

FUNDAMENTOS DA BIOTECNOLOGIA APLICADA À REMOÇÃO DE COR DE ESGOTOS TÊXTEIS

André Bezerra dos Santos
andrebd@deha.ufc.br

Resumo

A presença de cor em corpos d' água pode ser o resultado de fatores ambientais, como a presença de substâncias húmicas ou de fatores antrópicos, como a descarga de esgotos contendo altas concentrações de corantes e pigmentos, os quais podem ser provenientes de indústrias como as químicas, farmacêuticas, de couro e têxteis. Devido aos riscos ecológicos e de saúde pública, os limites de emissão de esgotos industriais coloridos tem se tornado cada vez mais restritos. Assim, muitas pesquisas têm sido conduzidas na remoção de cor de esgotos, cujas possibilidades físico-químicas e biológicas variam consideravelmente em eficiência e custo. O tratamento biológico de esgotos coloridos é normalmente o menos dispendioso, no qual diferentes microrganismos a exemplo das bactérias aeróbias e anaeróbias, fungos e actinomicetos que possuem tais propriedades. A presente contribuição aborda os fundamentos da biotecnologia aplicada à remoção de cor, enfocando também alguns dos recentes avanços alcançados nos últimos anos.

Palavras-chave: remoção de cor, biotecnologia, corantes azo e mediadores redox

Abstract

The presence of colour in surface water can be either a result of different environmental factors such as presence of humic substances or a result of human activities like the discharge of wastewater containing high concentrations of dyes and pigments, coming from industries such as chemical, pharmaceuticals, leather and textile. Because of both ecological and public health risks, the wastewater emission limits have becoming more and more restrict. Therefore, many investigations using physical-chemical and biological methods have been conducted, in order to achieve colour removal from many industrial wastewaters, which efficiency and costs vary greatly among them. Colour removal by using biological treatment is usually the cheapest alternative, where different microorganisms like aerobic and anaerobic bacteria, fungi and actinomycetes have shown the ability to catalyze dye decolourisation. The current paper deals about the fundamentals of biotechnology applied on colour removal, focusing on the recent developments achieved in the last years.

Keywords: azo dyes, colour removal, textile wastewaters, redox mediators, anaerobic, aerobic, granular sludge. *Keywords: colour removal, biotechnology, azo dyes and redox mediators*

1. Aspectos ecológicos e de saúde pública dos esgotos têxteis

A indústria têxtil representa um importante setor da economia brasileira e mundial, tendo experimentado considerável crescimento nos últimos anos. Como consequência, essa indústria tem aumentado a produção de esgotos, sendo um potencial contribuinte à degradação do meio-ambiente. Uma enorme variedade de químicos, os quais causam um impacto negativo no meio-ambiente e na saúde pública, são lançados através do esgoto têxtil. Químicos tais como os alquís fenóis etoxilatos (presentes em detergentes e umectantes) são reportados como os causadores de distúrbios na reprodução de espécies aquáticas; juntamente com os agentes sequestrantes tais como os ácidos *Etilenodiaminotetracético* (EDTA) e *Dietilenotriaminopentacético* (DTPA), os quais são capazes de formar complexos com metais, afetando assim a sua bioavaliabilidade; e finalmente os

corantes e pigmentos, os quais são fabricados para serem resistentes a biodegradação, são exemplos de compostos perigosos presentes em esgotos têxteis (DEPA, 1997; HAO *et al.*, 2000). Particularmente o lançamento em corpos d'água de efluentes contendo altas concentrações de corantes é problemático não somente pela sua cor, a qual pode afetar a fotossíntese das algas, mas principalmente pelo fato de muitos desses corantes e seus produtos de degradação serem carcinogênicos (WEISBURGER, 2002). Sem um tratamento adequado os mesmos podem permanecer no meio-ambiente por longos períodos de tempo. Por exemplo, o tempo médio de degradação do corante hidrolisado Reactive Blue 19 é cerca de 46 anos a pH 7 e 25°C (HAO *et al.*, 2000). A presente contribuição se limitará apenas aos processos de remoção de cor de esgotos têxteis, mas é conveniente lembrar que a remoção de DQO e DBO desses esgotos também representa um desafio para os engenheiros sanitaristas.

Os efluentes dos processos de tingimento e de lavagem dos fios coloridos representam a maior fração colorida do esgoto têxtil. Tais efluentes são altamente coloridos devido aos corantes que não aderem às fibras nas operações de acabamento, cuja eficiência de fixação varia com a classe do corante utilizado. Por exemplo, para a classe dos corantes reativos (aplicados aos tecidos de algodão), cerca de 50% dos corantes aplicados são descartados nas águas residuárias. É estimado que 10⁹ kg de corantes são anualmente produzidos no mundo, dos quais 70% pertencem à classe dos corantes azo (%NP%N%) (ZOLLINGER, 1987). Juntamente com estes, outros corantes como os antraquinônicos (contém quinonas na sua estrutura) e ftalocianinos (contém metais) são amplamente utilizados (HAO *et al.*, 2000). Até o presente não há um único tipo de tratamento que seja eficiente e economicamente atraente que possa ser empregado nos processos de remoção de cor das estações de tratamento de esgotos das indústrias têxteis. Entretanto nos últimos anos, grandes progressos foram alcançados na área de biotecnologia ambiental aplicada à remoção de cor, no qual diferentes microrganismos a citar bactérias aeróbias e anaeróbias, fungos e actinomicetos se mostraram possuir tais propriedades (DOS SANTOS *et al.*, 2004b).

