

Eixo Temático - ET-09-007 - Biologia Aplicada

## REMOÇÃO DO CORANTE REMAZOL BLACK B POR USO DA LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* COMO BIOSORVENTE

Rayanne Gleyce Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, Anastássia Mariáh Nunes de Oliveira Lima<sup>2</sup>,  
Léa Elias Mendes Carneiro Zaidan<sup>3</sup>, Rosana Maria da Conceição Silva<sup>2</sup>,  
Andressa Nathally Rocha Leal<sup>3</sup>, Diego Santa Clara Marques<sup>2</sup>, Cléber José da Silva<sup>2</sup>,  
Amanda Maria da Silva<sup>2</sup>, Laís Ludmila de Albuquerque Nerys<sup>2</sup>,  
Iranildo José da Cruz Filho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade Frassinetti do Recife (FAFIRE), Centro de Ciências Biológicas, PE.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Antibióticos, PE.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Engenharia Química.

### RESUMO

Devido ao crescimento da indústria têxtil os corantes vêm sendo amplamente utilizados. Porém, estes também são objetos de grande preocupação, pois podem gerar danos ao meio ambiente. Desse modo, desenvolver técnicas para remoção de corantes se faz necessário, a fim de evitar a contaminação de corpos hídricos. Dentre as técnicas existentes, a biossorção destaca-se por apresentar maior eficiência na remoção da cor e ter um custo relativamente baixo. Os ensaios de remoção foram realizados utilizando a biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* como material biossorvente e, para esse propósito, foi realizado um planejamento fatorial completo de 2<sup>2</sup>, onde foi avaliada a quantidade de material biossorvente (0,5; 1,5 e 2,5g) e pH (2,0; 5,5 e 9,0) do efluente. Para cada ensaio, o sistema foi mantido a 30°C, por 12h, 150 rpm e 100mL de solução de Remazol Black B numa concentração de 25 mg·L<sup>-1</sup> foi utilizada. Os resultados mostraram que em condições de menor valor de pH e quantidade de biomassa tem-se a maior remoção do Remazol Black B. O valor máximo de remoção obtido foi de 87,40%, revelando que a biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* pode ser considerada como uma alternativa promissora para a remoção de corantes em efluentes.

**Palavras-chave:** Preservação ambiental; Tratamento de efluentes; Corantes.

### INTRODUÇÃO

As empresas do setor têxtil destacam-se por consumir um grande volume de água no processo de tinturaria. Devido ao crescimento do setor industrial, é cada vez maior o número de contaminantes introduzidos no meio ambiente sem passar por algum tipo de tratamento. O lançamento dos efluentes gerados em cursos hídricos causa desequilíbrio dos ecossistemas existentes (NETO, 2014).

De acordo com a Resolução CONAMA nº 430/2011, os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos hídricos após o devido tratamento, e que não apresentem efeitos tóxicos (BRASIL, 2011). Logo, tecnologias destinadas à remoção da cor são medidas importantes, pois são destinadas ao controle da poluição do meio ambiente.

Os corantes sintéticos são um dos principais produtos químicos utilizados na indústria têxtil para o tingimento de tecidos. Por possuírem estruturas complexas, a biodegradabilidade e toxicidade dessas moléculas são fatores que dificultam o

tratamento do efluente (CUNHA, 2014). Muitas tecnologias para tratamento de águas visando à remoção de corantes vêm sendo desenvolvidas. Dentre os processos mais utilizados para remoção de corantes destacam-se: coagulação/floculação, remoção biológica, floculação e adsorção. Contudo, muitas destas técnicas exigem um alto investimento e não apresentam eficiência esperada (ANTUNES et al., 2010).

Diante deste problema, tecnologias são desenvolvidas ou melhoradas para remover a cor dos efluentes têxteis. A biossorção é um método utilizado na redução de poluentes presentes em efluentes líquidos. É um processo passivo, rápido, reversível e independente de energia metabólica, realizado tanto por biomassa viva quanto por biomassa morta (GADD, 1993; GOMES et al. 1998). A estrutura da parede celular de algas, fungos e bactérias é o agente responsável por este fenômeno. Dentre os mecanismos envolvidos na biossorção, destacam-se troca iônica, adsorção, complexação, precipitação e cristalização (GADD, 1993).

