firms distributed in all states of the country, which guarantees approximately 1.5 million job openings (Ramos et al., 2020).

Despite the socioeconomic relevance of the textile sector, the processing of these industries represents one of the most serious forms of environmental impact (Janaina et al., 2020). Due to the chemical inputs used in manufacturing, textile effluents are rich in pollutants, mainly organic matter. In addition, this residue is usually cloudy due to the significant presence of suspended solids, such as spent fibers (Ramos et al., 2020). Complex and recalcitrant substances are also present, such as dyes, which do not adhere to the fabric fibers during the dyeing stage, corresponding to a loss of up to 15% in the effluent. Dyes are responsible for the strong coloration of the final textile effluent, impairing the passage of light in the receiving water bodies and, consequently, hindering the photosynthesis of aquatic organisms (Ramos et al., 2021; Holkar et al., 2016; Bhatia et al., 2017).

Azo dyes are the most widely used synthetic dyes in the textile industry (Liu et al., 2020; Zhu et al., 2018), usually comprising one or more azo bonds (-N = N-) in chemical structures (Li et al., 2022). They are responsible for the strong coloration of the final textile effluent, impairing the passage of light in the receiving water bodies and, consequently, hindering the photosynthesis of aquatic organisms (Ramos et al., 2021). In addition, they can be toxic and have carcinogenic, teratogenic and/or mutagenic potential, thus threatening the health of humans and ecosystems (Liu et al., 2021). Thus, as the dyes present in effluents represent a serious threat to different forms of life, mitigating the impacts arising from their use is essential.

Agreste Pernambucano is facing a serious problem of water pollution in the state, bearing in mind that in addition to compromising the quality of the water in the region due to the large amount of effluents containing dyes released in natura by the

local textile laundries, the clothing hub of Pernambuco is located in a region where the water supply of cities is often restricted, following a water distribution schedule (Braga et al., 2016, De Lima et al., 2014; Compesa, 2021). Given this scenario, the local community is looking for alternatives, such as buying water distributed by water trucks, to maintain activities. Therefore, water reuse is an attractive option, as in addition to reducing the cost of obtaining it, it helps to reduce the release of polluting compounds into the environment (Lima et al., 2017; Viana et al., 2018).

Textile wastewater treatment can be carried out using chemical, physical and biological methods. Chemical methods are the main forms of treatment used by industries, however, in most cases they originate secondary components that are also considered pollutants (Abd el-rahim et al., 2017). Thus, biological treatments emerge as an alternative to this problem. The use of microorganisms, such as algae, fungi and bacteria, in the treatment of textile effluents has caused a lot of interest in the scientific community, as it is a method that causes minimal damage to the environment and still has a good cost-benefit ratio (Ameen; Alshehrei et al. 2017). However, the bioremediation process using fungi is one of the best ways to treat water, being an alternative and economical technique to treat effluents (Dewi et al. 2018). In particular, filamentous fungi are an attractive group for the bioremediation of dyes, since they have the ability to self-pelletize (Khan; Fulekar, 2017).

Aspergillus, for example, has great biotechnological importance, some species such as *Aspergillus fumigatus* A23, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus bombycis* have already been described as dye bioremediation agents (Dharajiya; Shah; Bajpai, 2016; Esmaeili; Kalantari, 2012; Khan; Fulekar, 2017). Therefore, carrying out studies aimed at investigating fungi with potential for the treatment of wastewater containing dyes is fundamental, as they allow the discovery of treatment methodologies that are considered viable and less harmful to the environment, thus promoting a more comprehensive knowledge. The objective of the present study was to investigate an effective, economical and sustainable method to decolorize Direct Marine 2R, a dye widely used in laundries in the clothing hub of Agreste Pernambucano, reusing the biomass of the fungus *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279, isolated from the Caatinga Biome, aiming to use its bleaching capacity for potential applications in the bioremediation of textile effluents.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Dye

The azo dye Direct Marine 2R, obtained from a small laundry located in the city of Toritama, Pernambuco, Brazil, was used to investigate the capacity of *Aspergillus tamarii* Kita in the discoloration process. The concentration of marine dye Direct 2R used in the experiment was 50mg/L.

2.2 Microorganism, media and culture conditions.

The *Aspergillus tamarii* Kita strain obtained from the collection of microorganisms at the Catholic University of Pernambuco (UCP), Recife, Pernambuco, Brazil, was isolated from the soil of the Caatinga biome (Northeastern Brazil) and preserved in Czapek Dox Agar medium (Himedia ®). The spores were inoculated into 125 mL Erlenmeyer flasks containing 50 mL of Potato Dextrose Agar (PDA) medium (KASVI®) and incubated in a BOD (Biochemical Oxygen Demand) chamber at 30°C for 120 hours. After growth, the spores were suspended in a solution containing 0.9% NaCl (m.v-1) and 0.05% Tween 80 (v.v-1). Then, 20 µL of the suspended solution was transferred to the Neubauer Chamber, and the spores were counted for final concentration standardization at 104 CFU/µL. After standardization, the spores were inoculated into 250 mL Erlenmeyer flasks containing 100 mL of glucose broth (20 g/L of glucose, 10 g/L of meat extract, 3 g/L of peptone), and subsequently incubated at 30°C under agitation (120 RPM) for 72 hours, obtaining fungal biomass with a pelleted appearance.

2.3 Biomass preparation

The biomass was collected from the liquid culture medium, washed with deionized water, and then filtered through filter paper using a vacuum pump. Then, the biomass was weighed to values of 2 g, 4 g and 6 g, being transferred to 250 mL Erlenmeyer flasks, where 90 mL of deionized water were added to hydrate the biomass and 10 mL of Direct Marine 2R dye solution (50mg/L). Then they were placed in a shaking incubator at 120 RPM and room temperature, being monitored for 2 hours. Aliquots of

1 mL were withdrawn every 15 minutes during the first and second hours of the experiment to read the absorbance. All aliquots obtained during the 120 minutes of testing were read in a UV/VIS spectrophotometer at a wavelength (λ) of 528 nm, referring to the marine dye Direct 2R. This process was performed for both living and dead biomass, however, to obtain dead biomass, it was autoclaved in the culture medium itself at 121 °C for 30 minutes.