2. Processos biológicos de remoção de cor

2.1 Remoção de cor por microrganismos aeróbios

Bactéria

Os compostos aromáticos são susceptíveis à degradação biológica sob condições aeróbias e anaeróbias (FIELD *et al.*, 1995). Sob condições aeróbias, as enzimas mono e dioxigenases catalisam a incorporação do oxigênio molecular no anel aromático dos compostos orgânicos anteriormente a fissão do mesmo (MADIGAN *et al.*, 2003). Na maioria das monooxigenases, o doador de elétrons é o NADH ou NAD(P)H, muito embora a direta ligação para O₂ é através de uma flavina que é reduzida pelo NADH ou NAD(P)H, sendo os últimos os doadores primários de elétrons (MADIGAN *et al.*, 2003). Muito embora os corantes do tipo azo são compostos aromáticos, os seus substituintes contendo principalmente grupos nitrosos e sulfônicos são um tanto recalcitrante à degradação por bactérias aeróbias. Esse fato é provavelmente relacionado tanto com a natureza de retirada de elétrons dos corantes azo através do ataque das monooxigenases, como também ao fato de que o oxigênio é mais efetivo como receptor de elétrons do que o corante azo, portanto tendo preferência pelos elétrons gerados nos processos oxidativos (KNACKMUSS, 1996). Entretanto, na presença de enzimas específicas chamadas de azo-redutases algumas bactérias aeróbias são capazes de reduzir compostos do tipo azo e subseqüentemente produzirem as aminas aromáticas (STOLZ, 2001). Exemplos de azo-redutases aeróbias foram encontradas em espécies de *Pseudomonas* do tipo K22 e KF46 (ZIMMERMANN *et al.*, 1982; ZIMMERMANN *et al.*, 1984). Essas enzimas após purificação, caracterização e comparação se mostraram livres de flavina. As enzimas azo-redutases aeróbias eram capazes de usar NAD(P)H e NADH como cofatores e de reduzirem não somente os substratos carboxilados, mas também as estruturas sulfonadas análogas. Recentemente, BLÜMEL AND STOLZ (2003) clonaram e caracterizaram o código genético da enzima azo-redutase aeróbia obtida com o microrganismo *Pagmentiphaga kullae* K24. Esse organismo era capaz de crescer com o corante azo carboxilado 1-(4'-carboxyphenylazo)-4-naphtol como a única fonte de carbono e energia.

Fungos

A capacidade do fungo para reduzir corantes do tipo azo é relacionada com a formação de exo-enzimas tais como peroxidases e fenolxidasas. Peroxidases são hemo-proteínas que catalisam reações na presença de peróxido de hidrogênio (DURAN *et al.*, 2002). As peroxidases de lignina e manganês têm um mecanismo similar de reação que começa com a oxidação da enzima por H₂O₂ para um estado oxidado durante os seus ciclos catalíticos. Em seguida, em um mecanismo envolvendo duas transferências sucessivas de elétrons, determinados substratos como os corantes azo reduzem a enzima para a sua forma original (STOLZ, 2001). Dezoito espécies fúngicas capazes de degradar material ligninocelulósico ou derivados da lignina eram testados com os corantes azo Reactive Orange 96, Reactive Violet 5 e Reactive Black 5. Somente as espécies *Bjerkandera adusta*, *Trametes versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium* se mostraram capazes de remover a cor de todos os corantes azo (HEINFLING *et al.*, 1997). Embora as peroxidases de lignina são capazes de oxidar compostos aromáticos fenólicos e não fenólicos, as peroxidases de manganês devem primeiramente converter Mn⁺² em Mn⁺³ de maneira a ser capaz de oxidar compostos fenólicos (GLENN *et al.*, 1986). Fenolxidasas, as quais podem ser divididas em tirosinasas e lacases, são óxido-redutases que podem catalisar a oxidação de compostos fenólicos e outros compostos aromáticos sem a necessidade de cofatores (DURAN *et al.*, 2002). As lacases são enzimas que contem cobre na sua estrutura, as quais possuem uma larga faixa de substratos que podem servir como doador de elétrons, incluindo os corantes azo (ABADULLA *et al.*, 2000). Entretanto, apesar de as lacases do *Trametes Versicolor*, *Polyporus pinisitus* e *Myceliophthora thermophila* terem se mostrado capazes de descolorir corantes antraquinônicos e índigo à altas taxas, as mesmas lacases eram extremamente ineficientes na remoção de cor do corante azo Direct Red 29 (Congo Red) (CLAUS *et al.*, 2002). CHIVUKULA & RENGANATHAN (1995) concluíram que o corante azo deve ser rico em elétrons para ser susceptível de oxidação pela lacase do organismo *Pyricularia oryzae*. Essa situação seria propícia à geração do radical fenóxi, com a conseqüente quebra da ligação do corante, e produção do nitrogênio molecular (Figura 1). A adição de mediadores redox provou estender a especificidade das lacases com relação a vários tipos de corantes, muito embora mediadores redox possam ser formados da oxidação da lacase por corantes azo fenólicos (CLAUS *et al.*, 2002).

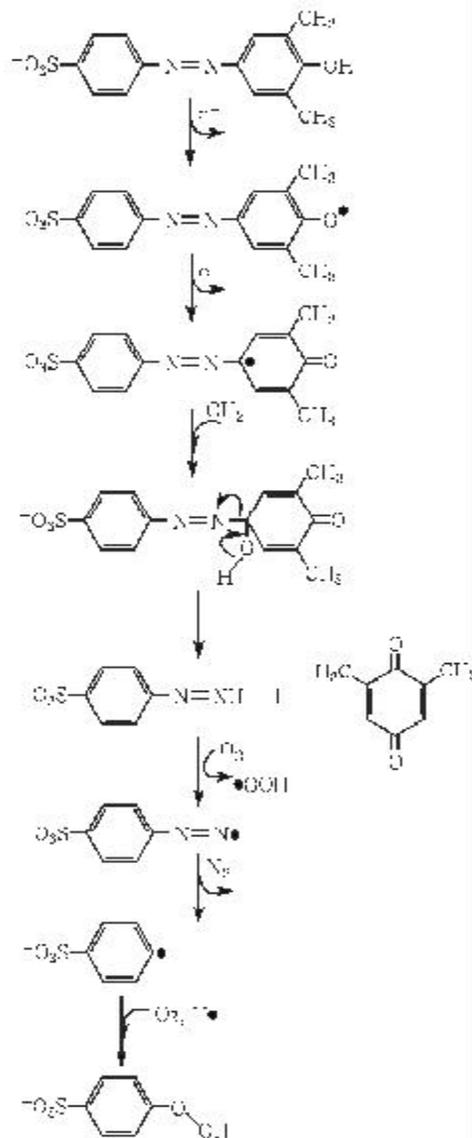
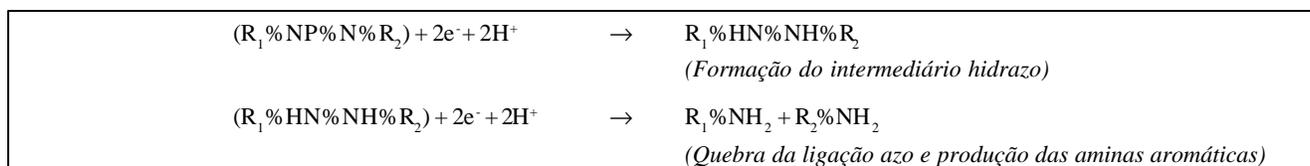