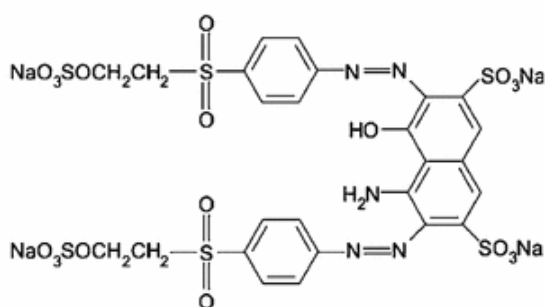
A remoção de corantes utilizando matéria-prima natural (biossorventes) se sobressai dentre as demais técnicas por apresentar baixo custo operacional e possível seletividade. Dentre os materiais usados como biomassa estão micro-organismos e os vegetais, devido à abundância. A eficiência do processo irá depender do pH da solução, da concentração do corante em solução e da composição do efluente, dentre outros fatores (PINO; TOREM, 2011).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a remoção do corante Remazol Black B através do processo de biossorção utilizando a biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* como biossorvente a fim de propor uma alternativa de material que auxilie na remoção da cor de efluentes têxteis.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Corante

O corante utilizado foi o Remazol Black B (RBB) (Figura 1), cuja massa e a fórmula molecular são  $991,816117 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  e  $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{Na}_4\text{O}_{19}\text{S}_6$ , respectivamente. Apresenta comprimento de onda máximo de absorção na faixa de 597 nm (Al-Degs, 2000).



**Figura 1** Estrutura molecular do corante Remazol Black B.

### Estudo da estabilidade do corante em água

A avaliação estabilidade do corante (em relação ao tempo) foi realizada através de uma solução de corante numa concentração  $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Para esse estudo foi utilizado 100 mL de solução nas seguintes condições:  $30^\circ\text{C}$ , 170 rpm, por 240 minutos, durante

este intervalo de tempo alíquotas de 3,0 mL foram analisadas em espectrofotômetro num comprimento de onda de 597 nm.

#### **Biossorvente: levedura *Saccharomyces cerevisiae***

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* desidratada da marca Dr. Oettker, foi obtida no Mercado público localizado no município do Jaboatão dos Guararapes PE. O pó de leveduras estava numa granulação de 100 µm.

#### **Caracterização química dos grupos funcionais das leveduras por Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

Para visualização dos grupos funcionais pertencentes às leveduras em estudo, foi empregada a técnica de Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em infravermelho (Bruker IFS66). Pastilhas de KBr foram preparadas, a partir de maceração de 200 mg de KBr e 2 mg de amostra, em um almofariz Gral de ágata. Em seguida, a mistura foi colocada em um molde pastilhador de aço inoxidável, o qual foi submetido a vácuo durante 5 min e pressionado até  $15 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ , para a formação da pastilha. Os espectros foram obtidos na região de 4000 a  $400 \text{ cm}^{-1}$ . O espectro foi obtido utilizando o software Spectrus Processor (ACD LABS).

#### **Avaliação do processo de biossorção: Planejamento Experimental:**

Para avaliar o processo de remoção do corante RBB em água, empregou-se a técnica de planejamento fatorial em dois níveis de variação. Esta metodologia utiliza ferramentas estatísticas para avaliar a eficiência de um sistema e consiste em se organizar as variáveis estudadas, em uma série de experimentos, variando-as em níveis altos (+1), níveis baixos (-1) e ponto médio (0). Dessa forma, foi realizado um planejamento fatorial  $2^2$  completos, totalizando, assim, 7 experimentos, sendo três pontos centrais seguindo a matriz proposta por Barros Neto e colaboradores (1996). As variáveis estudadas foram: o pH das soluções de corante 2,0; 5,5 e 9,0 (-1, 0 e +1) e a quantidade de biossorvente 0,5; 1,5 e 2,5 g (-1, 0 e +1). O processo foi realizado a 30 °C, 150 rpm e 100 mL de volume reacional por 12 h.

