



XI SILUBESA

Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental

28/03 a 02/04/2004 - Natal - Rio Grande do Norte - Brasil

II-068 – BIORREMEDIAÇÃO E DIMINUIÇÃO DA TOXICIDADE DO CORANTE TÊXTIL PROCION RED HE7B POR *Aspergillus oryzae* PARAMORFOGÊNICO

Carlos Renato Corso⁽¹⁾

Prof. Adjunto do Departamento de Bioquímica e Microbiologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista. Livre Docente em Biofísica pela UNESP. Doutor em Ciências pela F.F.C.L. de Rio Claro/SP. Pesquisador e orientador no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – área de Microbiologia Aplicada – Linha de pesquisa em Despoluição Ambiental.

Gisele Jane de Jesus

Mestre em Ciências Biológicas – área de Microbiologia Aplicada – Universidade Estadual Paulista/IB/Rio Claro/SP. Bióloga pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul-UFMS/CEUD Dourados/MS. Doutoranda do Curso de Ciências Biológicas – área de Microbiologia Aplicada, pesquisa em Despoluição Ambiental.

Endereço⁽¹⁾: Av. 08, 1039 – Santa Cruz – Rio Claro – SP – CEP: 13500-440 – Tel.: (19) 3526-4178/ 3524-4010 – Fax: (19) 3526-4176

 crcorso@rc.unesp.br

RESUMO

Aspergillus oryzae paramórfico foi usado no estudo da biosorção com hifas esterilizadas e não esterilizadas, em diferentes valores de pH, para promover a remoção do corante por biosorção e a diminuição de sua toxicidade. O corante "Procion Red HE7B" foi analisado em pH 2,50; 4,50 e 6,50. A toxicidade foi determinada pelo método de Trimmed Spearman-Kärbe's usando *Daphnia similis* nos bioensaios. Este ensaio mostrou ser possível a diminuição da toxicidade à zero, adicionando-se pequenas quantidades de biomassa esterilizada e não esterilizada de *Aspergillus oryzae*. As biomassas autoclavadas se mostraram mais biosortivas do que as não autoclavadas.

PALAVRAS-CHAVE: Toxicidade, Corante Têxtil, *Aspergillus oryzae*, Paramorfogênese

INTRODUÇÃO

Os vários compostos orgânicos e por extensão os corantes, que são usados para tingimento podem provocar possíveis problemas ao meio ambiente. Uma grande variedade de substâncias derivadas de corantes foram testadas nas últimas décadas, na determinação de seus efeitos tóxicos "in vivo" em animais de laboratório, dados estes que algum modo podem ser transportados para os seres humanos.

Kundu et al., (1989), estudaram a toxicidade de corantes de efluentes de indústrias para o lagostim *Paraopenaopsis sculptilis* observando que a natureza físico-química do efluente causava uma mortalidade dos mesmos em uma concentração de apenas 1%. Castellen e Corso (1986), realizaram estudo da redução da toxicidade na interação entre turfa irradiada e não irradiada por ultra-som com os corantes "Direct Violet 23" e "Procion Red HE7b" e verificaram que estes tratamentos reduzem a concentração dos corantes em solução e diminuem a toxicidade deles em testes com *Daphnia similis*.

No presente estudo, hifas autoclavadas e não autoclavadas de *Aspergillus oryzae* foram utilizadas em diferentes valores de pH para se verificar a possibilidade de remoção do corante "Direct Violet 51" de solução aquosa e se estudar a possibilidade da diminuição de sua toxicidade em relação à *Daphnia similis*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção da forma paramorfogênica de *Aspergillus oryzae* obedeceu o método descrito por Marcanti *et al.* 1997, empregado para a produção de "pellets" de *Aspergillus niger*.

O corante foi dissolvido em água de cultivo aerada, em concentrações de 31,25 à 1000 m g/mL e pH de 2,50. Após foram colocadas em contato com *Daphnia similis* cultivadas de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Norma CETESB L 5.018 e através dos dados de imobilidade obtidos nos testes definitivos, determinou-se o LC₁₀₀ e o LC₅₀ em um período de 48 horas de exposição conforme estabelece o método de Trimmed Spearman-Kärber's (Hamilton et al 1977).

Amostras de *A. oryzae*, foram divididas em 2 lotes, sendo um ao natural e outro autoclavado, colocadas para os testes de biosorção, com concentração entre 0 a 30 mg/mL de biomassa, com pH ajustado para 2,50, 4,50 e 6,50. O corante foi adicionado com concentração inicial de 300,00 µ g/mL, após 120 minutos, o sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro.