Figura 1: Rota de degradação do corante 4-(4'-sulfophenylazo)-2,6-dimethylphenol pela lacase do microrganismo *Pyricularia oryzae* (CHIVUKULA & RENGANATHAN, 1995).

2.2 Remoção de cor por microrganismos estritamente anaeróbios ou facultativos incubados sob condições anaeróbias

Os baixos valores de potencial redox (< -50 mV), os quais são necessários para a remoção de cor efetiva dos corantes, podem ser alcançados sob condições anaeróbias (BEYDILLI *et al.*, 1998). A remoção de cor sob tais condições é também chamada de “redução do corante”, cuja literatura cobre principalmente a bioquímica da redução do corante azo. A quebra da ligação azo %NP%N% envolve a transferência de 4 elétrons (equivalentes reduzidos), a qual procede através de dois estágios da ligação azo. Em cada estágio dois elétrons são transferidos para o corante azo, o qual atua como acceptor final de elétrons:



Condições anaeróbicas

O exato mecanismo de redução do corante azo quer seja intracelular ou extracelular, é ainda objeto de discussão, assim como o real papel dos transportadores de elétrons a citar as flavinas. As flavinas reduzidas podem atuar conduzindo elétrons da forma reduzida do NAD (NAPH) ou NADP (NADPH) para o corante azo, funcionando o último como acceptor final de elétrons (GINGELL & WALKER, 1971). A redução do corante azo ocorrendo intracelularmente não pode ser responsável pela conversão de todos os tipos de corantes, por exemplo os corantes sulfonados, que tem o problema de permeabilidade celular (STOLZ, 2001). KUDLICH *et al.* (1997) demonstrou um aumento das taxas de remoção de cor de um corante sulfonado pelo uso de apenas extrato celular, assim como após a adição de tolueno (um composto que atua na membrana celular aumentando a lisis celular), assim mostrando a limitada permeabilidade da membrana para os corantes azo sulfonados. A presente teoria é que os corantes azo são reduzidos principalmente por enzimas extra-celulares ou enzimas situadas na membrana citoplasmática (STOLZ, 2001). Cofatores citoplasmáticos reduzidos tais como as flavinas reduzidas não contribuíram para a redução química do corante devido à sua inabilidade de atravessar a membrana citoplasmática (RUSS *et al.*, 2000). Entretanto, experimentos de fracionamento celular demonstraram que uma atividade de quinona-redutase localizada na membrana celular aumentou a redução do corante azo sulfonado, e que nenhum transporte do corante para dentro da celular era requerido (KUDLICH *et al.*, 1997). Recentemente, uma redutase acionada pelo mediador redox lawsone, a qual era localizada no citoplasma da *Escherichia coli*, também mostrou a capacidade de redução do corante azo (RAU & STOLZ, 2003).

2.2.1 Redução de corantes por processos biológicos e por químicos biogênicos

A redução de corantes sob condições anaeróbias é uma combinação de mecanismos *biológicos e químicos*. A contribuição biológica pode ser dividida em enzimas especializadas chamadas de azo-redutases, as quais estão presentes em bactérias que são capazes de crescer usando unicamente os corantes como fonte de carbono e energia. Entretanto, até a presente data não foi encontrada nenhuma evidência de anaeróbias azo-redutases; ou enzimas sem especificidade que catalisam a redução de uma gama de contaminantes, os quais incluem os corantes azo (STOLZ, 2001). Portanto, uma reação co-metabólica (Figura 2) é provavelmente o principal mecanismo de redução do corante, nos quais os equivalentes reduzidos ou cofatores reduzidos como NADH, NAD(P)H, FMNH₂ e FADH₂ atuando como doadores de elétrons secundário, conduzem elétrons para quebrar a ligação azo (GINGELL & WALKER, 1971). A contribuição química para a redução do corante azo e subsequente remoção da cor sob condições anaeróbias pode envolver redutores biogênicos como sulfeto, cisteína, ascorbato e Fe⁺² (YOO, 2002). A Figura 3 mostra o fluxo preferencial de elétrons da presença de diversos pares redox envolvidos em processos biológicos. Como mostrado oxigênio é um mais efetivo acceptor de elétrons do que o corante azo, o que justifica os baixos valores de eficiência (<30%) comumente encontrados sob condições aeróbias.



Figura 2: Reação co-metabólica da redução anaeróbia de corantes azo por bactéria.

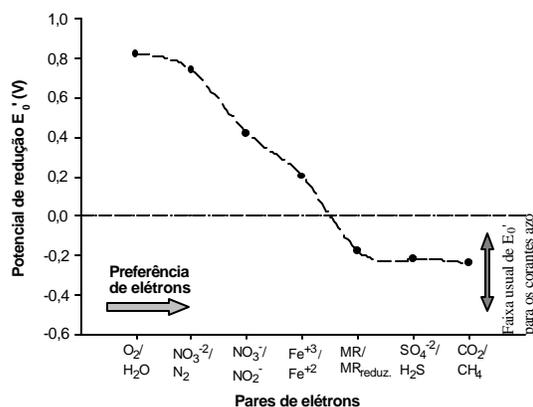


Figura 3: Fluxo de preferência de elétrons em função dos diferentes pares de elétrons (Adaptado de CERVANTES, 2002; MADIGAN *et al.*, 2003). MR e MR_{reduz.} são as formas oxidadas e reduzidas do mediador redox, respectivamente.

