UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

LUIZ PEREIRA DA SILVA JÚNIOR

BIODEGRADAÇÃO DE CORANTES MONO E DIAZO ATRAVÉS DE PROCESSO ANAERÓBIO ASSOCIADO À MICROAERAÇÃO INTERMITENTE

Recife
2021

LUIZ PEREIRA DA SILVA JÚNIOR

BIODEGRADAÇÃO DE CORANTES MONO E DIAZO ATRAVÉS DE PROCESSO ANAERÓBIO ASSOCIADO À MICROAERAÇÃO INTERMITENTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Orientadora: Profa. Dra. Sávia Gavazza dos Santos Pessôa.

Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Soares Fernandes.

Recife

2021

Catalogação na fonte:
Bibliotecária Sandra Maria Neri Santiago, CRB-4 / 1267

B586b Silva Júnior, Luiz Pereira da.
Biodegradação de corantes mono e diazo através de processo anaeróbio associado à microaeração intermitente / Luiz Pereira da Silva Júnior. – 2021.
89 f.: il., figs., tabs., abrev. e siglas.

Orientadora: Profa. Dra. Sávia Gavazza dos Santos Pessôa.
Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Soares Fernandes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil. Recife, 2021.
Inclui referências.

1. Engenharia civil. 2. Efluente têxtil. 3. Reatores em bateladas sequenciais. 4. Corante azo. 5. Microaeração intermitente. I. Pessôa, Sávia Gavazza dos Santos (Orientadora). II. Fernandes, Bruna Soares (Coorientadora). III. Título.

UFPE

624 CDD (22. ed.) BCTG / 2022-369

LUIZ PEREIRA DA SILVA JUNIOR

BIODEGRADAÇÃO DE CORANTES MONO E DIAZO ATRAVÉS DE PROCESSO ANAERÓBIO ASSOCIADO À MICROAERAÇÃO INTERMITENTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Aprovada em: 12/03/2021.

BANCA EXAMINADORA

Participação por videoconferência
Profa. Dra. Sávia Gavazza dos Santos Pessôa (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Participação por videoconferência
Prof. Dr. Eugênio Foresti (Examinador Externo)
Universidade de São Paulo

Participação por videoconferência
Dr. Osmar Luiz Moreira Pereiras Fonseca de Menezes (Examinador Externo)
The University of Arizona

Participação por videoconferência
Dra. Fernanda Magalhães Amaral (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante todo o período de trabalho e pela extensão das bolsas por 6 meses durante a pandemia que ocorreu no ano de realização das atividades experimentais.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil – PPGEC da Universidade Federal de Pernambuco que permite a realização de pesquisa científica de alto nível em diversas áreas da Engenharia Civil.

Agradeço enormemente às professoras orientadora e coorientadora Profª. Drª. Sávia Gavazza e Profª. Drª. Bruna Soares Fernandes, primeiramente pela oportunidade dada para realização da pesquisa no laboratório, pelos ensinamentos, ajuda, confiança e principalmente pela paciência que tiveram durante todo o período de trabalho, especialmente durante os problemas encontrados nos últimos meses do trabalho. Levarei os aprendizados acadêmicos e pessoais para toda a vida.

Aos colegas de laboratório Alynne Soares, Amanda Leal, Marcos Sales, Mateus Paraíso, Roberto Carvalho, Bárbara Moraes e Jucélia Tavares que tornaram as experiências diárias extremamente agradáveis e que contribuíram enormemente com o desenvolvimento do trabalho. Agradeço também aos alunos de iniciação científica Wagner Messias e Emylaine Oliveira que me ajudaram durante a realização dos perfis temporais, em um momento em que necessitava demasiadamente de ajuda.

Deixo agradecimento especial aos técnicos de laboratório Iago José, Danúbia Freitas e Ronaldo Fonseca que foram extremamente solícitos durante todos os momentos de necessidade. Sem o auxílio dos técnicos não seria possível realizar este trabalho.

Ao apoio dos meus pais, Suely e Luiz, pelo amor, paciência durante os momentos mais difíceis e pelo compartilhamento dos momentos felizes durante a realização deste trabalho.

RESUMO

Processos biológicos são alternativas sustentáveis para o tratamento de efluentes da indústria têxtil. A remoção biológica de corantes do tipo azo, os mais utilizados na indústria têxtil, é bem consolidada, com aplicação sequencial de condições anaeróbias e aeróbias. No entanto, a microaeração intermitente têm se mostrado atraente em função da redução de custos associados a aeração convencional. Entretanto, ainda existem lacunas sobre a otimização da fase de microearação, aplicabilidade para remoção de corantes diversos, entre outros. Este estudo avaliou os efeitos da duração da fase de microaeração intermitente em dois reatores anaeróbios em bateladas sequenciais utilizados no tratamento de efluente têxtil sintético. Foi utilizado o corante monoazo Reactive Orange 4 – RO4 no Reator 1 e o diazo Reactive Black 5 – RB5 no Reator 2 – R2, ambos com concentração de 32,5 mg/L. Etanol foi utilizado como doador de elétrons (1200 mgDQO/L). Os reatores operaram em ciclo de 24 horas, divididos em 12 horas de reação anaeróbia, seguidos de 11 horas de microeração intermitente, caracterizada por pulsos de 10 e 30 minutos de microaeração (62,5 mL/min.L reator) a cada 2 horas nas Fases 1 (F1) e 2 (F2), respectivamente. Em seguida, 1 hora foi destinada para troca volumétrica. A remoção de matéria orgânica foi semelhante entre os reatores e as fases e esteve em torno de 80%. Apesar disso, o aumento do tempo de microaeração diminuiu os coeficientes cinéticos de remoção anaeróbia de DQO de 0,0120 h-1 e 0,0082 h-1 para 0,0082 h-1 e 0,0073 h-1 em R1 e R2. Em F1, o RB5 foi mais bem degradado, tanto em termos de eficiência (77,4% para RO4 e 88,7% para RB5) quanto de cinética (6 vezes mais rápida), mostrando que o número de ligações azo não foi determinante para garantir a degradabilidade dos corantes. Já em F2 a eficiência de remoção de corantes foi semelhante entre os reatores, em torno de 80%. A diminuição da eficiência de remoção de corante em R2 foi resultante, principalmente, da autoxidação das aminas aromáticas. O período de microaeração em F1 não removeu aminas aromáticas e os efluentes dos reatores apresentaram citotoxicidade em sementes de *Allium cepa*. Já a microaeração em F2 foi capaz de remover aminas aromáticas e a citotoxicidade. As comunidades microbianas dos 2 reatores em F1 apresentaram diversidade de organismos metilotróficos que podem ter competido pelo oxigênio com a remoção de aminas aromáticas. A aplicação de pulsos de 30 minutos de microaeração foi a mais eficiente, pois assegurou a remoção de matéria orgânica, corante, aminas aromáticas e toxicidade, independente do corante aplicado.

Palavras-chave: efluente têxtil; reatores em bateladas sequenciais; corante azo; microaeração intermitente.

ABSTRACT

Biological processes are sustainable alternatives for the treatment of textile wastewater. Biological azo dye removal – the most used dyes in the textile industry – is well established, with applications of anaerobic-aerobic conditions. However, microaeration is becoming attractive because of the reduction in the costs of conventional aeration. Meanwhile, there are gaps regarding to the optimization of microaeration used to the removal different azo dyes, among others. This study evaluated the effects of the duration of the intermittent microaeration phase in two sequential batch anaerobic reactors used in the treatment of synthetic textile effluent. The monoazo dye Reactive Orange 4 - RO4 was used in Reactor 1 and diazo Reactive Black 5 - RB5 in Reactor 2 - R2, both with a concentration of 32.5 mg/L. Ethanol was used as an electron donor (1200 mgCOD/L). The reactors operated in a 24-hour cycle, divided into 12 hours of anaerobic reaction, followed by 11 hours of intermittent microaeration, characterized by pulses of 10 and 30 minutes of microaeration (62.5 mL / min.L reactor) every 2 hours in Phases 1 (F1) and 2 (F2), respectively. Then, 1 hour was allocated for volumetric exchange. The removal of organic matter was similar between the reactors and phases and was close to 80%. The increase in the duration of microaeration reduced the kinetic coefficients of anaerobic COD removal from 0.0120 h-1 and 0.0082 h-1 to 0.0082 h-1 and 0.0073 h-1 in R1 and R2. In F1, RB5 was better degraded, both in terms of efficiency (77.4% for RO4 and 88.7% for RB5) and kinetics (6 times faster), showing that the number of azo bonds was not decisive to guarantee the degradability of the dyes. In F2, the dye removal efficiency was similar between the reactors, around 80%. The decrease in the efficiency of dye removal in R2 was mainly due to the autoxidation of aromatic amines. The microaeration period in F1 did not remove aromatic amines, and the effluents from the reactors showed cytotoxicity to *Allium cepa* seeds. However, the microaeration in F2 was able to remove aromatic amines and cytotoxicity. The microbial communities from both reactors in F1 showed a diversity of methylotrophic organisms that may have competed for oxygen with the removal of aromatic amines. The use of 30 minutes pulses of microaeration was most efficient, as it ensured the removal of organic matter, azo dye, aromatic amines and toxicity, regardless of the dye used.