2.4 Decolorization analysis of Marine Direct 2R dye by *Aspergillus tamarii* Kita

The samples obtained over 120 minutes of experimentation were centrifuged for 10 minutes at 10,000 RPM, and then the supernatants were analyzed by UV-VIS spectrophotometry Ultrospec TM 7000 (Ge Healthcare) in single wavelength from the wavelength of the dye (528nm), using distilled water as a reference. Spectral interpretations were followed by comparison analyzes between the spectrum obtained from the dye solution before and after the treatment performed. The results for the discoloration rate of the dye solution were determined according to Govindwar et al. (2014), following the formula:

$$\text{Discoloration (\%)} = [(A_i - A_t) / A_i] \times 100 (I)$$

Where, A_i is the initial absorbance of the dye and A_t the absorbance over time. All experiments were performed in triplicates and the average of triplicates was expressed in terms of percentage discoloration.

2.5 Reuse of fungal biomass

At the end of the 120-minute discoloration test, another 10 mL of Direct Marine 2R dye solution at a concentration of 50 mg/L was added to the flasks containing the different weights of biomass and conditions, followed by monitoring for 120 minutes. At the end of the monitoring time, another 10 mL of the dye was returned to the flasks, with the objective of measuring the saturation of the fungal biomass in decolorizing the dye

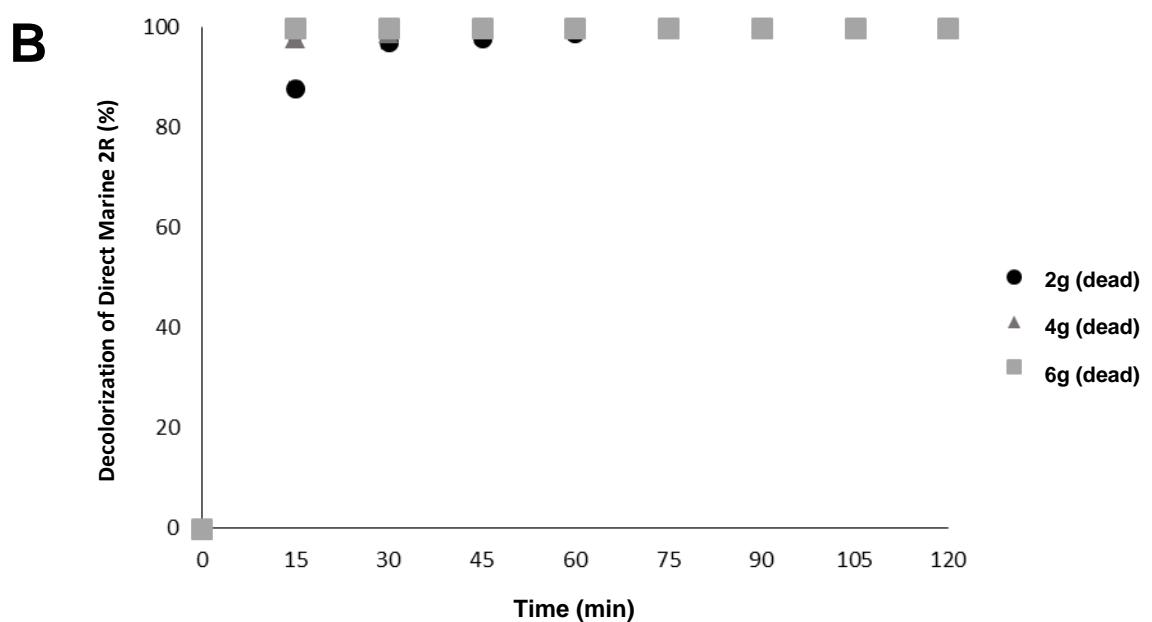
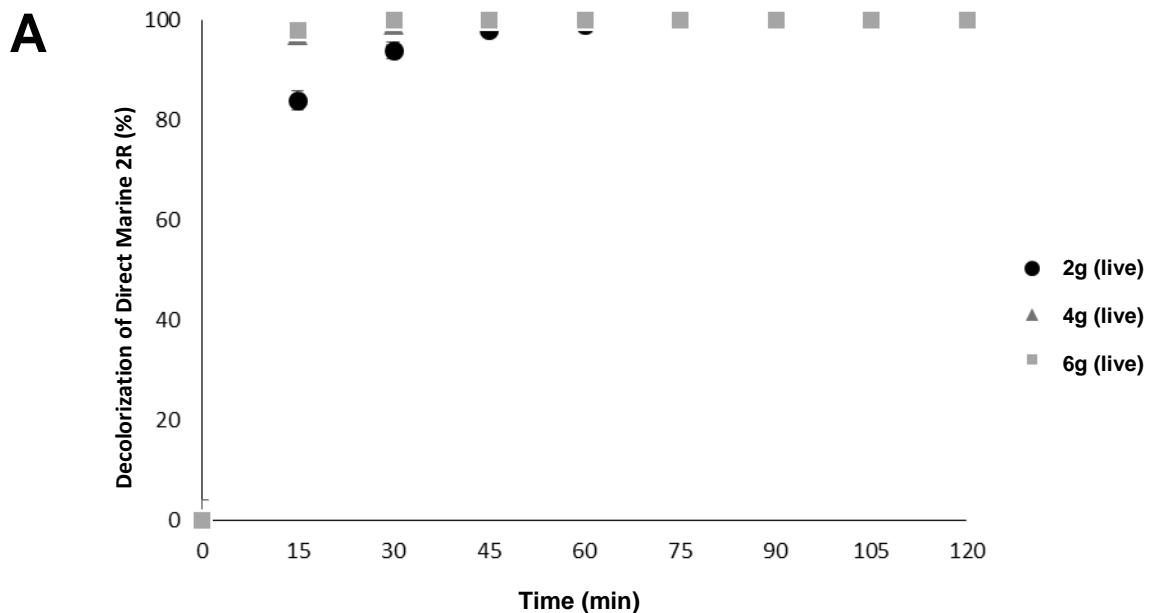
solution. Thus, two new cycles were totaled, each with 2 hours. During these new intervals, samples continued to be collected every 15 minutes. The entire process described was performed in triplicate.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Evaluation of Direct Marine 2R Dye discoloration using different weights of live biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279.

Direct Marine 2R azo dye was effectively decolorized by *Aspergillus tamarii* Kita, as shown in Fig. 1. Notably, the discoloration rate was proportional to the amount of fungal biomass used in each treatment, thus corroborating ALMEIDA; CORSO, 2019, when they stated that the amount of biomass applied influences the increase in discoloration rates. The fungus *Aspergillus tamarii* Kita reached a dye discoloration rate of 98% and 97% in the first 15 minutes of the test, using 6g and 4g of live biomass, respectively, while, in the same time interval, with 2 grams of biomass, it was achieved 84% color removal. Therefore, the test involving 2 grams of live biomass presented a slower performance when compared to the tests with a larger amount of biomass (Fig. 1A). The maximum percentage of discoloration (100%) using 2g, 4g and 6g of active biomass was reached at 75, 45 and 30 minutes, respectively.