2.2.2 Descoloração redutiva de corantes azo na presença de mediadores redox

Foi recentemente descoberto que a aplicação conjunta do tratamento anaeróbico com mediadores redox aumentava a cinética de redução de corantes azo em até 1 ordem de magnitude, na qual os mediadores redox aceleravam a taxa de transferência de elétrons do doador primário ao receptor final de elétrons. Tal transferência de elétrons é usualmente o limitante do processo de redução (LOVLEY *et al.*, 1996; CERVANTES, 2002; DOS SANTOS *et al.*, 2004c). Vitaminas como riboflavina (Vitamina B2), FMN e FAD, e outras substâncias como as quinonas presentes em húmus e carvão ativado, podem funcionar como mediadores redox (RAU *et al.*, 2002a; DOS SANTOS *et al.*, 2004a). Mediadores redox tem se mostrado eficientes não somente nos processos de remoção de cor, mas também nos processos de transformação do ferro (LOVLEY *et al.*, 1998), nitroaromáticos (DUNNIVANT *et al.*, 1992), e compostos poli-halogenados (O'LOUGHLIN *et al.*, 1999) e radioativos (FREDRICKSON *et al.*, 2000). Recentemente foi descoberto que mediadores redox eram naturalmente produzidos durante a degradação aeróbia do composto naphthalene-2-sulfonate (2NS) por *Sphingomonas xenophaga* strain BN6, os quais mediavam a redução do corante azo sob condições anaeróbias (KECK *et al.*, 2002). A remoção de cor sob condições anaeróbias na presença dessas substâncias se dá em duas fases: a primeira fase consiste na redução enzimática do mediador redox através dos elétrons gerados nos processos oxidativos; e a segunda fase consiste na transferência química desses elétrons para os corantes azo, com a conseqüente regeneração dos mediadores redox (Figura 4) (STOLZ, 2001). A figura 5 mostra o efeito evidente de concentrações catalíticas de mediadores redox nas taxas de descoloração do corante azo RR2.

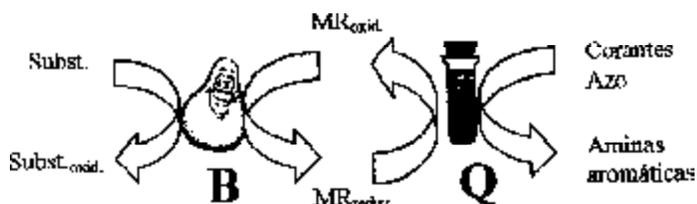


Figura 4: Reação co-metabólica da redução anaeróbia de corantes azo por bactéria, na presença de mediadores redox. As letras B e Q correspondem às reações biológicas e químicas, respectivamente.

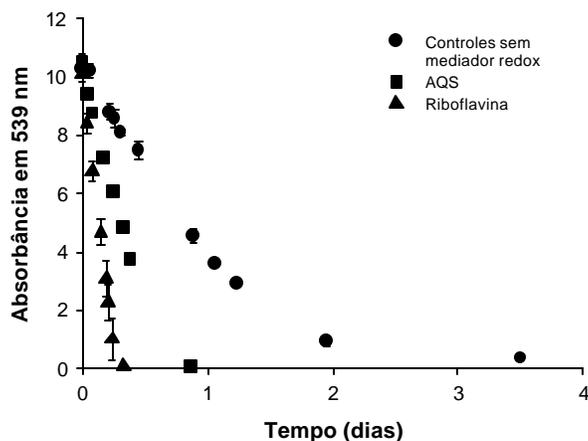


Figura 5: Efeito dos mediadores redox AQS e riboflavina nas taxas de descoloração do corante azo RR2 a 55°C por lodo granular sob condições anaeróbias. Utilizou-se uma concentração de 0,012mM dos mediadores redox riboflavina e AQS (DOS SANTOS *et al.*, 2004a).

Teoricamente, efetivos mediadores redox para a redução biológica dos corantes azo deve ter potenciais redox entre as semi-reações do corante azo e do doador primário de elétrons (VAN DER ZEE *et al.*, 2003). Infelizmente, o potencial redox padrão (E_0') para a maioria dos corantes azo é desconhecido, mas essa informação pode ser obtida através de polarografia. Em uma classificação dos valores de potencial redox para diferentes compostos azo, foi encontrado que os valores de E_0' estavam na faixa de $-0,430$ e $-0,180$ V (DUBIN & WRIGHT, 1975). RAU *et al.* (2002) reporta que o cofator NAD(P)H, o qual possui o valor mais negativo de E_0' ($-0,320$ V), parece limitar a aplicação dos mediadores redox. A razão para isso é que

mediadores com valores de E_0' mais negativos não serão reduzidos pelas células, e mediadores com valores mais positivos que -0.05 V não reduzirão a ligação azo a altas taxas. A figura 6 mostra os valores de E_0' para mediadores redox quinônicos e não-quinônicos.