Keywords: textile wastewater; sequencing batch reactors; azo dye; intermittent microaeration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma esquemático da degradação biológica de corantes azo. 24
Figura 2 - Funções da microaeração associada a digestão anaeróbia. 27
Figura 3 - Estrutura molecular do corante Reactive Orange 4. 31
Figura 4 - Estrutura molecular do corante Reactive Black 5. 32
Figura 5 - Percentual da DQO por substrato no efluente sintético contendo corantes: a) Reactive Orange 4 e b) Reactive Black 5 34
Figura 6 - Esquema de funcionamento dos reatores. 35
Figura 7 - Ciclo dos reatores nas Fases 1 e 2. 36
Figura 8 - Perfil temporal da operação dos reatores. 39
Figura 9 - Variação temporal da: a) remoção de DQO e b) remoção de corantes durante a Fase 1. 47
Figura 10 - Gráfico Boxplot de remoção de: a) DQO e b) corante – RO4 (Reator 1) nos períodos de adaptação e Fases 1 e 2. 48
Figura 11 - Gráfico Boxplot de remoção de: a) DQO e b) corante – RB5 (Reator 2) nos períodos de adaptação e Fases 1 e 2. 48
Figura 12 - Semi-perfil do O.D. e do potencial redox dos reatores 1 (a) e 2 (b) na Fase 1..... 51
Figura 13 - Perfil do O.D. e do potencial redox dos reatores 1 (a) e 2 (b) na Fase 2. 52
Figura 14 - Perfil do pH dos reatores 1 e 2 nas Fase 1 (a) e 2 (b). 53
Figura 15 – Produção e consumo dos AOVs durante o período de reação anaeróbia, nas Fases 1: R1 – RO4 (a), R2 – RB5 (b) e Fase 2: R1 – RO4 (c) e R2 – RB5 (d)..... 54
Figura 16 - Fluxograma esquemático da conversão anaeróbia de etanol nos reatores estudados. 56
Figura 17 - Remoção de DQO durante a fase anaeróbia dos Reatores 1 e 2 durante a Fase 1.57
Figura 18 - Remoção de DQO ao longo da fase anaeróbia dos reatores 1 e 2 durante a Fase 2. 57
Figura 19 - Semi-perfil temporal da concentração residual de corantes na Fase 1. 60
Figura 20 – Perfil temporal da concentração residual dos reatores na Fase 2..... 61
Figura 21 - Espectro UV-Vis do Reator 1, alimentado com corante RO4 (λ_{max} 489 nm) ao longo do tratamento da Fase 1. 63
Figura 22 - Espectro UV-Vis do Reator 1, alimentado com corante RO4 (λ_{max} 489 nm) ao longo do tratamento da Fase 2. 64

Figura 23 - Espectro UV-Vis do Reator 2, alimentado com corante RB5 (λ_{max} 595 nm) ao longo do tratamento – Fase 1. 64
Figura 24 - Espectro UV-Vis do Reator 2, alimentado com corante RB5 (λ_{max} 595 nm) ao longo do tratamento – Fase 2. 65
Figura 25 - Remoção de sulfato ao longo do tratamento nos reatores nas Fases 1 e 2. 67
Figura 26 - Gênero dos organismos com abundância relativa >1% presentes no inóculo e nos reatores 1 e 2 durante a Fase 1. 73
Figura 27 – Fluxograma simplificado dos possíveis metabolismos das comunidades no Reator 1 alimentado com corante Reactive Orange 4 durante a Fase 1 e possíveis microrganismos envolvidos. 77
Figura 28 - Fluxograma simplificado dos possíveis metabolismos das comunidades microbianas do Reator 2 alimentado com corante Reactive Black 5 durante a Fase 1 e possíveis microrganismos envolvidos. 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos efluentes da APL. 21
Tabela 2 - Composição do efluente têxtil sintético. 33
Tabela 3 - Composição da solução de micronutrientes. 33
Tabela 4 - Análises realizadas durante o monitoramento periódico dos reatores. 37
Tabela 5 - Condições cromatográficas para análises de AOVs por cromatografia gasosa. 38
Tabela 6 - Média e desvio padrão das variáveis monitorada dos reatores durante o estado de equilíbrio dinâmico aparente. 45
Tabela 7 - Reações da fermentação do etanol e do ácido propiônico..... 55
Tabela 8 - Coeficientes cinéticos obtidos para representar a degradação de DQO, nos reatores 1 e 2 nas fases 1 e 2. 58
Tabela 9 - Coeficientes cinéticos obtidos para representar a degradação anaeróbia de corante, nos reatores 1 e 2 nas fases 1 e 2. 61
Tabela 10 - Ensaio com sistema-teste *Allium cepa* após 72 h de exposição das sementes antes e após tratamentos de biodegradação. 69
Tabela 11 - Frequência (%) de núcleos meristemáticos de *Allium cepa* nas fases do ciclo celular após exposição das sementes à amostras, por 72 h..... 70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIT	Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção
APHA	American Public Health Association
APL	Arranjo Produtivo Local
AOV	Ácido orgânico volátil
AR	Abundância Relativa
BAS	Biofiltro aerado submerso
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
CL_{50}	Concentração letal média
$\Delta G'_o$	Energia livre de Gibbs em condição padrão
DB22	Direct Black 22
DQO	Demanda química de oxigênio
F1	Fase 1 correspondendo ao período com microaeração de 10 minutos a cada 2 horas
F2	Fase 2 correspondendo ao período com microaeração de 30 minutos a cada 2 horas
h	Horas
k0	Constante cinética de ordem zero
k1	Constante cinética de primeira ordem
λmax	Comprimento de onda correspondendo ao pico de absorção das ligações azo
LSA	Laboratório de Saneamento Ambiental
MBBR	Reator de leito móvel com biofilme
MMS	Metil Metanosulfonado
NT	Nitrogênio total
O.D.	Oxigênio dissolvido
P.A.	Para análise
PCA	Polo de Confecção do Agreste de Pernambuco
pH	Potencial hidrogeniônico
R^2	Coeficiente de determinação
R1	Reator alimentado com efluente sintético contendo corante monoazo RO4
R2	Reator alimentado com efluente sintético contendo corante diazo RB5
RB5	Reactive Black 5
RBS	Reator em bateladas sequenciais

RBV 5R	Remazol Brilliant Violet 5R
RDP	Ribosomal Database Project
RO4	Reactive Orange 4
RR2	Reactive Red 2
SDT	Sólidos dissolvidos totais
SM	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater
SSV	Sólidos suspensos voláteis
TDH	Tempo de detenção hidráulica
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV-Vis	Varredura do espectro nos comprimentos de onda entre 200 e 800 nm

SUMÁRIO

1 **INTRODUÇÃO** 14
2 **OBJETIVOS** 18
2.1 OBJETIVO GERAL 18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 18
3 **REFERENCIAL TEÓRICO** 19
3.1 EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL 19
3.2 CORANTES AZO 21
3.3 TRATAMENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES TÊXTEIS 23
3.4 REATORES ANAERÓBIOS MICROAERADOS 26
4 **METODOLOGIA** 30
4.1 INÓCULO 30
4.2 CORANTES 30
4.3 EFLUENTE TÊXTIL SINTÉTICO 32
4.4 REATORES E CONDIÇÃO OPERACIONAL 34
4.5 MONITORAMENTO E MÉTODOS ANALÍTICOS 36
4.6 CINÉTICA DE REMOÇÃO DE COR E DQO 39
4.7 CITOTOXICIDADE 41
4.8 BIOLOGIA MOLECULAR 42
5 **RESULTADOS E DISCUSSÃO** 43
5.1 MONITORAMENTO DOS REATORES 43
5.1.1 Monitoramento das variáveis físico-químicas 43
5.1.2 Monitoramento da remoção de matéria orgânica e corante 46
5.2 SEMI-PERFIL TEMPORAL E CINÉTICA DE REMOÇÃO DE CORANTE E MATÉRIA ORGÂNICA 50
5.2.1 Variáveis físico-químicas: pH, oxigênio dissolvido e potencial redox 51
5.2.2 Produção e consumo de AOVs e cinética da remoção de matéria orgânica 54
5.2.3 Cinética de remoção dos corantes 59
5.2.4 Remoção de aminas aromáticas 62
5.3 REMOÇÃO DE SULFATO 66
5.4 CITOTOXICIDADE 68
5.5 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS COMUNIDADES MICROBIANAS 72
6 **CONCLUSÕES** 79