Os experimentos foram realizados em ordem aleatória e a resposta foi avaliada em função do percentual de remoção R (%) calculado pela Equação  $R (\%) = [(C_0 - C_f) / C_0] \times 100$ . Onde:  $C_0$  é a concentração inicial de RBB e  $C_f$  é a concentração de RBB ao final do processo ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )

A concentração residual do corante na solução no início e após o processo de biossorção, foi avaliada por espectrofotometria através da leitura da absorbância a 597 nm a 30°C, convertida em  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  através de uma curva analítica na faixa de 25 a  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  tendo água destilada como o branco. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica® 8.0.

#### **Ensaio de Fitotoxicidade em sementes de alface**

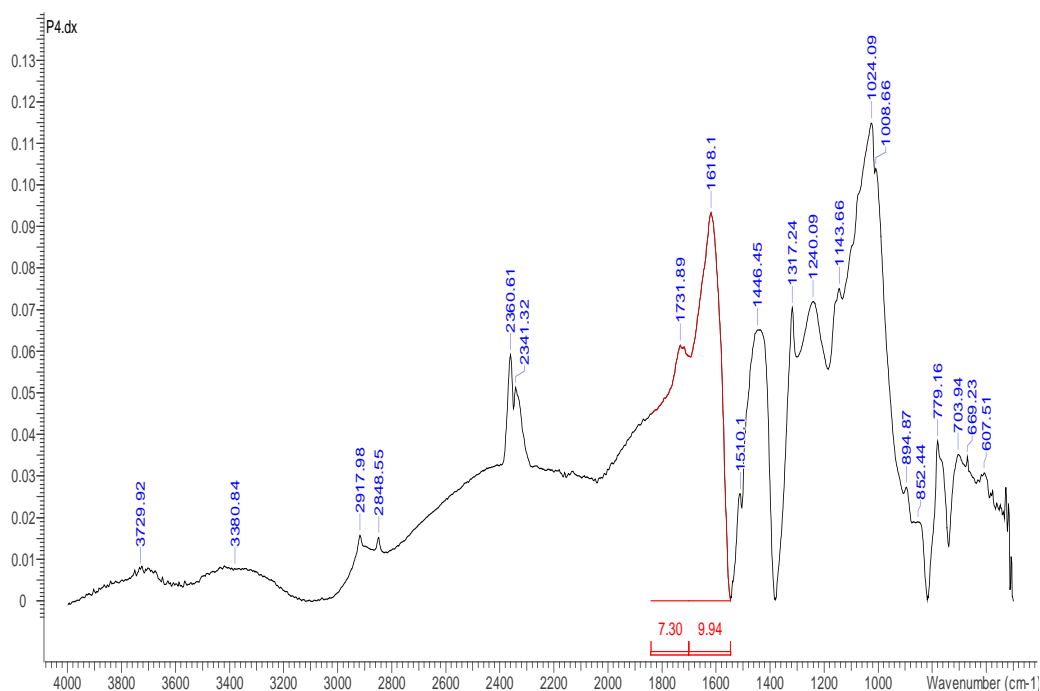
Os ensaios de fitotoxicidade foram realizados conforme metodologia proposta por Tiquia et al. (1996) com modificações. Foram utilizadas placas de Petri ( $\phi = 9 \text{ cm}$ ) contendo papel de filtro qualitativo e dez sementes de alface (*Lactuca sativa L.*), este sistema foi inoculado com 2mL da solução residual obtida na melhor condição de remoção. A solução obtida no melhor ensaio de remoção foi filtrada em membrana 0,22µm. As placas foram cobertas com filme PVC transparente, para evitar perda da umidade e em seguida foram acondicionadas em temperatura ambiente. Os ensaios

foram realizados em duplicata. Após 120 horas (5 dias) de acondicionamento foi avaliado de forma qualitativa o crescimento das sementes frente a solução residual. Foi utilizada água destilada como controle positivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### FTIR da biomassa microbiana

A Figura 2 mostra o espectro de FTIR para a biomassa de *Saccharomyces cerevisiae* antes da biossorção. As bandas foram determinadas por Mitter, (2012) e Stafussa, (2014).