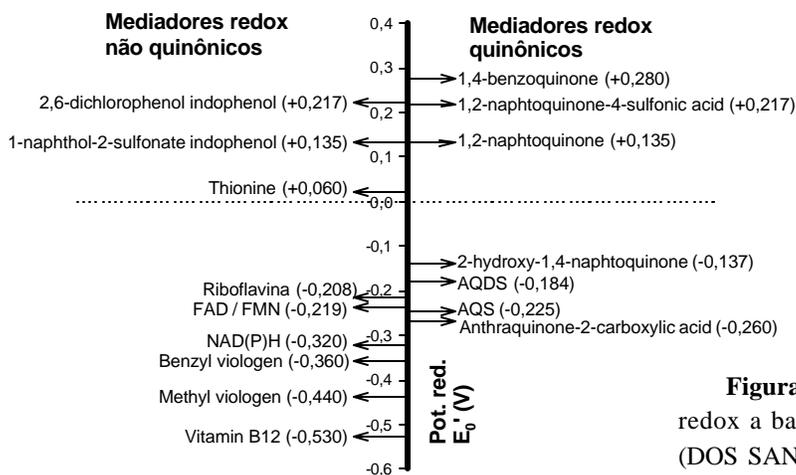


Figura 6: Valores de E_0' para mediadores redox a base de quinonas e não quinônicos (DOS SANTOS, 2005).

Como citado o valor do potencial redox padrão (E_0') é uma boa indicação da capacidade de um composto em funcionar como mediador redox. Entretanto, aparentemente outros fatores são também de importância já que se tem registrado diferentes taxas de remoção de cor na presença de mediadores redox com próximos valores de E_0' , assim como próximas taxas de remoção de cor na presença de mediadores redox com diferentes valores de E_0' . Por exemplo, BROWN (1981) testando o corante polimérico nitroso Poly Y-607 achou que o methyl viologen e benzyl viologen aumentavam as taxas de descoloração em 4,5 vezes, muito embora o E_0' do methyl viologen fosse muito mais negativo ($-0,440$ V) quando comparado ao do benzyl viologen ($-0,360$ V) (Figura 6). WALKER & RYAN (1971) postularam que as taxas de descoloração eram relacionados com a densidade de elétrons na região da ligação azo. Os últimos sugeriram que as taxas de remoção de cor aumentariam pela diminuição da densidade de elétrons na região da ligação azo. Assim, o uso de mediadores redox não somente aumentaria a taxa de transferência de elétrons para o acceptor final de elétrons (corante azo) mas também na minimização dos efeitos estéricos da molécula do corante (MOIR *et al.*, 2001). Portanto, juntamente com os valores de E_0' , devem ser consideradas as diferenças dos fatores estéricos e eletroquímicos entre o mediador redox e o corante azo, para a seleção de um determinado composto como mediador redox. A Figura 7 ilustra as distintas taxas de remoção de cor com dois mediadores redox com próximos valores de E_0' .

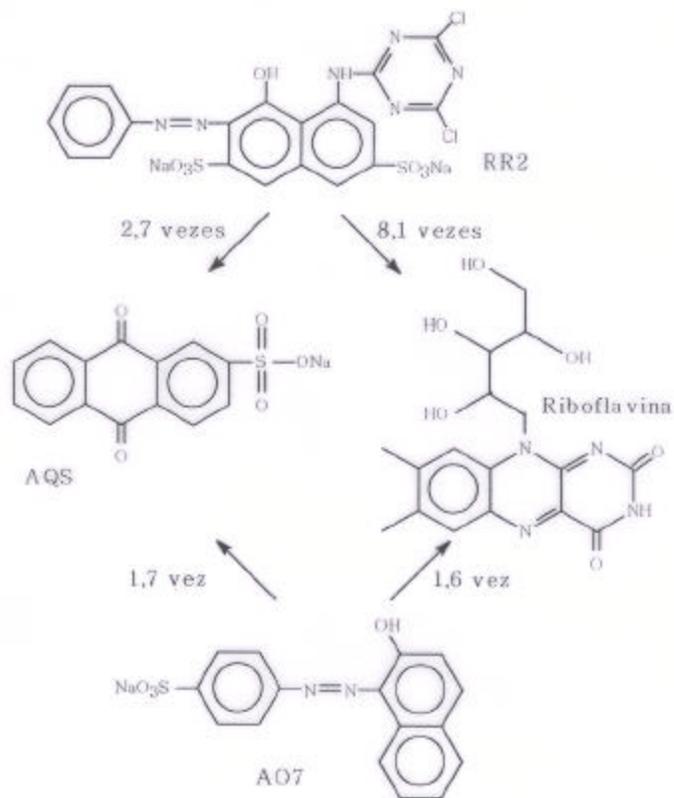


Figura 7: Diferenças nas taxas de redução do corantes azo RR2 e A07, na presença dos mediadores redox riboflavina e AQS, evidenciando que outros fatores como as interações eletroquímicas entre corante e mediador redox diferentemente dos valores de E_0' dos mediadores redox, têm um importante papel no processo de remoção de cor (DOS SANTOS, 2005).

2.2.3 Aspectos microbiológicos da remoção de cor de corantes azo sob condições anaeróbias

Culturas puras

A literatura extensivamente reporta o uso de culturas puras, tanto células intactas como determinadas enzimas, para um melhor entendimento dos mecanismos de redução do corante azo sob condições anaeróbias, os quais não são ainda totalmente entendidos (STOLZ, 2001). O processo de remoção de cor requer uma capacidade enzimática não-específica, encontrada em uma grande variedade de microrganismos. Isso tem sido principalmente demonstrado com microrganismos presentes na micro-flora intestinal tais como *Clostridium*, *Salmonella*, *Bacillus*, *Eubacterium* e *Escherichia coli*, os quais são capazes de reduzir os corantes ingeridos através dos alimentos, remédios e cosméticos (BROWN & DEVITO, 1993; RAU *et al.*, 2002a). Em experimentos de laboratório tais organismos eram normalmente incubados sob condições aeróbias para se multiplicarem, sendo em seguida testada a sua capacidade de reduzir os corantes sob condições anaeróbias. O entendimento dos mecanismos de redução do corante azo é importante não somente sob uma ótica da biotecnologia aplicada à remoção de cor, mas também sob uma ótica da medicina, para se compreender como os microrganismos da microflora intestinal metabolizam os corantes (BROWN & DEVITO, 1993). Os corantes azo são convertidos nas aminas aromáticas devido às condições anaeróbias encontradas no intestino humano, sendo estas muito mais mutagênicas e carcinogênicas do que o seu corante precursor (WEISBURGER, 2002). Portanto, um grande esforço tem se dado à produção de compostos resistentes a esses processos redutivos. Uma outra aplicação têm sido investigada no uso de corantes poliméricos que seriam insolúveis na parte superior do sistema digestivo, mas susceptível de degradação no cólon, em uma espécie de sistema de entrega oral da droga (RAU *et al.*, 2002b).