Figure 1 - Analysis over time of the decolorization of the azo dye Direct Marine 2R using the biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 in different weights (2g, 4g and 6g), including (A) live biomass of *Aspergillus tamarii* Kita, (B) dead biomass of *Aspergillus tamarii* Kita.

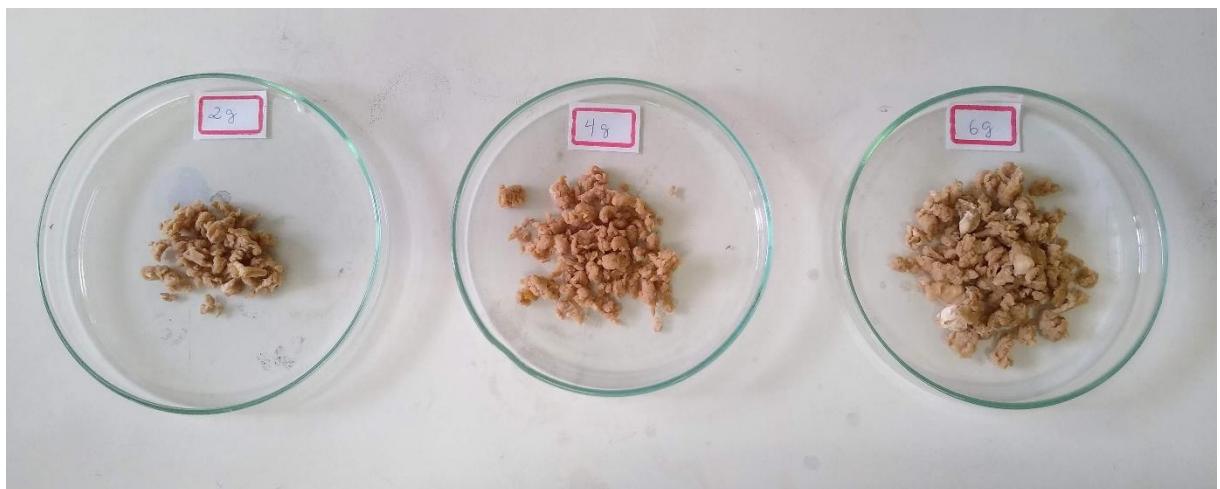


Similar results were found by Arikan et al. (2019) who, when using *Aspergillus carbonarius* M333 (AC) immobilized in macroporous polymeric sponge (MPPS), observed that when increasing the volume of biomass from 3cm³ to 9cm³, respectively, they obtained values of 73.7% and 85.7%, that is, a better discoloration rate was obtained when using a greater amount of fungal biomass, however, this result was reached only after 3 days of experiment, thus demonstrating the good performance of *Aspergillus tamarii* Kita.

Similarly, *Aspergillus niger* was able to decolorize 75.48% of the Direct violet dye at pH 2 in 120 minutes and reached its maximum decolorization (98.92%) in 72 hours of testing (ABD EI-RAHIM; EL-ARDY ; MOHAMMAD, 2009). The discoloration process with fungi was also investigated with glucose supplementation, in an experiment using *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus oryzae* the Direct Violet dye was discolored respectively by 85.8% and 83.7% in a solution supplemented with 0.25% glucose, excellent results were also obtained for the decolorization of the Methyl Red dye with *Aspergillus fumigatus* (91.3%) and *Aspergillus niger* (87.1%) in medium supplemented with 0.5% glucose (ABD EL-RAHIM et al., 2017).

Thus, the efficiency of *Aspergillus tamarii* Kita was demonstrated from its discoloration in a period of time much shorter than that described in the literature, with no need for any modification in the medium, indicating that the Direct Marine 2R dye has good affinity with the walls cells of the microorganisms under study. The fungal cell wall consists mainly of polysaccharides, proteins, lipids and various functional groups, allowing dyes to interact with these active groups on the cell wall surface through physical (Van der Waals forces) or chemical (ion exchange or covalent bond) (Crini 2006).

Figure 2 - Biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 in different weights (2g, 4g and 6g), after filtration in the vacuum pump.



3.2 Evaluation of the discoloration of Direct Marine 2R dye using different weights of dead biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279.