6.1 SUGESTÕES 81
REFERÊNCIAS 82

1 INTRODUÇÃO

A moda rápida ou *fast fashion* é um fenômeno atual que, nos últimos 15 anos se tornou em uma das principais indústrias globais, com valor total aproximado de US$ 1,3 trilhão em 2016, emprega mais que 300 milhões de pessoas ao longo de sua cadeia de fabricação e dobrou de produção entre 2010 e 2015 (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2017). A indústria da moda rápida possui cadeia de suprimentos global e se apoia na alta velocidade de produção, redução dos custos de fabricação e da vida útil das peças de vestuário, que se tornou a fórmula apoiada pela maior parte das grandes marcas de roupa atuais (BUSINESS INSIDER, 2019; MCKINSEY, 2016). As tendências apontam para um crescimento contínuo nos próximos anos, podendo chegar a 160 milhões de toneladas vendidas em 2050, o triplo das vendas em 2017 (ELLEN MACARTHUR FOUNDATION, 2017).

No âmbito do mercado mundial a indústria têxtil do Brasil, apesar de ainda ser uma das maiores produtoras do mundo, tem perdido mercado. Segundo a Associação Brasileira da Indústria Têxtil (ABIT, 2020), esta passou da 5ª posição em produção mundial em 2013 a 10ª em 2017. Esta já não participa expressivamente na economia mundial com anteriormente, situando-se na 23ª posição de exportações mundiais e na 22ª posição de importação de têxteis no mundo em 2018. No Brasil, a indústria têxtil possui relevância econômica e social. É uma indústria de aproximadamente 200 anos, 2ª maior empregadora da indústria de transformação, com faturamento de toda a cadeia de US$ 48,3 bilhões e empregando cerca de 1,5 milhões de pessoas diretamente. No setor, o Nordeste foi o segundo maior exportador do país e as microrregiões produtoras possuem destaque nacional e são fundamentais para desenvolvimento econômico regional (ABIT, 2020).

O crescimento expressivo e recente da moda rápida resultou, consequentemente, no aumento dos impactos ambientais causados pela indústria, que devido a sua característica de mercado vertical, disperso e globalizado acentua os danos causados no meio ambiente. Hoje, estima-se que cerca de 92 milhões de toneladas resíduos são gerados anualmente pela indústria da moda em escala global e a cada ano aproximadamente 79 trilhões de litros de água são consumidos na cadeia de produção (NIINIMAKI *et al.*, 2020). Além da produção de resíduos sólidos, alta emissão de CO_2 e elevado consumo de água, a indústria também é responsável pela contaminação de mananciais em função do lançamento de esgoto industrial *in natura*, fazendo

da indústria a segunda maior poluidora de águas e a produtora de 20% de efluentes no mundo em 2018 (UNEP, 2018).

O Polo de Confecção do Agreste de Pernambuco (PCA) é uma das microrregiões de importância para a indústria têxtil a nível nacional, estruturado como um Arranjo Produtivo Local (APL). Este é formado pelos municípios de Toritama, Caruaru, Santa Cruz do Capibaribe, Surubim e outras cidades próximas (ABIT, 2020; NTCPE, 2020). Devido ao caráter informal do APL, o desenvolvimento da indústria têxtil da região resultou em grandes impactos ambientais, sentidos na bacia do Rio Ipojuca e do Rio Capibaribe, principalmente pelo lançamento de esgotos brutos ou parcialmente tratados (CASTRO, 2013; CPRH, 2010; DIEESE, 2010; XAVIER, 2020).

O efluente da indústria têxtil possui composição complexa e variável, devido aos diferentes processos industriais que podem ser utilizados. Substâncias como surfactantes, sais, corantes, gorduras, ceras, amido, desinfetantes e metais são alguns dos compostos comumente encontrados na água residuária da indústria têxtil (DOS SANTOS *et al.*, 2007; AMARAL *et al*., 2017). Os corantes são considerados compostos alvos, pois eles e seus subprodutos formados a partir da degradação anaeróbia no meio ambiente são tóxicos e mutagênicos, além da cor dos efluentes que prejudica a fotossíntese dos ecossistemas aquáticos (CERVANTES & DOS SANTOS, 2011; VAN DER ZEE *et al.*, 2001; DOS SANTOS *et al.*, 2007; PANDEY, 2007). Da variedade dos corantes utilizados na indústria têxtil, os classificados como azo são mais utilizados e são caracterizados pela presença do grupo funcional azo (R – N=N – R).

Atualmente, são aplicadas tecnologias baseadas em processos físico-químicos ou biológicos, ou uma combinação destes, para o tratamento dos efluentes têxteis. Tecnologias físico-químicas são amplamente aplicadas mundialmente e na região do PCA (FERRAZ JR *et al*., 2011). Entretanto, o custo de implementação e operação, requerimento contínuo de produtos químicos e a necessidade de gerenciamento dos resíduos provenientes dos sistemas de tratamento de efluentes são as principais desvantagens desses métodos, que inviabilizam sua aplicação eficiente em regiões de baixa renda (SAMSAMI *et al*., 2020). Coagulação-floculação é um processo muito utilizado no PCA, porém resulta na transferência dos poluentes da fase líquida para a fase sólida, exigindo gerenciamento adequado (CHAGAS, 2009; SOUTO, 2017).

O uso de biotecnologias para tratamento de efluentes têxteis se apresenta como uma alternativa aos sistemas físico-químicos, pois possuem baixo requerimento de recursos, podem promover remoção de cor e redução da toxicidade, menor custo de implementação e operação.

O tratamento biológico de efluentes têxteis é bem desenvolvido, entretanto ainda há espaço para o refinamento deste tipo de tecnologia (MENZEZES *et al.*, 2019; BRITO, 2018, AMARAL *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

O tratamento biológico do efluente têxtil acontece em duas etapas: primeiramente, em ambiente anaeróbio e com a presença de matéria orgânica ocorre a remoção de cor e da matéria orgânica. A cor é removida através clivagem redutiva das ligações azo dos corantes, porém a quebra dessas ligações resulta na formação de aminas aromáticas. A degradação dessas aminas está bem consolidada em ambiente aeróbio (PANDEY *et al*., 2007; AMARAL *et al*., 2017). Logo, para a remoção biológica de cor e de toxicidade dos efluentes têxteis, é necessário garantir a exposição sequencial a ambientes anaeróbio e aeróbio.

A aplicação de microaeração em reatores anaeróbios de diversos efluentes têm sido reportada recentemente (CHEN *et al.*, 2020). De acordo com Nguyen e Khanal (2020) aplicar microaeração pode facilitar a degradação de compostos recalcitrantes aos processos anaeróbios, garantindo maior atividade e diversidade do consórcio microbiano, e resultando em maior estabilidade. O uso de culturas mistas anaeróbia e aeróbia para a biodegradação dos efluentes têxteis já vem sendo realizado pelo nosso grupo de pesquisa (AMARAL *et al*., 2017; AMARAL *et al.*, 2014; CARVALHO *et al.*, 2020; BRITO, 2018; MENEZES *et al.*, 2019).

O alto custo energético da fase aeróbia ainda é um gargalo para a aplicação dessa tecnologia em regiões de baixa renda, e requer, portanto, investigação sobre a otimização da taxa de aeração aplicada e as consequências na degradação de aminas aromáticas e redução de toxicidade. Menezes *et al*., (2019) e Oliveira *et al*., (2020) constataram a possibilidade da aplicação de aeração intermitente associada à reatores anaeróbios para a biodegradação de efluente têxtil sintético, contendo corante azo Direct Black 22 – DB22. Entretanto, ainda é necessário estudar diferentes taxas de aeração intermitente com intuito de otimizar essa fase.

O efluente têxtil possui uma mistura de corantes de estruturas moleculares diferentes. Os diversos grupos funcionais associados à molécula de cada corante tornam o processo de biodegradação complexo, com relação a cinética de remoção dos corantes e da degradação dos seus subprodutos para redução de toxicidade. (AMARAL, 2015; AMARAL, 2014; BRITO, 2018; VAN DER ZEE, 2001).