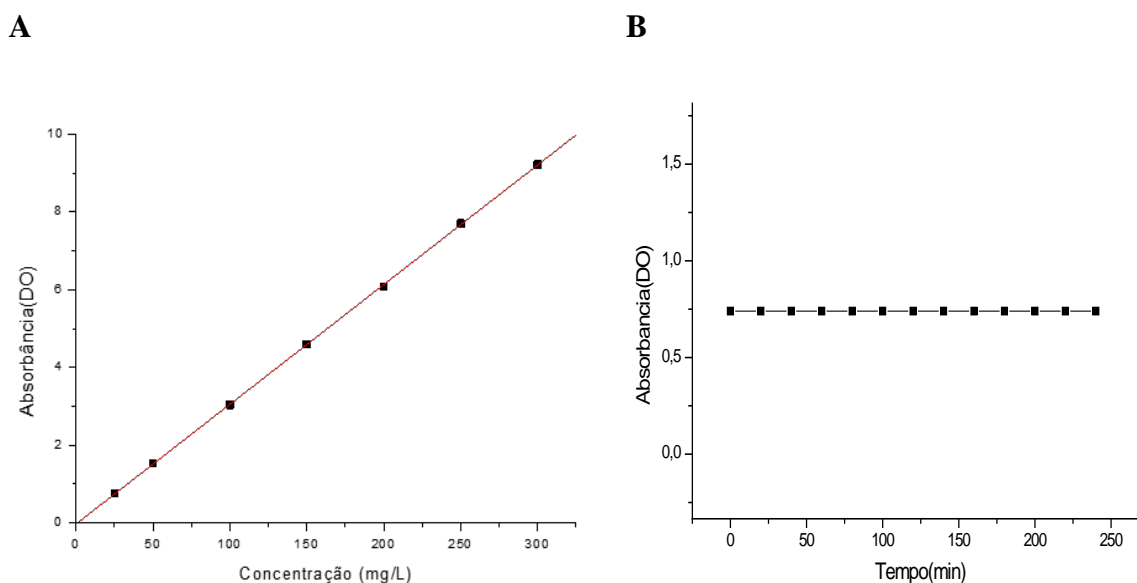
**Figura 2** Espectro de infravermelho da *Saccharomyces cerevisiae* antes do processo de biossorção.

O espectro apresenta uma banda larga no comprimento de onda  $3330\text{ cm}^{-1}$ , representando a deformação axial de grupos amino (N-H) presentes na estrutura e a vibração de hidroxilas de carboidratos (normalmente detectadas na faixa entre  $3200$  e  $3800\text{ cm}^{-1}$ ). A banda apresentada em  $2917\text{ cm}^{-1}$  corresponde à deformação axial de carbonos primários e secundários alifáticos. Em  $1618\text{ cm}^{-1}$  há a detecção da deformação axial de carbonos do grupo C-N e ao dobramento de amins primárias. As bandas observadas em  $1537\text{ cm}^{-1}$  têm correspondência com o estiramento das duplas ligações de carbono (C=C) e dobramento de amidas secundárias. As bandas observadas em  $1024\text{ cm}^{-1}$  são originadas das ligações  $\sigma$  do anel aromático.

### Curva analítica e estudo de estabilidade do corante em solução aquosa

Os valores de absorvância para cada uma das concentrações de Remazol Black B analisadas são mostrados na Figura 3A. Os resultados obtidos são similares aos encontrados por Cruz et al. (2016). A regressão linear dos dados experimentais apresentou um coeficiente de determinação satisfatório ( $R^2 = 0,99996$ ), o que valida, portanto, a expressão matemática obtida para representar a relação entre a absorvância e a concentração do soluto. A Equação obtida foi  $y = -0,0221 + 0,03077 X$ , onde: y

representa a absorvância da solução,  $-0,0221$  o coeficiente linear da reta e  $0,03077$  o coeficiente angular da reta (que representa a absorvidade molar do corante) e  $X$  é a concentração da solução em  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .



**Figura 3.** Curva analítica para o corante remazol black B (A). Estudo de estabilidade do corante RBB (Absorbância x Tempo) (B).

O estudo da estabilidade (Figura 3B) do corante tem como objetivo avaliar por quanto tempo o RBB se mantém estável durante o experimento. Os valores obtidos relacionam a variação da absorvância ao longo do tempo em uma solução aquosa do corante Remazol Black B (RBB) na concentração de  $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , a  $30^\circ\text{C}$  (Figura 3B).