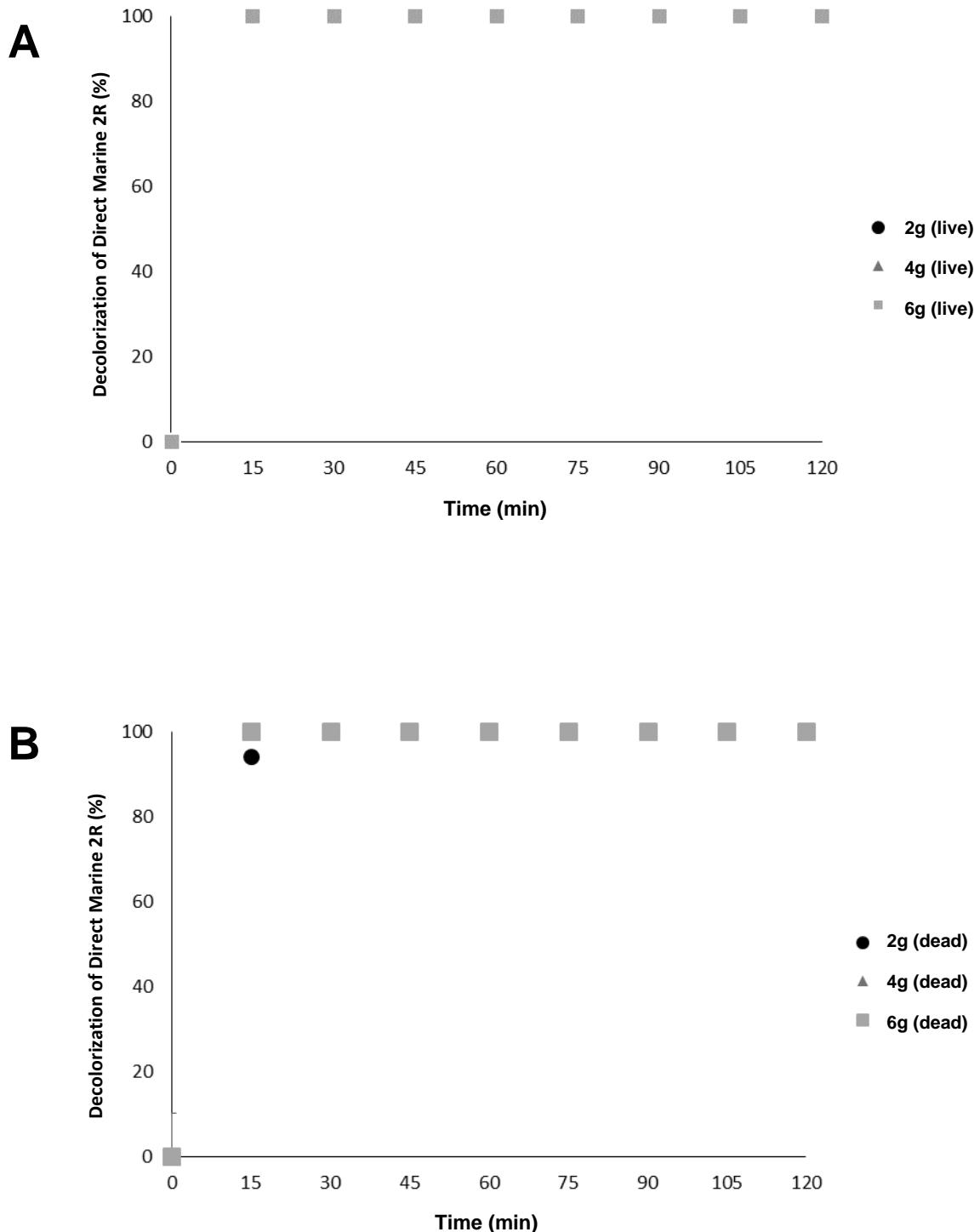
Kabbout and Taha (2014) studied the discoloration of methylene blue cationic dye by a dead fungal biomass of *Aspergillus fumigatus*. Using 5 g of biomass, the results revealed rapid adsorption, with a discoloration rate of 58% in 30 min and 68% in 120 min. Peak decolorization (71%) occurred at 210 min. In the present investigation, using the smallest amount of dead biomass (2g), the maximum discoloration by *Aspergillus tamarii* Kita occurred after 75 min (Fig. 1B). Furthermore, it can be observed that in the first 15 minutes of the experiment with 2 grams of inactive biomass, a removal of 97% of the dye was achieved, while the same amount of live biomass reached 84% of discoloration in the same period. When analyzing the test in which 4 grams of dead biomass was used, it was found that the demonstrated result was promising. In the first 15 minutes of bleaching, 99% of the dye was removed. The same situation was observed in the experiments containing 6 grams of dead biomass, in which the maximum discoloration (100%) was reached at 30 minutes of experiment. The greater efficiency of the dead fungal biomass in relation to the discoloration of the solutions is probably due to the fact that the dead biomass does not show resistance to the adsorption process of the dye under study.

The literature reports that subjecting the biomass to gamma irradiation or autoclaving causes an increase in its adsorption with the effluent containing dye (KHALAF, 2008). Seyis and Subasioglu (2008), mentioned that the use of autoclaved fungal biomass for discoloration is an advantageous option. Therefore, in the present investigation, it was verified that, regardless of the integrity of the microorganism, optimal discoloration rates were achieved in a short period of time. Similarly to this study, experiments involving *Aspergillus oryzae* in living and dead conditions showed the potential for discoloration of Procion Red HE7B and Procion Violet H3R even in a short period of time (CORSO; DE ALMEIDA, 2009). Abdel-Guany et al. (2019) reported that the inactive biomass of *Aspergillus fumigatus* reached a maximum discoloration of the Congo red 8 dye at 8mg/L of 82.23%, observed in 180min of contact time. Kalaiarasi et al. (2012) reported that the dead biomass of *Aspergillus fumigatus* exhibited its maximum dye removal rate after 24 hours of contact time. Therefore, the good performance of the inactive biomass of *Aspergillus tamarii* Kita represents an effective model for biosorption of dyes.

3.3 Evaluation of the discoloration potential of Direct Marine 2R dye during reuse of biomass.

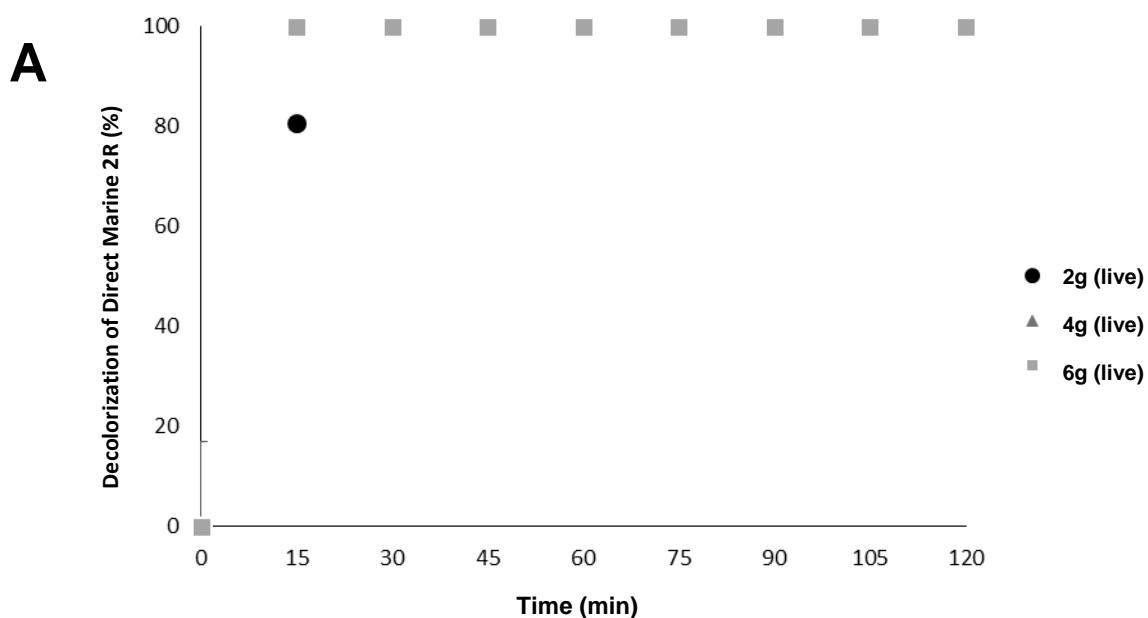
Two more tests were carried out sequentially with the reuse of fungal biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 for both living and dead biomass, in order to enable a better understanding of the biosorption capacity of the microorganism used. The reuse of biomass is essential to determine the applicability of the microorganism as a biosorbent, still according to the authors, experiments that perform the reuse of biomass require the addition of nutrients, however, in the present study supplementation was not necessary (LU; ZHANG; YAO, 2017). When the graphs presented in Figures 3 (A and B) are checked, it is possible to verify the speed and potential of the fungus *Aspergillus tamarii* Kita in discoloring textile industry dyes, so that, in the first 15 minutes of the experiment involving the living biomass, it was bleached 100% of the color, regardless of the amount of biomass (2, 4 and 6 grams). In the experiments involving dead biomass, the tests with 4 and 6 grams reached the maximum discoloration in the first 15 minutes, however, with 2 grams of biomass 100% of the discoloration was reached only after 30 minutes of test.