Lodo granular

Muito embora a redução do corante azo possa ser alcançada com diferentes microrganismos, até o presente não foi encontrada nenhuma espécie que fosse capaz de remover a cor de uma ampla diversidade de corantes. Logo, o uso de um microrganismo específico ou de enzimas para remoção de cor não parece ser uma boa alternativa no tratamento de esgotos têxteis, já que os mesmos são compostos de vários tipos de corantes (LASZLO, 2000). Assim, o uso de culturas mistas como o lodo granular anaeróbio parece ser uma alternativa mais viável, já que o mesmo é composto de diversos microrganismos com alta atividade. Diferentes configurações de reatores tais como o UASB (upflow anaerobic sludge bed) e o EGSB (expanded granular sludge bed), são usados para imobilizar altas concentrações de biomassa (LETTINGA, 1995). Assim, a maioria dos corantes contidos no esgoto têxtil poderia ser reduzido pelos devido aos diferentes consórcios presentes no lodo granular e imobilizados no reator biológico, os quais não seriam passíveis de redução no uso de apenas um único microrganismo. Conforme explicado anteriormente, a remoção de cor de corantes azo pelo uso de lodo metanogênico é provavelmente controlada por uma reação co-metabólica. Assim durante o fluxo de carbono, os diferentes substratos forneceriam os elétrons ou cofatores reduzidos, onde o corante azo atuaria como o acceptor final de elétrons. A Tabela 1 mostra as principais reações bioquímicas envolvidas na conversão da matéria orgânica em ambientes metanogênicos.

Tabela 1: Reações bioquímicas envolvidas na conversão da matéria orgânica em ambientes metanogênicos.

Reações acetogênicas		ΔG° ' 25°C (kJ mol ⁻¹)	ΔG° ' 55°C (kJ mol ⁻¹)
Glicose + 12 H ₂ O	? 6 HCO ₃ ⁻ + 12 H ₂ + 6H ⁺	+ 3.2	-51.8
Glicose + 4 H ₂ O	? 2 Acetato ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + 4H ⁺	- 206.3	-232.2
Etanol + H ₂ O	? Acetato ⁻ + 2 H ₂ + H ⁺	+ 9.6	+1.7
Lactato ⁻ + 2 H ₂ O	? Acetato ⁻ + HCO ₃ ⁻ + 2 H ₂ + H ⁺	- 4.2	-12.6
Acetato ⁻ + 4 H ₂ O	? 2 HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + H ⁺	+ 104.2	+ 89.8
Propionato ⁻ + 3 H ₂ O	? Acetato ⁻ + HCO ₃ ⁻ + 3 H ₂ + H ⁺	+ 76.5	+ 64.7
Propionato ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻	? Acetato ⁻ + 3 Formato ⁻ + H ⁺	+ 72.4	+ 61.6
Butirato ⁻ + 2 H ₂ O	? 2 Acetato ⁻ + 2 H ₂ + H ⁺	+ 48.3	+ 39.5
Butirato ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻	? 2 Acetato ⁻ + 2 Formato ⁻ + H ⁺	+ 30.6	+ 20.9
Reações homoacetogênicas			
Acetato ⁻ + 4 H ₂ O	? 2 HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + H ⁺	+ 104.6	+ 90.2
2 CO ₂ + 4 H ₂	? Acetato ⁻ + 2 H ₂ O	- 55.0	- 33.5
Reações metanogênicas			
4 H ₂ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺	? CH ₄ + 3 H ₂ O	- 135.6	- 124.9
4 Formato ⁻ + H ₂ O + H ⁺	? CH ₄ + 3HCO ₃ ⁻	- 130.4	- 118.9
Acetato ⁻ + H ₂ O	? HCO ₃ ⁻ + CH ₄	- 31.0	- 34.7

As mudanças de energia foram calculadas pelo uso da equação de van 't Hoff. Os valores de entalpia dos compostos (CHANG, 1977) e mudanças da energia livre Gibbs a 25°C (THAUER *et al.*, 1977).

Os equivalentes reduzidos são formados durante as várias etapas do fluxo do carbono (matéria orgânica) sob condições anaeróbias (Figura 8). A matéria orgânica é inicialmente **hidrolisada**, ou seja, as enzimas produzidas pelas bactérias fermentativas hidrolisam moléculas complexas como as proteínas, carboidratos e gorduras para os seus correspondentes monômeros, os quais são os aminoácidos, açúcares e ácidos graxos voláteis de cadeia longa, respectivamente. Em seguida esses monômeros são fermentados em compostos orgânicos reduzidos como ácidos graxos voláteis de cadeia curta, álcool e lactato em uma etapa chamada de **acidogênese**. Subseqüentemente esses ácidos podem ser convertidos tanto em H_2/CO_2 pelos microrganismos formadores de hidrogênio, ou em acetato (**acetogênese**) pelos microrganismos formadores de acetato. O acetato também pode ser formado pelo rota do H_2/CO_2 em uma etapa chamada de **homoacetogênese**. Finalmente o produto final metano/ CO_2 pode ser formado na etapa da **metanogênese**. As archaeas metanogênicas são somente capazes de utilizar substratos como H_2 , acetato, formato e compostos metilados para produzir metano.