Os resultados obtidos, como mostrado na Figura 3B, demonstram pequena variação na absorvância registrada, não havendo alteração significativa na estrutura do corante. Isto ocorre porque os compostos azóicos são encontrados na forma de tautômero hidrazo, sua forma mais estável. Segundo Guaratini e Zanoni (2000) a presença da hidroxila (OH) na posição orto em relação ao grupo azo, confere à molécula de RBB uma forte ligação de hidrogênio, assistida por ressonância, gerando um isômero com alta estabilidade em solução. Já a resistência da coloração em fibras celulósicas é devida à presença de um grupo eletrolítico no RBB capaz de formar ligação covalente com grupos hidroxila dessas fibras, conferindo maior estabilidade da cor no tecido tingido.

#### Planejamento experimental

Os resultados obtidos no estudo de remoção do RBB estão apresentados na Tabela 1 e foram analisados por meio do software Statistica® 8.0. No planejamento em questão, adotou-se um nível de significância de 95%, ou seja, foram considerados significativos os parâmetros com valores de  $p < 0,05$ .

**Tabela 1.** Matriz do planejamento experimental fatorial com os resultados do percentual de remoção obtidos durante o processo.

Ensaio	pH	BIOSSORVENTE (g)	R = (%)
E1	2 (-)	0,5 (-)	87,40%
E4	9 (+)	0,5 (-)	65,44%
E3	2 (-)	2,5 (+)	47,84%
E2	9 (+)	2,5 (+)	48,88%
E5	5,5 (0)	1,5 (0)	60,24%
E6	5,5 (0)	1,5 (0)	62,99%
E7	5,5 (0)	1,5 (0)	63,54%

Analisando a Tabela 1, observa-se que o maior valor para o percentual de remoção foi de 87,40% e se deu no Experimento 1. O experimento 3 apresentou o menor valor de remoção 47,84%. Observa-se também que os pontos centrais para a resposta apresentaram uma pequena variação da porcentagem, o que indica uma boa reprodutibilidade do processo (BARROS NETO et al., 2007). Os resultados foram obtidos a partir da análise de resíduos e a qualidade do ajuste do modelo baseada na ANOVA de acordo com a Tabela 2.

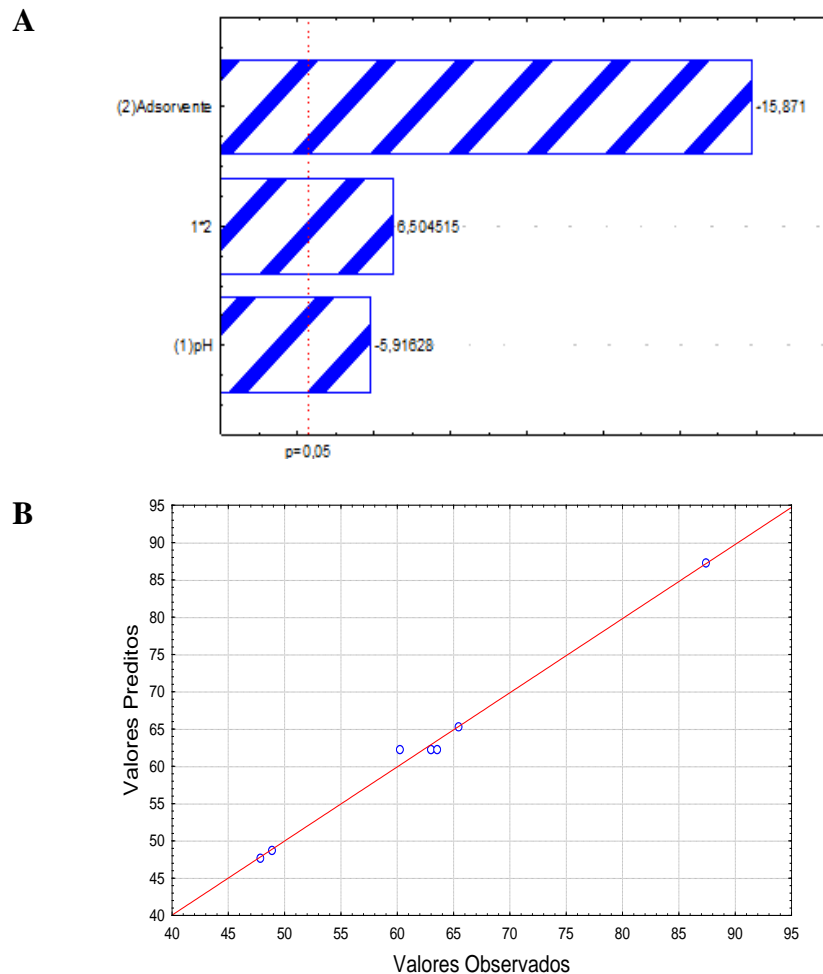
**Tabela 2** Teste da análise de variância do modelo previsto para os valores de remoção (%) ao nível de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