Figure 3 - Performance of the decolorization of the Direct Marine 2R azo dye in the first reuse of *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 biomass in different weights (2g, 4g and 6g), including (A) reuse 1 of the live biomass of *Aspergillus tamarii* Kita, (B) reuse 1 of the dead biomass of *Aspergillus tamarii* Kita.



The search for an effective and viable model of discoloration of textile dyes is widely studied, therefore, it is important to consider different factors in research, one of them being the viability of the biomass to the detriment of the amount of dye present in the effluent, or in this case in the solution. , due to this, a third battery of experiments was carried out, aiming to test the adsorption capacity of the microorganism. By evaluating the graphs in Figure 4 (A and B), it is possible to visualize the efficiency and constancy of the microorganism in discoloring the textile dye Direct Marine 2R, reaching 100% removal in most tests during the first 15 minutes, in live and dead, except only for the experiment with 2 grams of live biomass, which in 15 minutes discolored 80% of the color, reaching its maximum degree of discoloration in approximately 30 minutes of testing. A decline in the discoloration of the Congo red dye was verified in a study with *Aspergillus niger* ZJUBE-1, where, in the first test, it reached 99.1% of discoloration, while, in the later batches, the discoloration rates were 91.7% and 89 .8% using 4 grams of biomass in the tests (LU; ZHANG; YAO, 2017).

Figure 4 - Performance of the decolorization of the Direct Marine 2R azo dye in the second reuse of the biomass of *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 in different weights (2g, 4g and 6g), including (A) reuse 2 of the live biomass of *Aspergillus tamarii* Kita, (B) reuse 2 of the dead biomass of *Aspergillus tamarii* Kita.



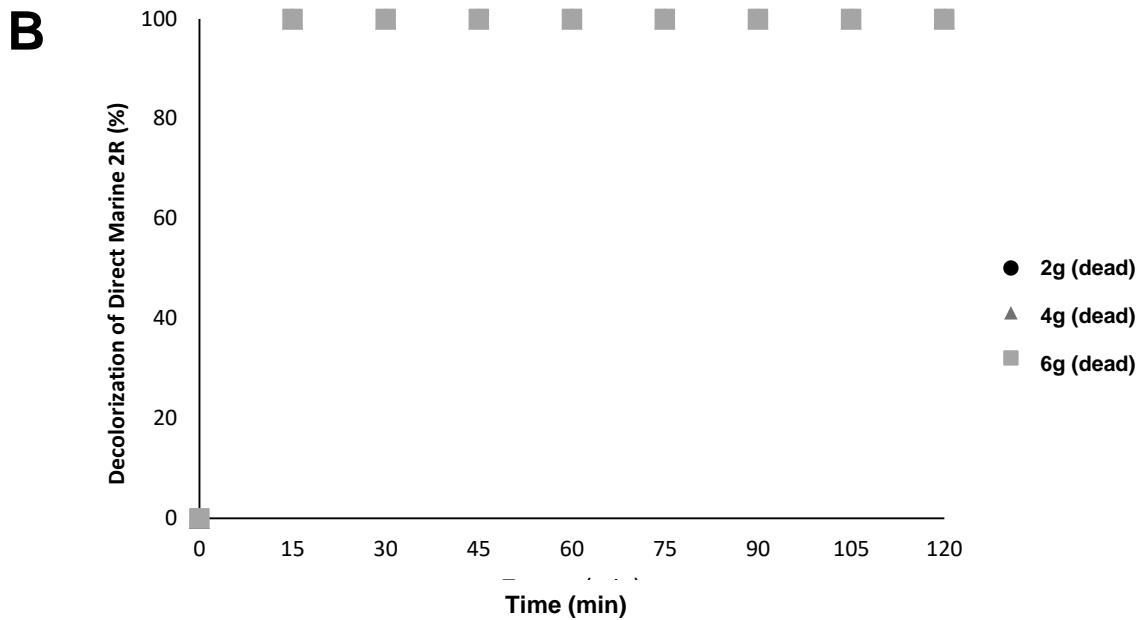
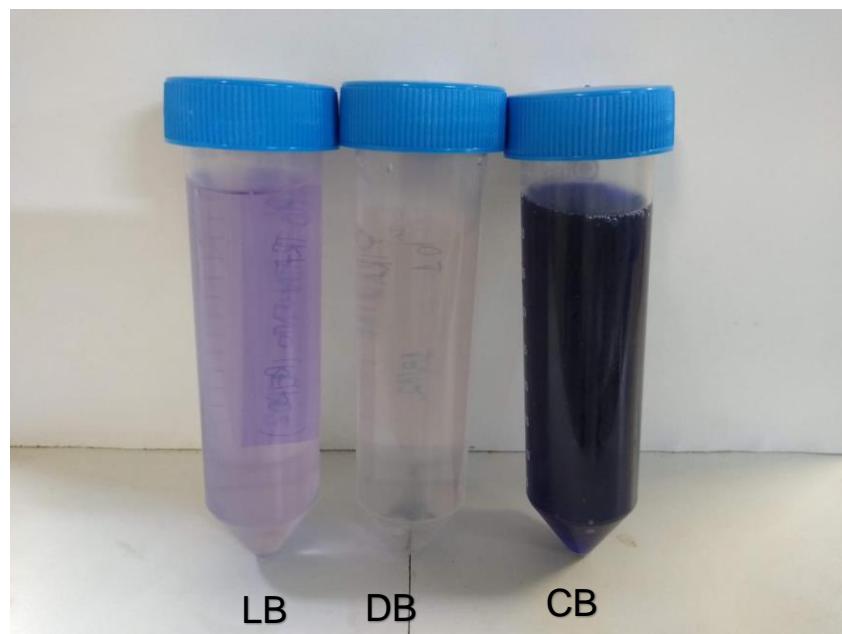


Figure 5 - Comparative analysis between the Direct Marine 2R azo dye treated with 2g of live *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 biomass (LB) and with 2g of dead *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 biomass (DB) in the first 15 minutes of the second reuse of the biomass (4h15min of discoloration). The crude dye (CB) was used as a parameter for decolorization.