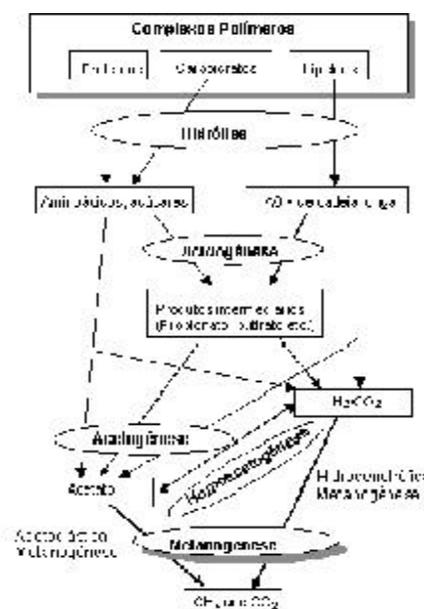


Figura 8: Conversão da matéria orgânica em reatores anaeróbios metanogênicos (Adaptado de GUJER & ZEHNDER, 1983).

A descolorização redutiva de corantes azo é extremamente dependente do tipo de doador de elétron. Acetato e outros ácidos graxos voláteis são usualmente pobres doadores de elétrons, enquanto que etanol, glicose, H_2/CO_2 e formato são mais efetivos doadores para a redução do corante azo (TAN *et al.*, 1999; DOS SANTOS *et al.*, 2003). Donlon *et al.* (1997) reportou que as interspécies de hidrogênio resultantes da oxidação de substratos como butirato, propionato e etanol poderiam suprir o meio de equivalentes reduzidos, os quais estimularam a redução do nitrofenol. No ultimo trabalho, os precursores do metano acetato e metanol não aumentaram as taxas de redução do nitrofenol. Resultados similares eram também encontrados durante a redução do tetracloreto de carbono (CT) por lodo granular anaeróbio, nos quais acetato e metanol eram pobres doadores de elétrons para a redução do CT (CERVANTES *et al.*, 2004). No último trabalho o mediador redox AQDS era extremamente importante como catalisador da redução do CT, fazendo que mesmo os pobres doadores de elétrons se tornassem efetivos doadores.

Entretanto, a conversão dos doadores de elétrons por exemplo etanol e glicose, os quais são usados na remoção do corante azo, geram subprodutos que precisam ser convertidos em metano para se obter a remoção de cor e metanogênese no mesmo reator. Isso semente é mantido se houver um equilíbrio entre os grupos sintróficos de microrganismos presentes no reator (Figura DDD). O grau de dependência entre esses organismos varia consideravelmente (SCHINK, 2002). Apesar de os últimos elementos da cadeia alimentar bacteriana serem dependentes dos anteriores, por exemplo a interdependência entre as archaeas metanogênicas e bactérias acetogênicas, as metanogênicas são de fundamental importância para as acetogênicas

na remoção de produtos metabólicos. Dos Santos et al. (2004) observou que o corante antraquinônico Reactive Blue 19 era principalmente tóxico nas acetoclásticas metanogênicas, enquanto que as bactérias acidogênicas e acetogênicas não eram afetadas pela toxicidade do corante. Portanto no estudo da possibilidade de remoção de cor e DQO no mesmo reator, a redução do corante e a completa conversão do doador de elétrons em metano, devem ser cuidadosamente pensadas.

3. Conclusões

A presente discussão abordou alguns dos importantes fundamentos da bioquímica da remoção de cor por microrganismos. Mediadores redox e uso de tratamento anaeróbio por lodo granular representam uma inexplorada tecnologia para ser aplicada nas ETE's de indústrias têxteis. Entretanto, é conveniente lembrar que os esgotos têxteis são altamente variáveis e que o melhor processo de tratamento deve ser analisado caso a caso.

Referências

- ABADULLA, E. et al. Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 8, p. 3357-3362, Aug. 2000.
- BEYDILLI, M. I.; PAVLOSTATHIS, S. G.; TINCHER, W. C. Decolorization and toxicity screening of selected reactive azo dyes under methanogenic conditions. *Water Science and Technology*, v. 38, n. 4/5, p. 225-232, 1998.
- BROWN, M. A.; DEVITO, S. C. Predicting azo dye toxicity. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 23, p. 249-324, 1993.
- CERVANTES, F. J. *Quinones as electron acceptors and redox mediators for the anaerobic biotransformation of priority pollutants*. 2002. 166 p. (Ph.D.). Agrotechnology and Food Sciences, Sub-department of Environmental Technology, Wageningen University. Wageningen, 2002.
- CERVANTES, F. J. et al. Quinone-respiration improves dechlorination of carbon tetrachloride by anaerobic sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 64, p. 702-711, 2004.
- CHANG, R. *Physical chemistry with applications to biological systems*. New York: [s.n.], 1977.
- CHIVUKULA, M.; RENGANATHAN, V. Phenolic azo dye oxidation by laccase from *Pyricularia oryzae*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 12, p. 4374-4377, 1995.
- CLAUS, H.; FABER, G.; KOENIG, H. Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 59, n. 6, p. 672-678, 2002.
- DEPA. *Environmental assessment of textiles*. Amsterdam: Danish Environmental Protection Agency, 1997. 220 p.
- DONLON, B. A. et al. Detoxification and partial mineralization of the azo dye mordant orange 1 in a continuous upflow anaerobic sludge-blanket reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 47, n. 1, p. 83-90, 1997.
- DOS SANTOS, A. B. Reductive decolourisation of dyes by thermophilic anaerobic granular sludge. 2005. 176 f. (Ph.D.). Agrotechnology and Food Sciences, Sub-department of Environmental Technology, Wageningen University, Wageningen, 2005.
- DOS SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J. B. Current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresource Technology*, v. 15, p. 336-341, 2005.
- DOS SANTOS, A. B. et al. Effect of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic (30°C) and thermophilic (55°C) treatments for decolourisation of textile wastewaters. *Chemosphere*, v. 55, p. 1149-1157, 2004a.
- DOS SANTOS, A. B. et al. Effect of redox mediator, AQDS, on the decolourisation of a reactive azo dye containing triazine group in a thermophilic anaerobic EGSB reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 33, n. 7, p. 942-951, 2003.
- DOS SANTOS, A. B. et al. Enhancing the electron transfer capacity and subsequent colour removal in bioreactors by applying thermophilic anaerobic treatment and redox mediators. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 89, p. 42-45, 2005b.