	Fonte	Soma	Nº de	Média	F	F
	variação	quadrática	g. l.	quadrática	Calculado	tabelado
Remoção (%)	Regressão	1.029,025	3	343,008	450,931	9,28
	Resíduos	6,282	3	0,761		
	Falta de ajuste	0,030	1	0,030	0,0096	18,51
	Erro puro	6,252	2	3,126		
	Total	1.035,307	6			
	% Variação explicada:		99,393%			
% Máxima de variação explicada:		99,396%				

A soma quadrática residual (6,282) foi obtida somando-se o erro puro (0,030) com a falta de ajuste (6,252). A soma quadrática da regressão (1.029,025) é calculada pela diferença entre a soma quadrática total (1033,025) e a soma quadrática residual (6,282). A média quadrática residual (0,761) e da regressão (343,008) foram calculadas pela divisão da soma quadrática residual e da regressão e seus respectivos graus de liberdade (3 e 3). O valor estatístico do teste F de Fischer é a razão entre a média quadrática da regressão e a média quadrática residual. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) fornece uma medida da proporção da variação, explicada pela equação de regressão em relação à variação das respostas (Barros Neto et al., 2007). A porcentagem de variação explicada pela regressão foi dada pela razão entre a soma quadrática devido à regressão e a soma quadrática total (99,393%). A diferença entre o valor da porcentagem da variação explicada (99,393%) e o valor da porcentagem máxima de variação explicável (99,396%) foi de 0,030%, esta diferença é considerada pequena,

dessa maneira indicando que houve um bom ajuste do modelo.

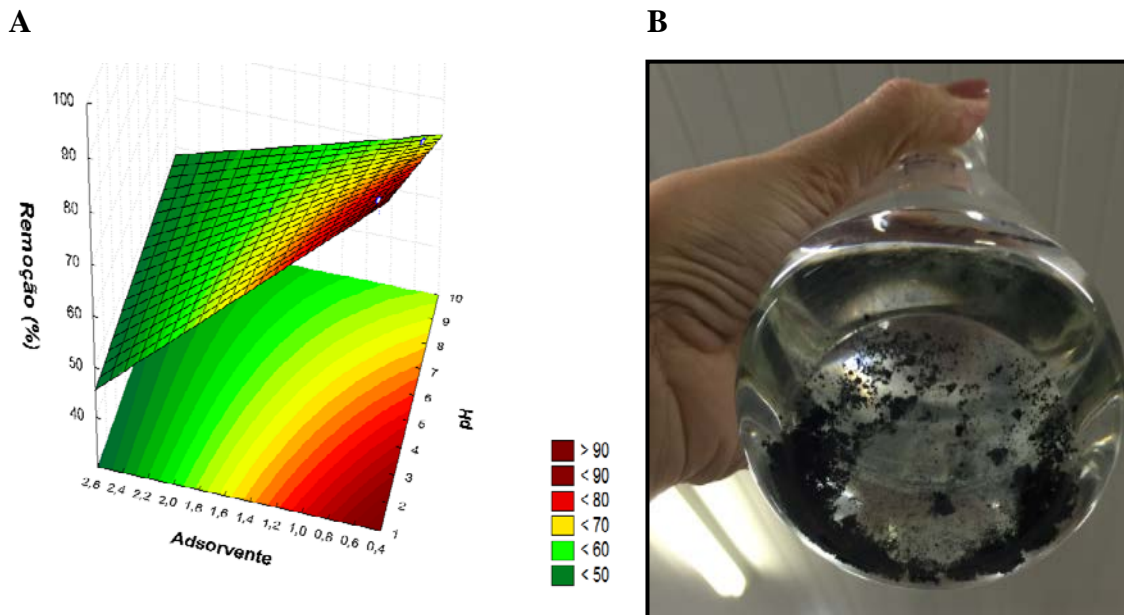
O valor de F calculado (450,931) para a regressão deve ser pelo menos 3 vezes maior que o valor de F tabelado (9,28), valor crítico referente ao teste, indicando assim a validade estatística do modelo, assim rejeita-se a hipótese nula do teste F, e as diferentes condições de processo apresentaram resultados médios iguais entre si (Barros Neto et al., 2007). A Figura 4 mostra o diagrama de Pareto e o gráfico de preditos x observados.