Neste contexto, com intuito de estudar os impactos da aeração intermitente associada à biodegradação anaeróbia de corantes azo, o presente trabalho investigou a degradação dos corantes monoazo Reactive Orange 4 – RO4 e do diazo Reactive Black 5 – RB5 e os seus

subprodutos utilizando microaeração associada à digestão anaeróbia, variando as condições de microaeração.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram divididos em geral e específicos, em que o objetivo geral busca resumir a finalidade do trabalho enquanto os objetivos específicos destrincham as etapas necessárias para alcançar o objetivo geral.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da duração da microaeração intermitente em reatores anaeróbios trabalhando em bateladas sequenciais sobre a degradação dos corantes monoazo, Reactive Orange 4 – RO4 e diazo, Reactive Black 5 – RB5.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Avaliar a influência de pulsos de aeração de 10 e 30 minutos, aplicados em reatores anaeróbios, sobre a remoção de matéria orgânica e dos corantes RO4 e RB5;
b) Avaliar e comparar a produção de aminas aromáticas durante a fase anaeróbia, sua remoção nas fases de aeração intermitente e a redução da toxicidade associada;
c) Determinar as constantes cinéticas de remoção de cor e de DQO;
d) Avaliar a diversidade microbiana presente nos reatores.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O referencial teórico está dividido em três partes, onde é abordada a composição do efluente têxtil, onde é possível avaliar as principais etapas no processo industrial responsável pela geração de efluente líquido; a caracterização e estrutura molecular dos corantes azo, que são tidos de modo geral, como os poluentes alvo; o processo biológico de degradação dos corantes azo e por fim o uso recente de reatores anaeróbios microaerados.

3.1 EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL

O processo de fabricação de peças na indústria têxtil envolve diversas etapas, as quais influenciam diretamente na composição dos seus efluentes gerados.

A transformação de fibras em fio e finalmente em tecido passa por uma série de processos físico-químicos. Esses processos podem ser agrupados em 8 etapas: engomagem, desengomagem, limpeza e desengorduramento, branqueamento, mercerização, tingimento, lavagem e finalização (BISCHOPS & SPANJERS, 2003; CORREIA *et al*., 1994; HOLKAR *et al*., 2016; DOS SANTOS *et al*., 2007).

- Engomagem: tem o objetivo de tornar a fibra mais trabalhável e minimizar quebras durante o processamento das fibras através da adição de amido ou derivados de amido, álcool polivinil ou carboximetilcelulose. Nessa etapa não há a produção de efluentes;
- Desengomagem: remoção das substâncias usadas para a engomagem, através de lavagem com enzimas, surfactantes, hidrólise ácida ou oxidantes. Nessa etapa há geração efluente com carga orgânica elevada devido a remoção de amido, comumente utilizado na engomagem, ou outros compostos similares;
- Limpeza e desengorduramento: é utilizado para remover impurezas das fibras, como óleos, ceras gorduras e surfactantes. Geralmente é feito através de banho com solução de hidróxido de sódio. O resíduo gerado tem pH elevado;
- Branqueamento: necessário para remover a cor natural das fibras, através de agentes oxidantes como hipoclorito, hidróxido de sódio, cloreto de sódio, peróxido de hidrogênio ou outros sais, onde é gerado um efluente altamente salino;

- Mercerização: É um tratamento físico-químico utilizado para melhorar a fixação dos corantes e dar brilho às peças de algodão, geralmente através de banho de solução alcalina (hidróxido de sódio ou outros sais), etapa que produz efluente;
- Tingimento: processo de coloração das peças através da aplicação de corantes. Além dos corantes podem ser adicionados agentes auxiliadores, como metais, sais, surfactantes e outros. É produzido grande volume de efluente salino e com cor elevada;
- Lavagem: é feita para remover o excesso dos produtos utilizados durante as etapas anteriores, produzindo efluente;
- Finalização: são feitos processos para melhorar as propriedades definitivas das peças, como abrandamento, proteção UV, entre outros. Pode gerar efluentes com presença de ceras, resinas, solventes e amaciantes.

As etapas apresentadas acima evidenciam a complexidade dos efluentes gerados pelas indústrias têxteis, demonstrando a relevância da busca por processos de tratamento desses efluentes, comumente tratados por processos físico-químicos (Amaral *et al*., 2017; Amaral *et al*., 2014; Ferraz Jr *et al*., 2011), entretanto os processos biológicos têm se mostrados promissores e serão explorados nos próximos capítulos dessa dissertação.

A complexidade desses efluentes fica evidenciada com o trabalho de Shoukat *et al*., (2019), que avaliaram o tratamento biológico de efluente têxtil real de uma indústria do Paquistão. O afluente possuía concentração de DQO média de 2400 mg/L, cor 1370 Pt-Co, pH entre 9,5-11,2, concentração de sólidos totais dissolvidos, cloretos, ortofosfato e nitrogênio total de 1870 mg SDT/L, 745,5 mg Cl^-/L, 22,3 mg PO_4^{3-}/L e 250-300 mg NT/L, respectivamente. Da mesma forma, Tomei *et al*., (2016) que estudaram o tratamento de efluente de uma indústria têxtil da Itália, através da aplicação de 3 ambientes, anaeróbio, aeróbio e sequencial anaeróbio-aeróbio, identificaram o afluente com concentrações elevadas de DQO, cloretos, fosfatos e nitrogênio amoniacal de 1017 mgDQO/L, 3860 mg Cl^-/L, 3200 mg PO_4^{3-}/L, 40 mg N-NH_3/L, respectivamente.

Além do exposto acima, esses efluentes também variam de acordo com o período produtivo, por exemplo, como reportado por Amaral *et al*., (2014) e Ferraz Jr *et al*., (2011) onde a composição dos corantes consumidos em uma lavanderia de pequeno porte no PCA variou significativamente entre os períodos festivos.

Na região do PCA diversos estudos realizados pelo Laboratório de Saneamento Ambiental – UFPE avaliaram as características dos efluentes da indústria têxtil local. A Tabela 1 apresenta um resumo das variáveis analisadas pelos estudos.

Tabela 1 – Características dos efluentes da APL.

	Referência			
Variável	Amaral (2014)	Amaral (2017)	Araújo (2017)	Ferraz Jr (2011)
pH	6,9	7,5	6,4	6,9
T (°C)	30	27	-	31
Condutividade elétrica (mS/cm)	8,11	4,8	-	4,1
Alcalinidade total (mg/L)	349	510	203	480
DQO (mgO_2/L)	1097	692	629	880
DBO (mgO2/L)	-	-	252	330
Cor real (Pt-Co)	406	288	450	-
Sulfato (mg/L)	158	334	1105	21

Fonte: adaptado de Amaral (2014), Amaral (2017), Araújo (2017) e Ferraz Jr (2011).

A presença de metais pesados, corantes, sais, alvejantes, oxidantes, garante altos índices de toxicidade a esses efluentes (SHARMA *et al*., 2014). Amaral *et al*., (2014) que trabalhou com efluentes de uma lavanderia do APL do PCA, reportaram fator de diluição (diluição necessária para não causar toxicidade ao organismo alvo) de 64 para os ensaios de eco-toxicidade com *Daphnia magna*, indicando que as grandes quantidades de corantes e sal consumidos pela indústria, no período de estudo, contribuíram fortemente para a toxicidade elevada. Ferraz Jr et *al*., (2011), que também trabalhou com efluentes das lavanderias da APL, obtiveram fator de diluição de 32 para análise de eco toxicidade com *Daphnia magna* exposta aos efluentes têxteis não tratados também indicando elevado índice de toxicidade para esse organismo indicador.

3.2 CORANTES AZO

A indústria têxtil é responsável pelo consumo anual de aproximadamente 7 x 10^7 toneladas de corantes sintéticos, dos quais cerca de 10% são despejados nos efluentes têxteis como consequência da baixa fixação às fibras durante o processo produtivo (BENKHAYA *et al*., 2020; CHANDANSHIVE *et al*., 2018). Dos corantes utilizados na indústria têxtil entre 60-70%

são classificados como azo, que são caracterizados pela presença do grupo azo (-N=N-) ligando anéis aromáticos, na sua estrutura molecular.