4. CONCLUSION

Synthetic dyes are widely used by industries, mostly by the textile sector, however, concomitant with the need for production, it is inherent that there are effective models to treat wastewater discharged at the end of processing. With this, biological models emerge as good alternatives to remove the color of effluents, being considered economical and ecologically viable alternatives, in addition to being effective as demonstrated in the present study, being observed that regardless of the integrity of the biomass (living or dead), the fungus *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 was able to decolorize Direct Marine 2R dye in a much shorter period of time than previously reported in the scientific literature. The efficiency of the process was also tested and confirmed by the use of biomass in different values (2 g, 4 g and 6 g) and in all cases, the maximum discoloration was obtained even with the studied biomass (2 g). Therefore, the microorganism *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 isolated from the Caatinga biome, has the ability to discolor the textile dye Marine Direct 2R, so that its potential use on an industrial scale deserves to be studied, in order to achieve a viable methodology, which be beneficial to the environment and industries.

REFERENCES

- ABD EL-RAHIM, W M.; EL-ARDY, O. A. M.; MOHAMMAD, F. HA. The effect of pH on bioremediation potential for the removal of direct violet textile dye by *Aspergillus niger*. **Desalination**, v. 249, n. 3, p. 1206-1211, 2009.
- ABD EL-RAHIM, W. M. A. et al. Optimization of conditions for decolorization of azo-based textile dyes by multiple fungal species. **Journal of biotechnology**, v. 260, p. 11-17, 2017.
- ABDEL-GHANY, Tarek M. et al. Congo red biosorption with live and dead biomass of thermophilic *Aspergillus fumigatus*. **Egypt. J. Exp. Biol.(Bot.)**, v. 15, n. 1, p. 1-6, 2019.
- AL- MAMUN , M. R. et al. Photocatalytic activity improvement and application of UV-TiO₂ photocatalysis in textile wastewater treatment: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103248, 2019.
- AL PROL.; Ahmed E. Study of environmental concerns of dyes and recent textile effluents treatment technology: A Review. **Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research**, p. 1-18, 2019.
- ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, Decolorization and removal of toxicity of textile azo dyes using fungal biomass pelletized. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 3, p. 1319- 1328, 2019.
- AMEEN, F.; ALSHEHREI, F. Biodegradation optimization and metabolite elucidation of Reactive Red 120 by four different *Aspergillus* species isolated from soil contaminated with industrial effluent. **Annals of microbiology**, v. 67, n. 4, p. 303-312, 2017.
- ARIKAN, E. B. et al. Investigation of immobilized filamentous fungi for treatment of real textile industry wastewater using up flow packed bed bioreactor. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, p. 100197, 2019.
- BATHRINATH, S.; BHALAJI, R. K. A.; SARAVANASANKAR, S. Risk analysis in textile industries using AHP-TOPSIS. **Materials Today: Proceedings**, v. 45, p. 1257-1263, 2021.
- BELLATO, F. C. et al. Avaliação da fitotoxicidade de efluente têxtil contendo corante ci reactive blue 222 após o tratamento por *pleurotus ostreatus* em biorreatador. In: **XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Campinas-SP**. 2015.
- BENKHAYA, S.; M'RABET, S.; EL HARFI, A. A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 115, p. 107891, 2020.
- BENKHAYA, S.; EL HARFI, S.; EL HARFI, A. Classifications, properties and applications of textile dyes: A review. **Applied Journal of Environmental Engineering Science**, v. 3, n. 3, p. 311-320, 2017.

- CHANWALA, J. et al. Process optimization and enhanced decolorization of textile effluent by Planococcus sp. isolated from textile sludge. **Environmental Technology & Innovation**, v. 13, p. 122-129, 2019.
- CORSO, C. R.; DE ALMEIDA, A. C. M. Bioremediation of dyes in textile effluents by Aspergillus oryzae. **Microbial Ecology**, v. 57, n. 2, p. 384, 2009.
- DEWI, R. S.; et al. Bioremediation of Indigosol Blue 04B Batik Effluent by Indigenous Fungal Isolates, Aspergillus spp. **Omni-Akuatika**, v. 14, n. 2, p. 11- 20, 2018.
- DHARAJIYA, D.; SHAH, M.; BAJPAI, B. Decolorization of Simulated Textile Effluent by Phanerochaete chrysosporium and Aspergillus fumigatus A23. **Nature Environment & Pollution Technology**, v. 15, n. 3, 2016.
- ESMAEILI, A.; KALANTARI, M. Bioremoval of an azo textile dye, Reactive Red 198, by Aspergillus flavus. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 3, p. 1125-1131, 2012.
- GOVINDWAR, S. P. et al. Decolorization and degradation of xenobiotic azo dye Reactive Yellow-84A and textile effluent by Galactomyces geotrichum. **Chemosphere**, v. 109, p. 234238, 2014.
- JANAINA, A. K. et al. Textile sustainability: A Brazilian etiquette issue. **Environmental Science & Policy**, v. 109, p. 125-130, 2020.
- KABBOUT, R.; TAHA, S. Biodecolorization of textile dye effluent by biosorption on fungal biomass materials. **Physics Procedia**, v. 55, p. 437-444, 2014.
- KALAIARASI, K. et al. Decolourization of textile dye effluent by non-viable biomass of Aspergillus fumigatus. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 55, p. 471-476, 2012.
- KHALAF, M. A.; Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of Aspergillus niger and Spirogyra sp. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, 2008.
- KHAN, R.; FULEKAR, M. H. Mineralization of a sulfonated textile dye Reactive Red 31 from simulated wastewater using pellets of Aspergillus bombycis. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 4, n. 23, 2017.
- LU, T.; ZHANG, Q.; YAO, S. Efficient decolorization of dye-containing wastewater using mycelial pellets formed of marine-derived Aspergillus niger. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 25, n. 3, p. 330-337, 2017.
- PEIXOTO, F. P.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. Corantes têxteis: uma revisão. **Hilos**, v. 5, p. 98-106, 2013.
- RAMOS, M. D. N. et al. Análise crítica das características de efluentes industriais do setor têxtil no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 4, 2020.
- SARKAR, S. et al. Degradation of synthetic azo dyes of textile industry: a sustainable approach using microbial enzymes. **Water Conservation Science and Engineering**, v. 2, n. 4, p. 121-131, 2017.

SEYIS, I.; SUBASIOGLU, T. Comparison of live and dead biomass of fungi on decolorization of methyl orange. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, 2008.

SINGH, L. Biodegradation of synthetic dyes: a mycoremediation approach for degradation/decolourization of textile dyes and effluents. **J Appl Biotechnol Bioeng**, v. 3, n. 5, p. 430-435, 2017.

ZAZOU, H. et al. Treatment of textile industry wastewater by electrocoagulation coupled with electrochemical advanced oxidation process. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p. 214-221, 2019.