A remoção de toxicidade foi realizada no limite tóxico do corante LC₁₀₀. As biomassas autoclavadas e não autoclavadas foram separadas em frações que variaram de 0 à 30 mg/mL (massa seca), e pH 2,50. O sobrenadante com o corante remanescente foi analisado em sua toxicidade.

RESULTADOS

Tabela 1. Bioensaios para teste de toxicidade do corante Direct Violet 51 com *Daphnia similis* (método de Trimmed Spearman-Kärber's)

Dados	unidade	1	2	3	4	5	6	7
concentração	m g/mL	31,25	62,50	125	250	300	500	1000
conc. Log _n	Ln	3,443	4,135	4,828	5,521	5,704	6,214	6,907
nº de Daphnia	Ne	20	20	20	20	20	20	20
nº mortalidade	Ni	0	3	7	17	20	20	20

Estimativa LC₅₀: 133,482± 29,148 - Intervalo de confiança de 95%

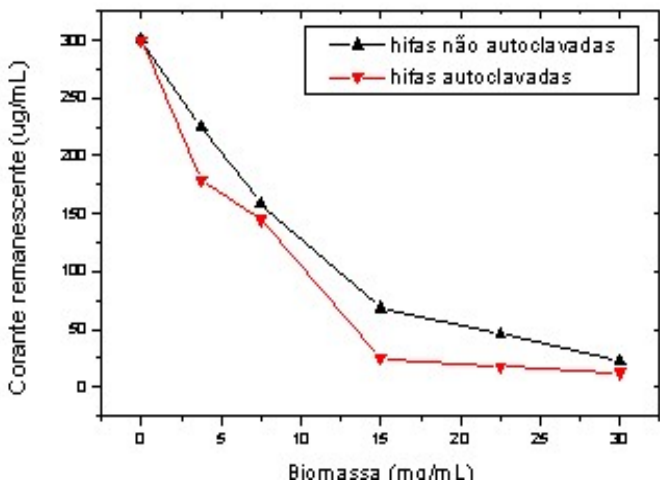


Figura 1: Interação biosortiva entre *Aspergillus oryzae* paramorfogênico não autoclavado e autoclavado e o corante "Procion Red HE7B" no pH 2,50, e à 30°C visando a remoção da toxicidade a partir da concentração Letal LC₁₀₀ (300µ g/mL) Tempo de equilíbrio: 120 minutos.

Autoclavada: Cr= 231,0432 +(-8,99885 x Biomassa) R=0,8962

Não autoclavada $Cr = 254,466 + (-8,977096 \times \text{Biomassa})$ $R = 0,9410$

Tabela 2: Estimativa da remoção total do corante "Procion Red HE7B", na concentração inicial de 300,00 mg/mL, pela forma paramorfofêgica não autoclavada e autoclavada de *Aspergillus oryzae* expressa em mg/mL de biomassa(massa seca) em diferentes valores de pH

"Procion Red HE7B"	pH	<i>A. oryzae</i> não autoclavada	<i>A. oryzae</i> autoclavada
1	2,50	28,37	25,67
2	4,50	31,67	29,43
3	6,50	39,66	33,35

Tabela 3: Bioensaios para teste de remoção de toxicidade do corante "Procion Red HE7B" em interação biosortiva com *Aspergillus oryzae* paramorfofêgica não autoclavada com a utilização de *Daphnia similis* (Método para calculo de Trimmed Spearman-Kärber)

Experimento	unidade	1	2	3	4	5	6
Concentração	μ g/mL	300	224,33	158,71	68,21	46,48	12,12
Conc.Log _n	Ln	5,703	5,413	5,067	4,222	3,839	2,494
Biomassa	mg/mL	0	3,75	7,50	15,00	22,50	30,00
nº de <i>Daphnia</i>	ne	20	20	20	20	20	20
nº de mortalidade	ni	20	16	13	9	1	0

Concentração de biomassa não autoclavada para atingir LC₅₀: 13,48 mg/mL

Tabela 4: Bioensaios para teste de remoção de toxicidade do corante "Procion Red HE7B" em interação biosortiva com *Aspergillus oryzae* paramorfofêgico autoclavada com a utilização de *Daphnia similis* (Método para calculo de Trimmed Spearman-Kärber)

Experimento	unidade	1	2	3	4	5	6
Concentração	μ g/mL	300	178,44	144,76	25,02	17,20	12,18
Conc.Log _n	Ln	5,704	5,184	4,975	3,219	2,844	2,499
Biomassa	mg/mL	0	3,75	7,50	15,00	22,50	30,00
nº de <i>Daphnia</i>	ne	20	20	20	20	20	20
nº de mortalidade	ni	20	14	11	6	0	0

Concentração de biomassa autoclavada para atingir LC₅₀: 10,84 mg/mL

DISCUSSÕES

Marcanti *et al* 1997, conseguiram a formação de "pellets" através de uma indução física com o *Aspergillus niger* com grande sucesso. Esta técnica foi utilizada no presente trabalho.