**Figura 4** Diagrama de Pareto de planejamento fatorial de  $2^2$ . Linha tracejada indica o valor no nível de significância de 5% (A). Diagrama de preditos versus observados onde a linha vermelha representa o modelo matemático para dispersão (B).

Na Figura 4A, tem-se o diagrama de Pareto para o RBB o qual mostra a significância dos efeitos, com 95% de confiança, representado pela linha tracejada vermelha, correspondente ao valor de  $p=0,05$  o diagrama confirma os resultados obtidos na Tabela 1. Analisando a Figura 4B, observa-se que os valores calculados estão distribuídos uniformemente na linha de tendência, o que indica que os desvios negativos e positivos estão na mesma proporção, não possuindo um comportamento tendencioso. O uso do planejamento fatorial completo  $2^2$  no processo de remoção foi importante para obter as melhores condições e, conseqüentemente, uma maior eficiência.

A Figura 5 mostra o gráfico de superfície de resposta, na qual é possível verificar comparativamente a influência das variáveis (pH e quantidade de biossorbente) na remoção do RBB, corroborando com os resultados observados no Diagrama de Pareto. As regiões onde o percentual de remoção é maior são representadas pelas regiões vermelhas, enquanto as verdes apresentam os menores valores para a variável considerada, essa análise é útil para se entender as melhores condições do processo. A Figura 5B mostra o resultado obtido ao final do processo.

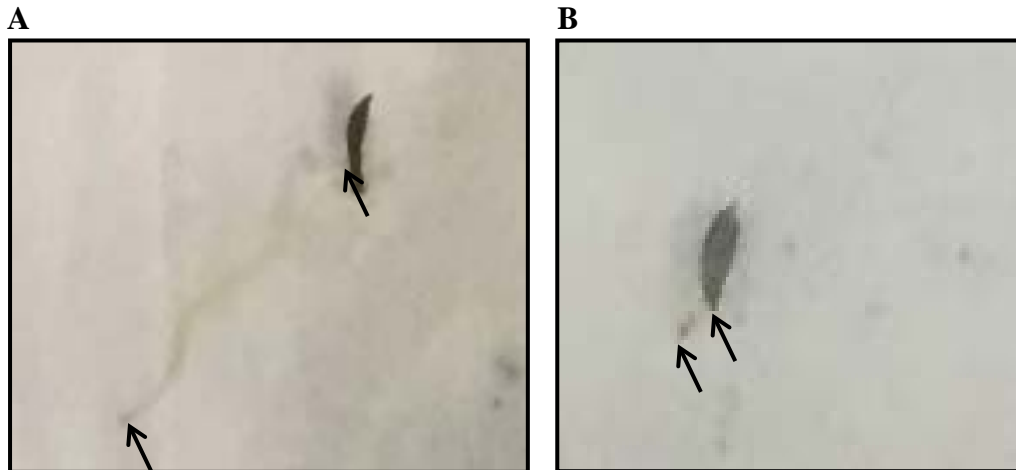


**Figura 5.** Superfície de resposta da interação entre o pH e a quantidade de biossorbente tendo como resposta a remoção do RBB (A). Resultado obtido no final da biossorção para o ensaio E1 (B).

#### **Ensaio de fitotoxicidade da água residual frente a sementes de alface**

O ensaio de fitotoxicidade foi realizado para se verificar os efeitos da solução de corante após o processo, frente ao crescimento das sementes. A planta escolhida foi a alface (*Lactuca Sativa*), pois além de ter fácil manipulação, apresenta vantagens como maior sensibilidade ao estresse ambiental. Após o tempo necessário para a germinação das sementes, observou-se que houve crescimento da radícula (Figura 6).