CAPÍTULO III

PATENTE BR 10 2019 025957 4 intitulada “FILTRO BIOLÓGICO DE BIOMASSA FÚNGICA PARA TRATAMENTO POR BIOSSORÇÃO DE EFLUENTES COM CARGA DE CORANTES E RESPECTIVO PROCESSO DE TRATAMENTO”.



06/12/2019

870190129661
21:29



29409161811251039

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 025957 4

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24134488000108

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50670-901

País: Brasil

Telefone: (81)2126 8959

Fax: (81)2126 8959

Email: patentes_dine.propesq@ufpe.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 06/12/2019 às 21:29, Petição 870190129661

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 15**Nome:** ANNA GABRIELLY DUARTE NEVES**CPF:** 09575925408**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Mestrando**Endereço:** Avenida Professor Artur de Sá, 1300, casa H, Várzea**Cidade:** Recife**Estado:** PE**CEP:** 50740-525**País:** BRASIL**Telefone:** (81) 986 095315**Fax:****Email:** a.gabriellydneves@gmail.com**Inventor 2 de 15****Nome:** RAPHAEL LUIZ ANDRADE SILVA**CPF:** 08177728474**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Doutorando**Endereço:** Rua Monte Horebe, 64, Casa Amarela**Cidade:** Recife**Estado:** PE**CEP:** 52110-430**País:** BRASIL**Telefone:** (81) 997 403674**Fax:****Email:** raphaeluizandradesilva@gmail.com**Inventor 3 de 15****PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 06/12/2019 às 21:29, Petição 870190129661

Depositante 2 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (UFRPE)

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24416174000106

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Dom Manoel de Medeiros nº s/n, Dois Irmãos

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP:

País: BRASIL

Telefone: (81) 332 06104

Fax:

Email: coordenacao.nit@ufrpe.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): FILTRO BIOLÓGICO DE BIOMASSA FÚNGICA PARA TRATAMENTO POR BIOSSORÇÃO DE EFLuentes COM CARGA DE CORANTES E RESPECTIVO PROCESSO DE TRATAMENTO

Resumo: Esta invenção proporciona um filtro biológico que consiste na utilização de um cartucho, material filtrante ou refil de biomassa de fungos filamentosos, preferencialmente do gênero Aspergillus, para tratamento de efluentes coloridos através do processo de bioassorção. O cartucho permite o contato da biomassa com o efluente em quaisquer condições ambientais, independendo de viabilidade celular, num processo de até 120min para máxima descoloração e redução de toxicidade do efluente. A água tratada pode ser reciclada ou eliminada conforme legislação. Assim, a presente invenção fornece um método e um produto seguro, econômico, compacto, fácil de aplicar, rápido, sem liberação de subprodutos, e consequentemente, ecologicamente correto, para o problema do tratamento e disposição de efluentes industriais coloridos.

Figura a publicar: 3

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 06/12/2019 às 21:29, Petição 870190129661

Descrição detalhada da Invenção

[023] A presente invenção fornece um sistema filtrante ou filtro, composto por um cartucho, material filtrante ou refil biológico cujo processo utiliza da propriedade de biossorção da biomassa fúngica de espécies de fungos filamentosos, preferencialmente do gênero *Aspergillus*, para o tratamento de águas residuais que apresentam contaminação por corantes, permitindo o contato da biomassa com o efluente para o tempo de contato necessário para máxima descoloração e redução da toxicidade do efluente.

[024] A redução de cor e outros parâmetros do efluente ocorre pela biossorção de partículas de corante e outras substâncias orgânicas e inorgânicas do efluente, na parede celular do fungo. A biomassa fúngica é utilizada até o nível de saturação das células fúngicas para adsorção.

[025] As etapas do filtro, de acordo com a invenção, compreendem: a entrada do efluente bruto, um tratamento primário, um tratamento secundário e a saída do efluente tratado, como pode ser observado na figura 1.

[026] Figura 1 Processo do Biofiltro para tratamento de efluentes têxteis.

Inicialmente, o biofiltro recebe o efluente bruto armazenado, podendo compreender o uso de uma bomba acoplada para aumento de vazão, promove a distribuição e homogeneização do efluente no sistema de tratamento de acordo com sua capacidade. Em seguida, compreende uma etapa de tratamento onde a filtração do efluente a ser tratado é realizada (tratamento primário). Trata-se de uma etapa de pré-filtragem, encarregada de remover os componentes sólidos dispostos no efluente através de um pré-filtro de areia, onde os resíduos sólidos podem ser manipulados. Posteriormente, o efluente previamente tratado é transportado para uma etapa de filtragem biológica (tratamento secundário) onde entra em contato com um meio filtrante biológico (biomassa fúngica). Esta unidade de tratamento biológica é composta por um compartimento que abriga a biomassa, a qual permite a biossorção do corante presente no efluente. Por fim, o efluente tratado é liberado, podendo ser reutilizado, uma vez que não apresenta cor ou toxicidade.

[027] Para o processo de tratamento foram seguidas as etapas de preparação da biomassa (crescimento, secagem e pesagem) e biotratamento (aplicação da biomassa pesada no efluente industrial colorido), permitindo o contato da biomassa com o efluente por até 2 horas, observando-se o tempo de contato necessário para máxima descoloração do efluente.

[028] A presente invenção é melhor descrita de acordo com os exemplos a seguir:

Exemplo 1: Inóculo e preparação da biomassa

[029] Os fungos foram inoculados em tubos de ensaio contendo meio *Czapek Dox Agar* (Himedia®), incubados a 30°C durante 120 horas. Após completamente esporulados, foram inoculados em *enlenmeyers* de 250ml contendo 80ml de caldo glicosado (10g/L de extrato de carne, 3g/L de peptona e 20g/L de glicose) e incubados a 30°C em agitação (120 RPM) durante 96 horas.

[030] A biomassa obtida foi seca em bomba à vácuo e pesada em balança analítica, para mensurar a quantidade de biomassa a ser utilizada para o tratamento do efluente. Após a pesagem, essa biomassa foi reidratada em 90ml de água deionizada sob agitação a 120RPM por pelo menos 15min, e feitos ensaios de descoloração com diferentes corantes industriais nas concentrações de 50mg/L, 150mg/L e 300mg/L. Para isso, foram adicionados 10ml de solução corante aos frascos contendo a biomassa reidratada, o processo foi monitorado a cada 10 minutos durante a primeira hora e a cada 30min durante a segunda hora. Terminado o tempo de monitoramento, o corante foi retroalimentado, para medir a saturação do fungo em descolorir a solução, também monitorados durante 2h. Assim, a cada retroalimentação a concentração foi dobrada, utilizando-se concentrações acima de 1g/L.