Os corantes são substâncias de elevada massa molecular, formados por anéis aromáticos associados a diferentes grupos funcionais. Os corantes têm em sua estrutura molecular grupos cromóforos, geralmente aceptores de elétrons e que garantem cor, e pelos grupos auxocromos, que são removedores ou doadores de elétrons, responsáveis pela intensidade da cor. Os principais grupos cromóforos são os azo (-N=N-), carbonila (-C=O), etileno (-C=C-), metino (-CH=), nitro ($-NO_2$) e grupos quinoides. Já os grupos amino ($-NH_2$), hidroxila (-OH), carboxila (-COOH), sulfônico ($-SO_3H$) são os principais grupos auxocromos (grupos funcionais que podem alterar a coloração ou intensidade da cor) (DOS SANTOS *et al*., 2007; POPLI e PATEL, 2015; VIKRANT *et al.*, 2018).

Os corantes azo podem ser classificados de acordo com o número de ligações azo em sua estrutura molecular: monoazo, diazo, triazo, tetra-azo ou poliazo; e de acordo com seu método de aplicação: reativos, dispersos, diretos ou ácidos. (DOS SANTOS et al., 2007; GUARATINI e ZANONI, 1999; BASTIAN e ROCCO, 2009).

- Reativos: caracterizados pela presença de grupos reativos capazes de formar ligações covalentes com os grupos hidroxila e tióis da celulose das fibras e das proteínas e com os grupos amino das poliamidas. Utilizados no tingimento de fibras celulósicas, seda e lã;
- Dispersivos: corantes insolúveis em água, geralmente aplicados no tingimento de fibras hidrofóbicas ou de celulose, através de agentes dispersantes;
- Ácidos: corantes aniônicos possuem presença de grupos sulfônicos que garantem solubilidade em água. São extremamente estáveis durante o processo de tingimento e amplamente utilizados em compostos nitrogenados, como lã, seda, couro e poliamidas;
- Diretos: solúveis em água e utilizados em produtos celulósicos como o algodão. Geralmente são aplicados através de banho quente e neutro ou levemente alcalino com presença de sais.

Devido à grande variedade de corantes utilizados no mundo é difícil estimar os corantes mais utilizados no mundo. Ferraz Jr *et al*. (2011) trabalharam com o tratamento biológico do efluente de uma lavanderia de pequeno porte no PCA durante 7 meses e identificaram o consumo de 305 kg de 10 corantes diferentes, dos quais 8 eram corantes azo. Amaral (2011)

continuou o trabalho de tratamento biológico de efluentes têxteis na lavanderia do PCA por 13 meses e reportou consumo de 879 kg de 7 corantes diferentes, todos corantes azo e solúveis em água. Ambos os trabalhos destacam o grande consumo do corante azo Direct Black 22. Já Amaral *et al*. (2017) utilizaram um reator UASB seguido de um Biofiltro Aerado Submerso para tratamento de efluentes têxteis de uma lavanderia de médio porte do APL. Durante 22 meses de operação identificou o consumo de 6024 kg de 28 corantes azo solúveis e também destacaram o alto consumo do corante tetra-azo Direct Black 22.

3.3 TRATAMENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES TÊXTEIS

Os tratamentos biológicos visam primariamente a remoção de matéria orgânica, cor (causada principalmente pela presença de corantes azo nos efluentes têxteis) e redução da toxicidade. O emprego de culturas microbianas nos processos de tratamento biológicos (microbianos e enzimáticos) foram amplamente investigadas devido a diversidade de organismos (bactérias, fungos e algas) capazes de degradar corantes azo e os seus subprodutos.

A remoção biológica de cor dos efluentes têxteis se dá predominantemente em ambiente anaeróbio através da ação de enzimas não específicas (azo reductases) que causam a clivagem redutiva das ligações azo dos corantes, na presença de doadores de elétrons. Tendo em vista que existe concentração de corantes e matéria orgânica biodegradável no efluente têxtil, esse efluente é propício para a remoção de cor através de tratamento biológico. De acordo com Dos Santos, Cervantes e Van Lier (2007) a redução do corante azo ocorre principalmente em ambiente extracelular e requer a transferência de 4 elétrons (equivalentes redutores) por ligação, em um processo de duas etapas, apresentadas na Equação 1 e 2. Sendo que Popli e Patel (2015) indicam que ambientes anaeróbios com potencial redox entre -180 e -430 mV seriam adequados para sustentar a clivagem redutiva das ligações azo.

$$(R_1–N=N–R_2) + 2e^- + 2H^+ \rightarrow (R_1–HN–NH–R_2) \quad (1)$$

$$(R_1–HN–NH–R_2) + 2e^- + 2H^+ \rightarrow R_1–NH_2 + R_2–NH_2 \quad (2)$$

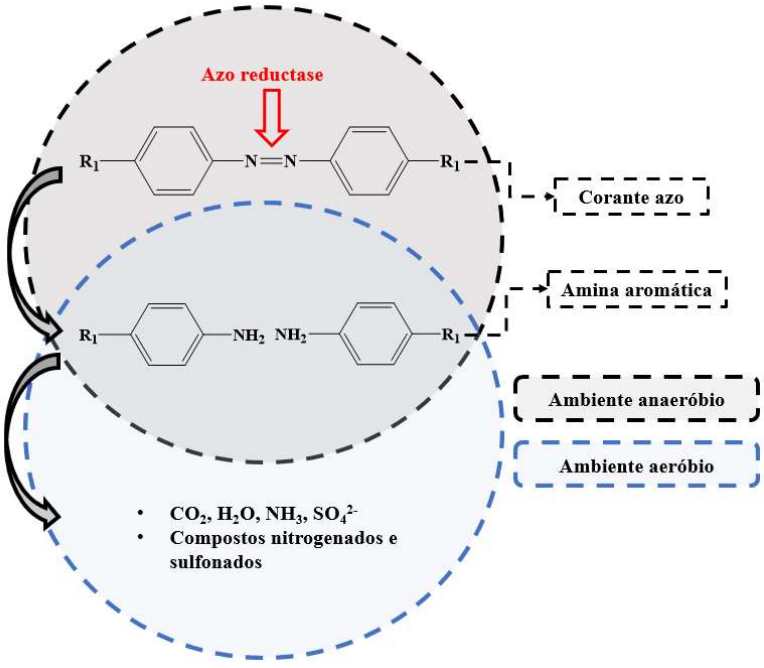
Fonte: adaptado de Dos Santos, Cervantes e Van Lier (2007), sendo R_1 e R_2 radicais, frequentemente orgânicos, inespecíficos para exemplificação das reações.

Os produtos comumente formados a partir da clivagem redutiva das ligações azo são chamadas de aminas aromáticas. As aminas são hidrocarbonetos aromáticos associados a um

ou mais grupos amina (–NH_2), podendo ser classificadas em monocíclicas, policíclicas ou heterocíclicas. Esses compostos são, geralmente, mais tóxicos que os próprios corantes. Várias aminas já foram reportadas como possuidoras de potencial carcinogênico e mutagênico (CHUNG e CERNIGLIA, 1992), sendo, portanto, essencial degradá-las para a redução da toxicidade do efluente têxtil.

As aminas aromáticas formadas a partir da degradação de corantes azo podem apresentar grupos sulfonados em sua estrutura molecular. Esses grupos reduzem a permeabilidade do composto nas células dos microrganismos, tornando-as mais recalcitrantes ao tratamento biológico (TAN *et al*., 2005). As aminas são recalcitrantes à degradação anaeróbia, porém em ambiente aeróbio funcionam como aceptor de elétrons para o metabolismo de certos organismos (ARORA, 2015). Logo, para a remoção efetiva das aminas é necessário a adição de oxigênio no meio (SARAYU e SANDHYA, 2012; TAN *et al.*, 2005). A Figura 1 apresenta um fluxograma esquemático da degradação biológica dos corantes azo.

Figura 1 – Fluxograma esquemático da degradação biológica de corantes azo.



Fonte: O autor (2021).

Apesar do exposto acima, em ambiente aeróbio algumas aminas aromáticas reagem com o oxigênio dissolvido e sofrem autoxidação, podendo produzir compostos de coloração similar ao do corante predecessor (KUDLICH *et al.*, 1999).

Os trabalhos reportados acima mostram que o tratamento dos efluentes da indústria têxtil requer a aplicação de ambientes anaeróbios seguidos de aeróbio. Entretanto, a necessidade da aeração encarece os custos do tratamento biológico, o que pode inviabilizar a aplicação em regiões de baixa renda, além de possibilitar a autoxidação das aminas aromáticas que pode prejudicar a remoção de cor. Por isso, ainda é necessário investigar as melhores condições da fase de aeração para permitir redução dos custos mantendo a redução da toxicidade e minimização da autoxidação.