**Figura 6** Crescimento da radícula em água (A) e na solução depois do tratamento (B), respectivamente.

Segundo Camargo et al. (2004), o crescimento da radícula em sementes de vegetais pode ser considerado como parâmetro de grande sensibilidade a um agente fitotóxico e pode ser afetado por condições ambientais, como: pH, temperatura, salinidade e presença de metais. Mas, é importante destacar que, apesar de algumas plantas fornecerem evidências dos efeitos tóxicos de efluentes e sedimentos contaminados, as condições do meio como, por exemplo, a disponibilidade de nutrientes, podem afetar nesse tipo de análise.

## CONCLUSÃO

Os experimentos realizados ao longo do trabalho e as discussões dos resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões: em pH ácido tem-se uma melhor remoção do RBB. A melhor condição experimental de remoção foi em pH 2,0, agitação de 150 rpm, na concentração de  $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , temperatura de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  em 12h com 0,5 g de biomassa, gerando uma taxa de remoção de 87,40%. O presente estudo permitiu concluir, através do planejamento experimental, que a diminuição do pH e da quantidade de biossorbente favorecem o processo de remoção. Ademais, a utilização das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* representa uma tecnologia atrativamente econômica para tratamento de efluentes contaminados por corantes têxteis.

## REFERÊNCIAS

AL-DEGS, Y., KHRAISHEH, M. A. M., ALLEN, S. J., AHMAD, M. N. Effect of Carbon Surface Chemistry on the Removal of Reactive Dyes from Textile Effluent. **Water Research**, v. 34, n. 3, p. 927-935, 2000.

ANTUNES, M. L. P.; CAMARGO, S. R. G. de; JESUS, C. P. de; RUSSO, A. C. Estudo da utilização de serragem de madeira como adsorvente para tratamento de efluentes têxteis. **Revista de Estudos Ambientais**, v. 12, n. 2, p. 6-14, 2010.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4. ed. Campinas: UNICAMP, 2007. (Coleção Livros-Textos, 1).

BRASIL. Leis, decretos etc. **Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011**. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res11/propresol\\_lanceflue\\_30e31mar11.pdf](http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res11/propresol_lanceflue_30e31mar11.pdf)>. Acesso em: 26 jan. 2018.

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

CAÑIZARES, V. R. O. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 42, n. 3, p. 131-43, 2000.

CRUZ, I. J.; MARQUES, L. M.; SOUZA, K. C.; LIMA, V. F.; MARQUES, O. M.; NASCIMENTO JUNIOR, A. J. Remoção do corante Remazol Black B pelo uso da biomassa mista de *Aspergillus niger* e capim elefante (*Pennisetum purpureum schum*). **Engevista**, v. 18, n. 2, p. 265-279, 2016.

CUNHA, B. S. **Utilização de Biossorventes Alternativos na Remoção de Corantes Têxteis**. Trabalho de Conclusão de Curso. Medianeira, PR: UFTPR, 2014.

GADD, G.M. Interactions of fungi with toxic metals. **New Phytologist**, v. 124, p. 25-60, 1993.

GOMES, N. C. M.; MENDONÇA-HAGLER, L. C. S.; SAVVAIDIS, I. Metal bioremediation by microorganisms. **Revista de Microbiologia**, v. 29, p. 85-92, 1998.

GUARATINI, C. C.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, p. 71-78, 2000.

MITTER, E. K. **Utilização de Saccharomyces cerevisiae Imobilizada em Bagaço de Cana de Açúcar para a Biossorção e Biodegradação do Corante Acid Black 48**. 2012. 122 f. Dissertação - (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2012.

NETO, H. M. Tratamento de efluentes nas indústrias têxteis. **Revista TAE - Especializada em água e tratamento de efluentes**, n. 18, 2014.

PINO, G. H.; TOREM, L. M. Aspectos Fundamentais da Biossorção de Metais Não Ferrosos: Estudo de Caso. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Minereração**, v. 8, n. 1, p. 57-63, 2011.

STAFUSSA, A. P. **Antocianinas do Bagaço de Uva: Extração e Biossorção em Saccharomyces Cerevisiae**. Dissertação - (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, 2014.

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. **Environmental Pollution**, v. 93, p. 249-256, 1996.

VEGLIO, F.; ESPOSITO, A.; REVERBERI, A. P. Standardisation of heavy metal biosorption tests: equilibrium and modelling study. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 6, p. 953-61, 2003.