[031] O processo foi repetido ainda, com efluentes contaminados com corantes, utilizando a biomassa seca, independendo de viabilidade celular ou condições ambientais. Para o tratamento a biomassa seca e pesada foi colocada num frasco tipo *erlenmeyer* e foram adicionados 100mL do efluente. A descoloração do efluente foi observada no processo de 120min e o biotratamento foi acompanhado por 120h, observando variáveis como pH, temperatura, carbono total e outras.

Exemplo 2: Processo em biorreator

[032] Após otimização do processo descrito, a etapa de preparação da biomassa passou por um escalonamento, e passou a ser produzida em biorreator, para incorporação no filtro biológico. Para o inóculo em biorreator, os espo'ros foram primeiramente inoculados em *enlenmeyers* de 250ml contendo 80ml de caldo glicosado e incubados a 30°C em agitação (120 RPM) durante 24 horas. Posteriormente, esse fermentado foi inserido em biorreator num volume final de 800ml de caldo glicosado, aeração de 1 ATM, temperatura de 25°C e agitação de 300 RPM durante 24h, produzindo-se aproximadamente 60g a cada fermentação. A biomassa produzida por escalonamento foi acondicionada em um compartimento no interior do filtro.

[033] A otimização dos parâmetros do processo de descoloração do efluente têxtil utilizando biomassa fúngica mostra forte propriedade de adsorção para as partículas de cor e pode adsorver a cor do efluente sem necessidade de qualquer diluição, assim como pôde reduzir alguns parâmetros importantes de poluição.

Exemplo 3: Análise dos resultados

[034] Para análise da descoloração do efluente em todos os ensaios foi feita a varredura espectral, a partir do espectrofotômetro Ultrospec 7000 (entre os comprimentos de onda de $\lambda = 330\text{-}1000\text{ nm}$ e utilizando água destilada como referência). Os resultados foram expressos em porcentagem de descoloração.

[035] As análises de descoloração foram feitas de acordo com a fórmula segundo Govindwar e colaboradores, 2014:

$$\text{Descoloração (\%)} = [(A_i - A_f) / A_i] \times 100$$

Com A_i sendo a absorbância inicial da amostra e A_f a absorbância ao longo do tempo ou a absorbância final.

[036] Os resultados visuais das descolorações de corantes e de efluentes podem ser observados nas Figuras 2, 3 e 4.

[037] Figura 2 Descoloração do corante azo *Direct Black 22* em concentração 50mg.L⁻¹. a – Descoloração com o fungo *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 em 75 minutos; b - Descoloração com o fungo *Aspergillus niger* URM 5838 em 120 minutos.

[038] Figura 3 Descoloração de corantes industriais, obtidos justo as lavanderias de Caruaru, Pernambuco, Brasil, com o fungo *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279 em concentração 50mg.L⁻¹, em 60min, com biomassa viva. a - 78GR Turquesa – Corafix; b - Amarelo Coralin BR (Reativo) – Coratex; c - Vermelho Coralin BR (Reativo) – Coratex.

[039] Figura 4 Descoloração de efluente têxtil de lavanderia de Toritama, Pernambuco, Brasil, com o fungo *Aspergillus niger* URM 5838 em 120 minutos.

[040] As análises das descolorações podem ser observadas nas Figuras 5 e 6.

[041] Figura 5 Descoloração do corante azo *Direct Black 22* em concentração 50mg.L⁻¹ com o fungo *Aspergillus japonicus* URM 5620, com diferentes massas, em 120 minutos. a – Primeira Descoloração; b – Primeira reutilização da biomassa e retroalimentação de corante; c – Segunda reutilização da biomassa e retroalimentação de corante.

[041] Figura 6 Descoloração do corante azo *Direct Black 22* com os fungos *Aspergillus japonicus* URM 5620, *Aspergillus niger* URM 5741 e *Aspergillus niger* URM 5838, em concentração 50mg.L⁻¹(a), 150mg.L⁻¹(b) e 300mg.L⁻¹(c) em 120 minutos, com 200mg de biomassa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que o fungo *Aspergillus tamarii* Kita pode ser bem adequado para potenciais aplicações no processo de biorremediação de efluentes têxteis. DB22 e Direct Marine 2R puderam ser efetivamente descoloridos por *Aspergillus tamarii* Kita em 75 min e 15 min, respectivamente. Parâmetros físico-químicos como concentração, agitação e tipo do corante tiveram efeito significativo na descoloração do corante. Foi constatado que com o aumento da concentração do corante, maior o intervalo de tempo para descoloração. A descoloração máxima do Direct Black 22 (DB22) foi de 100%, 97% e 63% no intervalo de tempo de 75 min, 180 min e 180 min, respectivamente quando a concentração foi de 50mg/L, 125mg/L e 250mg/L, respectivamente, sob agitação (120RPM). 100%, 79% e 43% de DB22 puderam ser descoloridos por *Aspergillus tamarii* Kita em 180 min quando as respectivas concentrações de corante foram 50mg/L, 125mg/L e 250mg/L, sob condições estáticas. Além disso, pôde ser observado que tanto a biomassa viva quanto a biomassa morta do *Aspergillus tamarii* Kita puderam descolorir os corantes. 41% e 97% do DB22 a 125mg/L puderam ser descoloridos após o tratamento com biomassa de *Aspergillus tamarii* Kita morta e viva, respectivamente. Em relação ao corante Direct Marine 2R, a descoloração máxima verificada foi de 100% com o tratamento fúngico durando 15 minutos, quando utilizado 4 e 6 gramas de biomassa na condição viva. A melhor condição obtida utilizando 2 gramas de biomassa, foi de 97%, em apenas 15 minutos de experimento, utilizando a biomassa morta. O *Aspergillus tamarii* Kita demonstrou grande performance na descoloração ao reutilizar a biomassa. Ambas as condições (vivo/morto) demonstraram eficiência máxima na descoloração do corante nos 15 primeiros minutos dos ensaios com as distintas quantidades de biomassa. No geral, nossas descobertas forneceram uma base teórica e um potencial candidato para a aplicação prática da biorremediação em efluentes têxteis, corroborando como uma importante ferramenta mitigadora dos impactos causados pelo lançamento de forma inadequada de efluentes têxteis, possibilitando a reutilização de água do setor, beneficiando, não somente o meio ambiente, como também as indústrias, que ao fazer o reuso, reduzem custos com a obtenção da água, favorecendo assim, o Estado de Pernambuco no âmbito da saúde pública, ciência,

educação, economia e social como também difusão do conhecimento científico com fortalecimento da Universidade.