Wang *et al*. (2014) avaliaram a biodegradação do corante diazo RB5 e as aminas aromáticas formadas a partir de sua degradação em reatores em bateladas únicas. Os autores reportaram que após a remoção quase total de cor em 7 dias de reação anaeróbia, a aplicação oxigênio em alta concentração ocasionou autoxidação das aminas aromáticas produzindo cor e que esse novo composto resistiu a degradação aeróbia. Já Carvalho *et al*. (2020) estudaram a influência da adição da microaeração (0,18±0,05 mg O.D./L) acima da manta de lodo em um reator UASB para degradar efluente têxtil sintético contendo corante azo DB22. Os autores reportaram que a microaeração não resultou na autoxidação das aminas aromáticas e as removeu significativamente, reduzindo a ecotoxicidade aguda do efluente tratado. A estratégia de utilização de microaeração é promissora para garantir a remoção de aminas aromáticas produzidas a partir da degradação de efluentes têxteis reduzindo a toxicidade do meio e minimizando a autoxidação das aminas.

A literatura reporta uma variedade de configurações de reatores que aplicam ambientes anaeróbio-aeróbio utilizados para tratar efluentes têxteis. Amaral *et al.* (2014) utilizam um sistema de reator UASB seguido de biofiltro aerado submerso (BAS) com concentração de oxigênio dissolvido de 3,0 mg/L, variando o tempo de detenção hidráulica total de 23 h para 12 h, para tratar efluente têxtil real. O Sistema apresentou remoção máxima de cor de 96% e remoção máxima de DQO de 71%. Os autores ainda reportaram remoção de aminas aromáticas e redução significativa de toxicidade no efluente do BAS.

Koupaie *et al*. (2011) apresentam que aplicaram um reator anaeróbio em bateladas sequenciais seguido de reator de leito móvel com biofilme (MBBR) com TDH de 24 horas em cada reator, para degradar o corante monoazo Acid Red 18 (100 – 500 mg/L) e DQO (3040 –

3620 mg/L). O reator anaeróbio removeu 98% de cor e 80% de DQO. O MBBR conseguiu remover significativamente as aminas, mas causou leve autoxidação. Os autores ainda detectaram a presença da amina aromática ácido 4-aminonaftaleno-1-sulfônico no efluente do reator anaeróbio e verificaram remoção de até 100% desse subproduto no MBBR. Esses reatores são modernos, exigindo

Já Shaw *et al*., (2002) utilizam reatores em bateladas sequenciais anaeróbio-aeróbio com tempo de ciclo de 24 horas e troca volumétrica de 38,5% para tratar efluente têxtil sintético. Os reatores trabalharam com 18,5 horas de reação anaeróbia e 0,5 horas de reação aeróbia com vazão de ar de 5 L/min, para degradar efluente têxtil sintético contendo 3916 mg DQO/L através de mistura de amido, álcool polivinílico e carboximetilcelulose e 533 mg/L do corante reativo diazo Reactive Black 5. Mais de 94% e 66% de remoção de cor e DQO foi observada nos reatores. O período de reação aeróbia conseguiu remover as aminas aromáticas formadas da degradação do RB5.

Os reatores em bateladas sequenciais são alternativas interessantes para a aplicação de culturas mistas anaeróbia-aeróbia para o tratamento de efluentes da indústria têxtil, pois o funcionamento em ciclos permite adotar diferentes ambientes (anaeróbio, anóxico, aeração contínua, intermitente etc.), necessários para a degradação de compostos complexo como os corantes azo em um mesmo ciclo e no mesmo compartimento.

3.4 REATORES ANAERÓBIOS MICROAERADOS

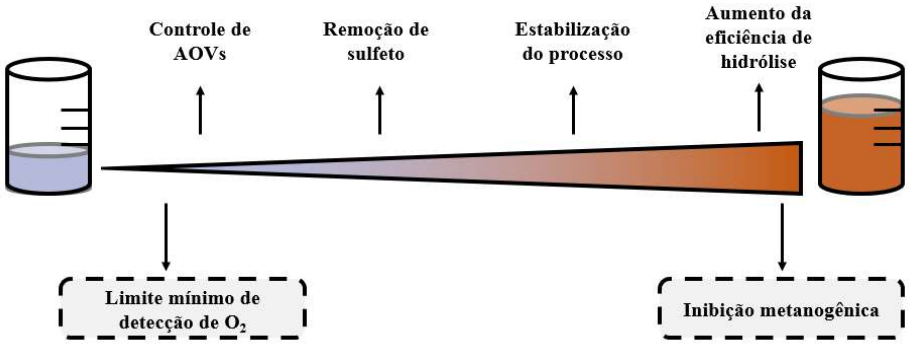
A adição de oxigênio em reatores anaeróbios pode parecer uma alternativa contraditória tendo em vista que os organismos anaeróbios estritos e os metanogênicos, responsáveis pela remoção final de matéria orgânica nos reatores anaeróbios são sensíveis a concentrações de 0,05 mg/L de oxigênio dissolvido (KATO, FIELD e LETTINGA, 1997). Porém, estudos recentes mostraram que a aplicação de pequenas doses de oxigênio pode trazer benefícios à digestão anaeróbia (BOTHEJU e BAKKE, 2011; GIROTTO *et al*., 2018).

A digestão anaeróbia da matéria orgânica é um processo complexo, que envolve o equilíbrio de interrelações de processos metabólicos capazes de converter compostos orgânicos complexos em moléculas mais simples até metano. A digestão anaeróbia pode ser resumida em 4 grandes etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Na hidrólise, compostos

orgânicos complexos são convertidos a monômeros orgânicos através de processos enzimáticos extracelulares de organismos facultativos e anaeróbios estritos. A acidogênse, ou fermentação, é responsável pela conversão dos monômeros orgânicos a hidrogênio, bicarbonato, ácidos orgânicos voláteis e outros compostos orgânicos (etanol, ácido lático, H_2, CO_2 etc.). Na etapa da acetogênese, os organismos convertem os subprodutos da acidogênese a ácido acético, CO_2 e H_2. A metanogênese, etapa final, é realizada pelas arqueias metanogênicas que produzem metano através da conversão de ácido acético (rota acetoclástica) ou de CO_2 e H_2 (hidrogenotróficas) (METCALF e EDDY, 2003).

A aplicação de microaeração nos reatores anaeróbios traz 3 benefícios: aumento na eficiência da hidrólise e da produção de ácidos orgânicos, desulfurização do biogás e estabilidade do processo através da promoção de maior diversidade microbiana Nguyen *et al*., (2018). Krayzelova *et al*., (2015) e Van der Zee *et al*., (2007) reportaram que a adição de pequenas doses de oxigênio em reatores anaeróbios utilizados para degradar efluentes ricos em sulfato resultou na desulfurização do biogás através da oxidação biológica do sulfeto. Chen *et al*., (2020) revisaram estudos que reportaram que a adição de microaeração promoveu maior diversidade de organismos hidrolíticos e fermantativos facultativos e metanogênicos aerotolerantes, resultando no aumento da produção de AOVs e de metano. De acordo com os autores, o rápido consumo do oxigênio pelas bactérias fermentativas facultativas protege os organismos estritamente anaeróbios. Os efeitos da microaeração irão depender da estratégia de aeração adotada, como indica a Figura 2.

Figura 2 - Funções da microaeração associada a digestão anaeróbia.



Fonte: O autor (2021).

Nguyen *et al*., (2018) consideram que não existe padronização no monitoramento nem da classificação de reatores microaerados, porém indicam o uso da medição do potencial redox para o monitoramento do ambiente, pois as sondas de potencial redox são capazes de detectar mudanças pequenas na concentração do oxigênio dissolvido. De acordo com Nguyen *et al*., (2018) e Chen *et al*., (2020), ambientes microaerados possuem potencial redox entre 0 e – 300 mV.

A aplicabilidade dos reatores microaerofílicos para tratar efluentes têxteis vêm sendo investigada recentemente. Kumar *et al*., (2015) avaliaram a remoção de cor e DQO em SBR microaerado, com tempo de ciclo de 48 horas, alimentados com efluente sintético com glicose como doador de elétrons (3 gDQO/L) e corante azo Acid Black 10B (50 – 750 mg/L). A microaeração foi fornecida através de pulsos de ar de 10 minutos a cada 4 horas (mantendo concentração de O.D. entre 0,4 – 0,8 mg/L). O reator obteve máxima remoção de cor e DQO de 93% e 89%, respectivamente. A estratégia de microaeração foi efetiva para a remoção de cor e matéria orgânica, entretanto os autores reportaram acúmulo de aminas aromáticas.