- DUNNIVANT, F. M.; SCHWARZENBACH, R. P.; MACALADY, D. L. Reduction of substituted nitrobenzenes in aqueous solutions containing natural organic matter. *Environmental Science and Technology*, v. 26, p. 2133-2141, 1992.
- DURAN, N. et al. Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 31, n. 7, p. 907-931 Dec. 2002.
- FIELD, J. A. et al. Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 67, p. 47-77, 1995.
- FREDRICKSON, J. K. et al. Reduction of Fe(III), Cr(VI), U(VI), and Tc(VII) by *Deinococcus radiodurans* R1. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 5, p. 2006-2011, 2000.
- GINGELL, R.; WALKER, R. Mechanism of azo reduction by *Streptococcus faecalis* II. The role of soluble flavins. *Xenobiotica*, v.1, n. 3, p. 231-239, 1971.
- GLENN, J. K.; AKILESWARAN, L.; GOLD, M. H. Manganese-II oxidation is the principal function of the Extracellular Manganese Peroxidase from *Phanerochaete-Chrysosporium*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 251, n. 2, p. 688-696, 1986.
- GUJER, W.; ZEHNDER, A. J. B. Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, v. 15, p. 127-167, 1983.
- HAO, O. J.; KIM, H.; CHANG, P. C. Decolorization of wastewater. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 30, n. 4, p. 449-505, 2000.
- HEINFLING, A.; BERGBAUER, M.; SZEWZYK, U. Biodegradation of azo and phthalocyanine dyes by *Trametes versicolor* and *Bjerkandera adusta*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 48, n. 2, p. 261-66, 1997.
- KECK, A. et al. Identification of quinoide redox mediators that are formed during the degradation of naphthalene-2-sulfonate by *Sphingomonas xenophaga* BN6. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 9, p. 4341-4349, 2002.
- KNACKMUSS, H. J. Basic knowledge and perspectives of bioelimination of xenobiotic compounds. *Journal of Biotechnology*, v. 51, n. 3, p. 287-295, 1996.
- KUDLICH, M. et al. Localization of the enzyme system involved in anaerobic reduction of azo dyes by *Sphingomonas* sp. strain BN6 and effect of artificial redox mediators on the rate of azo dye reduction. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 9, p. 3691-3694, 1997.
- LASZLO, J. A. Regeneration of azo-dye-saturated cellulosic anion exchange resin by *Burholderia cepacia* anaerobic dye reduction. *Environmental Science and Technology*, v. 34, p.164-172, 2000.
- LETTINGA, G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 67, n. 1, p. 3-28, 1995.
- LOVLEY, D. R. et al. Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reduction. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, v. 26, n. 3, p.152-157, 1998.
- LOVLEY, D. R. et al. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, v. 382, p. 445-448, 1996.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Brock biology of microorganisms*. New Jersey: Prentice-Hall, 2003
- MOIR, D.; MASSON, S.; CHU, I. Structure-activity relationship study on the bioreduction of azo dyes by *Clostridium paraputrificum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 20, n. 3, p. 479-484, Mar. 2001.
- O'LOUGHLIN, E. J.; BURRIS, D. R.; DELCOMYN, C. A. Reductive dechlorination of trichloroethene mediated by humic-metal complexes. *Environmental Science and Technology*, v. 33, n. 7, p. 1145-1147, 1999.
- RAU, J. et al. Enhanced anaerobic degradation of polymeric azo compounds by *Escherichia coli* in the presence of low-molecular-weight redox mediators. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 54, n. 11, p. 1471-1479, 2002b.

- RAU, J.; KNACKMUSS, H. J.; STOLZ, A. Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria. *Environmental Science and Technology*, v. 36, p. 1497-1504, 2002a.
- RAU, J.; STOLZ, A. Oxygen-insensitive nitroreductases NfsA and NfsB of *Escherichia coli* function under anaerobic conditions as lawsone-dependent azo reductases. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, n. 6, p. 3448-3455, 2003.
- RUSS, R.; RAU, J.; STOLZ, A. The function of cytoplasmic flavin reductases in the reduction of azo dyes by bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 4, p.1429-1434, 2000.
- SCHINK, B. Synergistic interactions in the microbial world. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 81, n.1/4, Aug. p. 257-261, 2002.
- STOLZ, A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 56, p. 69-80, 2001.
- TAN, N. C. G.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Reduction of the azo dye Mordant Orange 1 by methanogenic granular sludge exposed to oxygen. *Bioresource Technology*, v. 67, n. 1, p. 35-42, 1999.
- THAUER, R. K.; JUNGERMANN, K.; DECKER, K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriology Reviews*, v. 41, p. 100-180, 1977.
- VAN DER ZEE, F. P. et al. Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes. *Environmental Science and Technology*, v. 37, n. 2, p. 402-408, 2003.
- WEISBURGER, J. H. Comments on the history and importance of aromatic and heterocyclic amines in public health. *Mutation Research*, v. 506/507, p. 9-20, 2002.
- YOO, E. S. Kinetics of chemical decolorization of the azo dye C.I. Reactive Orange 96 by sulfide. *Chemosphere*, v. 47, n. 6, p. 925-931, 2002.
- ZIMMERMANN, T. et al. Comparison of two bacterial azoreductases acquired during adaptation to growth on azo dyes. *Archives of Microbiology*, v. 138, p. 37-43, 1984.
- ZIMMERMANN, T.; KULLA, H.; LEISINGER, T. Properties of purified Orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46. *European Journal of Biochemistry*, v. 129, p. 197-203, 1982.
- ZOLLINGER, H. *Color chemistry: syntheses, properties and applications of organic dyes pigments*. New York: VCH. 1987.

SOBRE O AUTOR

André Bezerra dos Santos

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará – UFC em 1998. Mestre em Engenharia Civil, área de Engenharia Sanitária e Ambiental pela Universidade Federal do Ceará - UFC em 2001. Doutor em Biotecnologia Ambiental pela Universidade de Wageningen – Holanda em 2005. Pesquisador DCR/CNPq pelo Departamento de engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.