Castellen & Corso, 1996, realizaram estudo da redução da toxicidade na interação entre turfa irradiada e não irradiada

por ultra-som com os corantes Direct Red 23 e Procion Red HE7B e verificaram que estes tratamentos, reduzem a concentração dos corantes em solução e diminuem a toxicidade deles em testes com *Daphnia similis*.

A toxicologia ambiental é um estudo sobre os efeitos das substâncias tóxicas que se encontram nos ambientes naturais e nos ambientes construídos pelo homem. O controle destes efeitos no estado de São Paulo, Brasil, já está explicitado pela CETESB 1992, com a Norma nº L5.017 que indica também os tipos de análise estatísticas mais adequadas para se definir o grau de toxicidade de um determinado produto.

Em relação aos testes realizados neste trabalho, estes demonstraram que o "Procion Red HE7B", apresenta um LC₁₀₀ de 300,00 µg/mL e um LC₅₀ de 133,482 µg/mL (Tabela 1).

Os testes de biosorção em diferentes valores de pH entre o corante, "Procion Red HE7B", com a concentração inicial de 300 µg/mL, usando a forma paramorfofêgica de *Aspergillus oryzae* não autoclavada e autoclavada, indicaram que o pH mais ácido é o que melhor consegue remover estes corantes de solução aquosa e que os "pellets" autoclavados são mais eficientes que a biomassa fúngica viva

A partir do instante em que se definiu os LC₁₀₀ dos corantes estudados, foi elaborado um teste de interação entre biomassa não autoclavada e biomassa autoclavada de *Aspergillus oryzae* visando realizar um estudo sobre a efetiva remoção do grau de toxicidade dos corantes. O teor de biomassa a ser utilizado em tais experimentos foi estimado em função dos testes sobre o melhor pH biosortivo.

Foram traçados os perfis de remoção dos corantes, desde o limite de toxicidade (mortalidade de 100% dos organismos teste), passando pela concentração estimada para o LC₅₀ (concentração letal de 50%) e a seguir a concentração em que o corante não oferece toxicidade LC₀ (ausência de mortalidade), indo até a estimativa de biomassa para a remoção total do corante em solução.

CONCLUSÕES

Com estes resultados podemos verificar que para o corante "Procion Red HE7B", a concentração letal se dá a partir de 300,00 µg/mL e o seu LC₅₀ é de 133,482 µg/mL, indicando que o corante testado é tóxico, sendo que o melhor pH de remoção é de 2,50, e que estas biomassas, tanto a autoclavada como não autoclavada, promovem a remoção e a diminuição da toxicidade deste corante em solução aquosa, e que a biomassa autoclavada é mais efetiva na remoção do corante tendo maior poder adsorptivo que a não autoclavada, durante um tempo de contato de 120 minutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CASTELLEN, M. S. e CORSO, C. R. Estudo da toxicidade na interação entre turfa irradiada e não irradiada por ultra-som e corantes azóicos em solução aquosa Rio Claro, I.B. UNESP 1996 43p. *Monografia* (bacharelado em Ecologia).
2. CETESB Análise estatística de resultados de testes de toxicidade aguda in *Norma Cetesb L5.017*, São Paulo Ed. CETESB p.20, 1992.
3. HAMILTON, M.A., RUSSO, R. C., THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays in *Environmental Science & Technology*, v.11n.7 p.714-718, 1977.
4. KUNDU, R.; PRASAD, V. V. S.; MANSURI, A. P. Toxicity of dilutes dyeing and printing industry effluent to a penaeid prawn *Parapenaeopsis sculpsilis* Acta Hydrochi. Hydrobiology, v. 17, n. 1, p. 87-93, 1989.
5. MARCANTI - CONTATO, I., CORSO, C. R., OLIVEIRA, J. E. Induction of physical paramorphogenesis in *Aspergillus sp.* *Revista de Microbiologia* v.28,p. 65-67,1997.

AGRADECIMENTOS – FUNDUNESP, FAPESP, CNPq.