O trabalho de Carvalho *et al*., (2020) já citado (item 3.3) também reportou melhoria na remoção de DQO com adição de microaeração acima da manta de lodo de um reator UASB para tratar efluentes têxteis. Os autores ainda reportaram presença de organismos metanogênicos nos reatores, comprovando que a microaeração não inibiu a presença desses organismos e que também promoveu o crescimento de organismos fermentativos facultativos ligados a degradação de aminas aromáticas.

Já Menezes *et al*., (2019) avaliaram os efeitos de diferentes estratégias de microaeração em RBSs anaeróbios, utilizados para degradar efluente têxtil sintético contendo 32,5 mg/L do corante tetra azo Direct Black 22 e etanol 1,2 gDQO/L. Os autores utilizaram 3 reatores, 1 anaeróbio e 2 funcionando com 12 horas anaeróbias e 11 horas de microaeração. 1 dos reatores microaerados funcionou em esquema de pulsos de 30 minutos de 0,25 L/min de ar a cada 2 horas. O reator com microaeração intermitente apresentou 77% e 81% de remoção de cor e DQO, resultados de remoção de cor e DQO similares aos do reator com microaeração contínua (75% e 79%, respectivamente). Os reatores microaerados obtiveram maior eficiência de remoção de DQO que o reator completamente anaeróbio indicando vantagem da aplicação da microaeração, porém também apresentaram autoxidação das aminas aromáticas que prejudicou levemente a remoção de cor. A adição de microaeração ainda removeu completamente a eco-toxicidade do efluente. Os resultados desse trabalho indicaram que o esquema de microaeração foi essencial para o tratamento do efluente têxtil, com boa remoção de matéria orgânica e cor e

redução da toxicidade e que a estratégia de microaeração intermitente mostrou ser mais vantajosa que a microaeração contínua.

Nesta mesma linha, Câmara (2021) avaliou diferentes tempos de pulsos de aeração intermitente de 10, 15 e 30 minutos a cada 2 horas em reatores anaeróbios em bateladas sequenciais para a degradação de anilina e ácido sulfanílico, que são intermediários do processo de degradação de corantes azo. A autora identificou que os pulsos de 10 minutos foram suficientes para a degradação dos compostos estudados, sugerindo que essa estratégia possa ser empregada na otimização de tratamento de corantes azo, trazendo um avanço aos resultados obtidos por Menezes *et al.*, (2019).

Esses resultados indicaram que além da aplicação de ambientes microaerados, utilizar pulsos de aeração pode ser uma estratégia atrativa para o tratamento de efluentes têxteis, entretanto ainda existem lacunas com relação a variação dos pulsos de aeração e os efeitos na eficiência de remoção de aminas aromáticas resultantes de corantes diversos.

4 METODOLOGIA

O trabalho consistiu na operação de reatores em bateladas sequenciais para tratar efluente têxtil sintético. Os efluentes eram produzidos diariamente no Laboratório de Saneamento Ambiental – LSA da Universidade Federal de Pernambuco e as análises foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental – UFPE no LABIOTA-LITPEG, também na UFPE.

4.1 INÓCULO

O inóculo utilizado proveio de uma mistura entre lodos anaeróbios utilizados para tratar efluentes têxteis sintéticos (contendo corante azo Direct Black 22) em um reator UASB e lodo de um reator anaeróbio da indústria petroquímica. Esse inóculo foi previamente aclimatado por Câmara (2021), por 180 dias, em reator anaeróbio com aeração intermitente alimentado com as aminas aromáticas anilina e ácido sulfanílico, comumente encontrados como subprodutos da degradação de corantes azo. A escolha de se utilizar um inóculo adaptado à degradação de aminas aromáticas se deu em função da conhecida dificuldade de degradação de tais compostos.

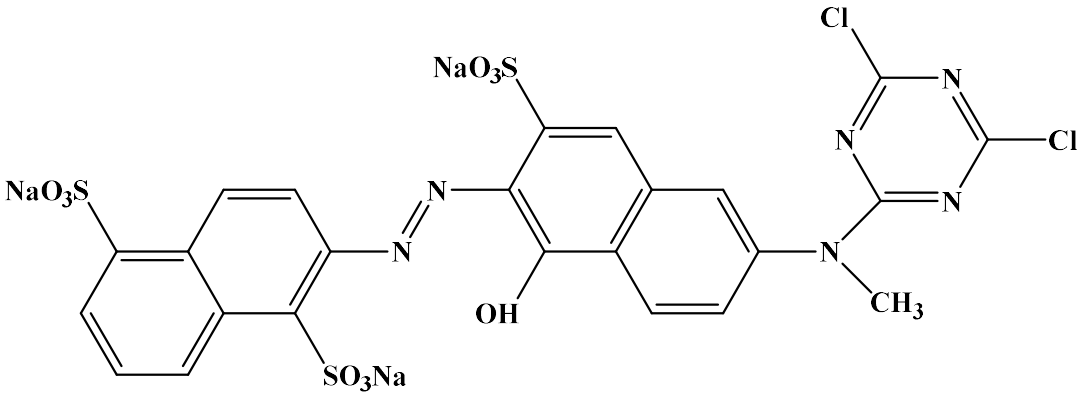
O inóculo foi utilizado com concentração inicial de sólidos suspensos voláteis no licor misto de 2,89±0,05 g SSV/L nos reatores. A diversidade microbiana, caracterizada a nível de gênero foi caracterizada e será discutida no item 5.5.

4.2 CORANTES

Os corantes Reactive Orange 4 – RO4 e o Reactive Black 5 – RB5 foram utilizados neste trabalho. O RO4 é um corante monoazo, fornecido por uma lavanderia parceira ao LSA-UFPE, com pureza 50% (AMARAL *et al*., 2017). O Reactive Black 5 – RB5 é um corante diazo e foi adquirido pela Sigma-Aldrich com pureza de 50%. Adotou-se concentração de 32,5 mg/L de corante, em seus respectivos reatores, uma vez que de acordo com Amorim *et al*. (2013) garantiria coloração semelhante à apresentada pelo efluente têxtil real, em torno de 400 mg/L de Pt-Co. O Reator 1 foi alimentado com efluente contendo corante RO4 e o Reator 2 com RB5.

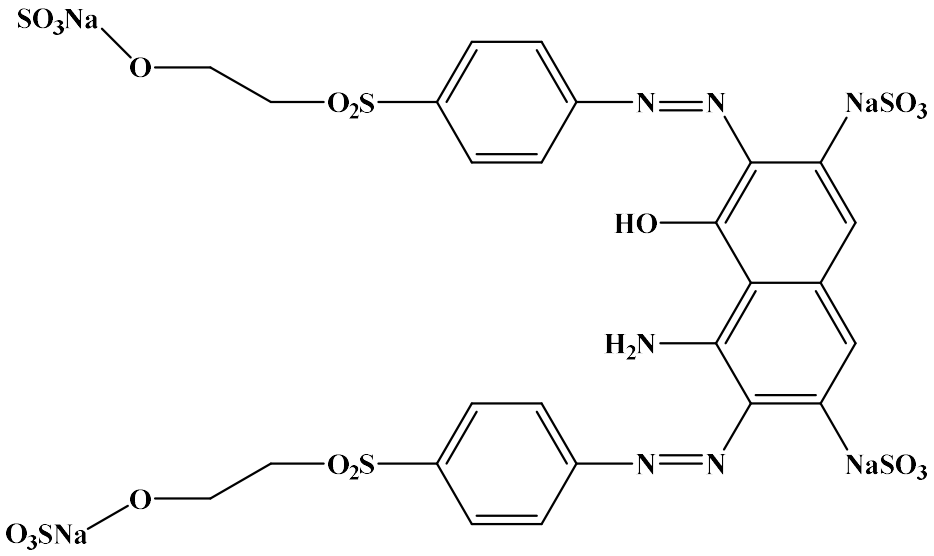
As Figuras 3 e 4 mostram a estrutura molecular e algumas informações dos corantes RO4 e RB5, respectivamente. Os corantes foram utilizados em soluções estoque de 10 g/L.

Figura 3 - Estrutura molecular do corante Reactive Orange 4.



Reactive Orange 4
Massa molar: 781,47 g/mol
λmáx = 489 nm
CAS # 70616-90-9
Fórmula molecular: $C_{24}H_{13}Cl_2N_6Na_3O_{10}S_3$
Fonte: O autor (2021).

Figura 4 - Estrutura molecular do corante Reactive Black 5.



Reactive Black 5
Massa molar: 991,82 g/mol
λmáx = 595 nm
CAS # 17095-24-8
Fórmula molecular: $C_{26}H_{21}N_5Na_4O_{19}S_6$

Fonte: O autor (2021).

4.3 EFLUENTE TÊXTIL SINTÉTICO

Os efluentes sintéticos foram produzidos diariamente e consistiram de uma solução de micro e macronutrientes com adição de salinidade, um corante azo e uma fonte de carbono. Cada reator foi alimentado com um corante específico (Reator 1, alimentado com o RO4 e o Reator 2 alimentado com o RB5).

Neste trabalho, etanol (P.A. 99%, Química Moderna, Barueri, BRA) foi escolhido como fonte de carbono, principalmente por ser um composto simples, adequado para o estudo cinético de degradação de corantes azo.

As Tabelas 2 e 3 mostram a composição do efluente têxtil sintético utilizado no trabalho.

Tabela 2 - Composição do efluente têxtil sintético.

Composto	Concentração	Função
Corante (RO4 ou RB5)	32,5 mg/L	Interferente típico
Etanol	1200 mg DQO/L	Doador de elétrons
$NaHCO_3$	1200 mg/L	Tampão
NaCl	1000 mg/L	Interferente típico
NH_4Cl	280 mg/L	Macronutriente
K_2HPO_4	252 mg/L	Macronutriente
$MgSO_4.7H_2O$	100 mg/L	Macronutriente
$CaCl_2$	7 mg/L	Macronutriente
Micronutrientes (Tabela 3)	1 mL/L	Micronutriente

Fonte: adaptado de dos Santos *et al*. (2006) e Florêncio *et al*. (1993).

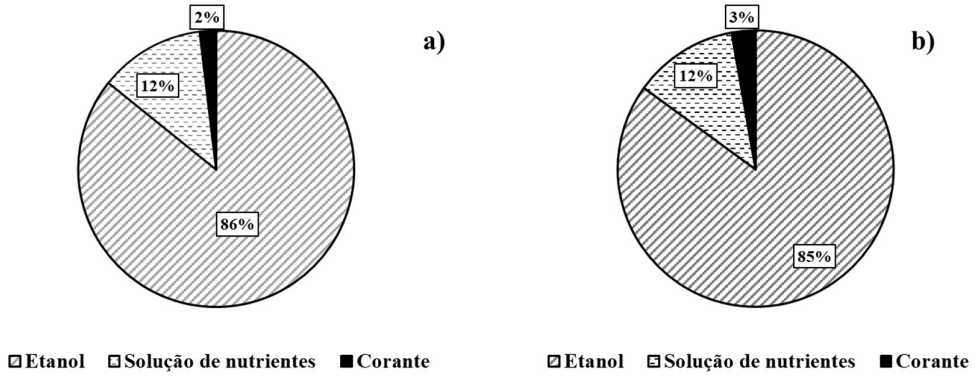
Tabela 3 - Composição da solução de micronutrientes.

Composto	Concentração
$FeCl_2.4H_2O$	2000 mg/L
$CoCl_2.6H_2O$	2000 mg/L
EDTA	1000 mg/L
$ZnCl_2$	500 mg/L
$NaSeO_3.5H_2O$	142 mg/L
$NiCl_2.6H_2O$	142 mg/L
$AlCl_3.6H_2O$	90 mg/L
$(NH_4).Mo_7O_{24}.4H_2O$	50 mg/L
H_3BO_3	50 mg/L
$MnCl_2.4H_2O$	38 mg/L
$CuCl_2.2H_2O$	38 mg/L
HCl	1 mL/L

Fonte: Adaptado de Florêncio *et al*. (1993).

A Figura 5 mostra a composição da demanda química de oxigênio (DQO) do efluente têxtil sintético, em que a maior parte da DQO (85 ou 86%) foi proveniente do etanol adicionado, seguida do meio de nutrientes (macro e micro) (12%) e por fim, os corantes (3 ou 2%).

Figura 5 - Percentual da DQO por substrato no efluente sintético contendo corantes: a) Reactive Orange 4 e b) Reactive Black 5

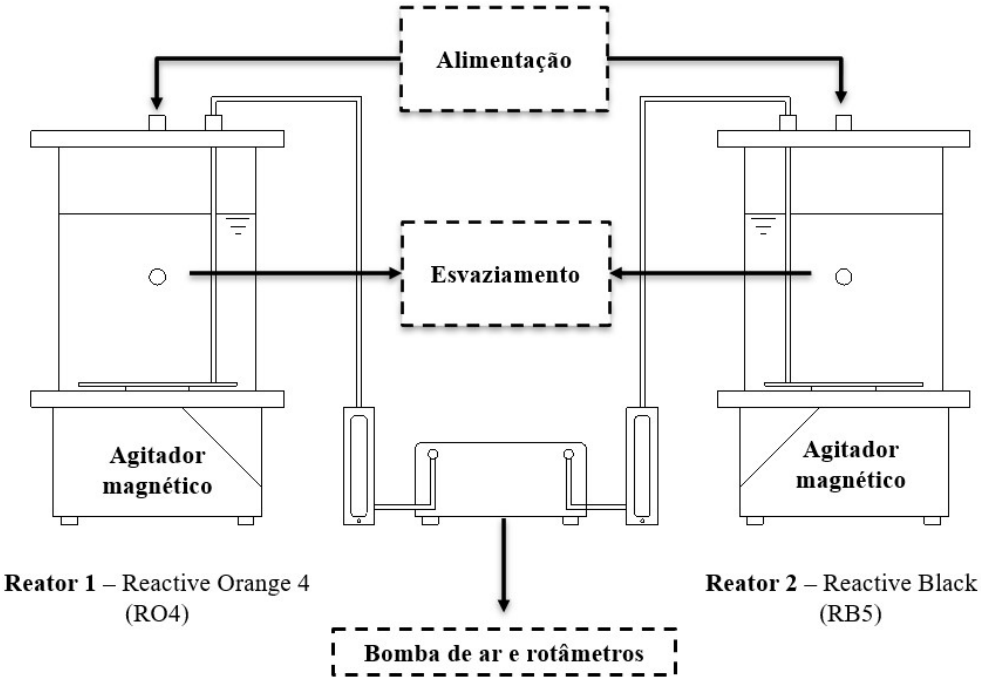


Fonte: O autor (2021).

4.4 REATORES E CONDIÇÃO OPERACIONAL

Foram utilizados 2 reatores cilíndricos de acrílico durante todo período experimental. Eles possuíam dimensões de 20 cm de diâmetro e 19 cm de altura com volume total de 6 L, e trabalharam com volume útil de 4 L. Os reatores funcionaram em bateladas sequenciais com reação anaeróbia e microaerada intermitente com tempo de ciclo de 24 horas e troca volumétrica manual diária (6 vezes por semana) de 1,35 L (33,8%) de efluente têxtil sintético, descrito no item 4.3. Os reatores foram operados em temperatura ambiente (29 ± 0,2°C e 28,9 ± 1,5°C, para os reatores 1 e 2). A Figura 6 mostra o esquema dos reatores.

Figura 6 - Esquema de funcionamento dos reatores.

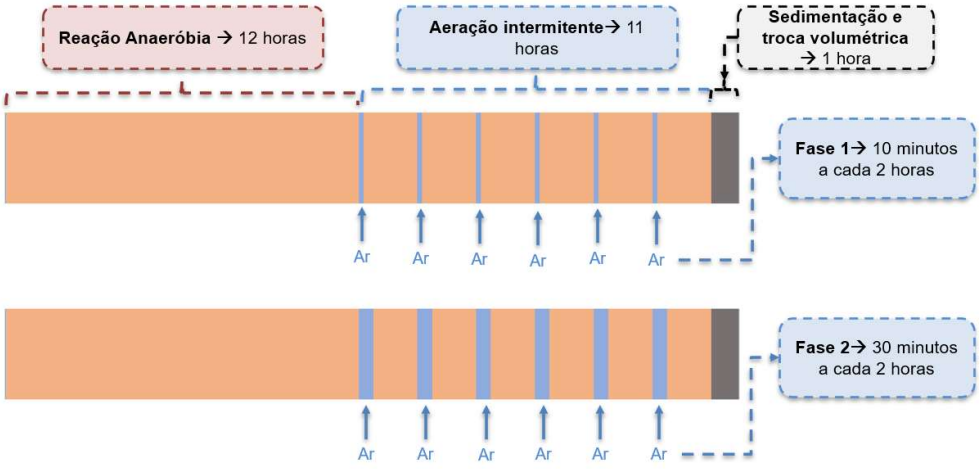


Fonte: O autor (2021).

A operação dos reatores foi dividida em duas fases, onde variou-se a duração do período de aeração. Na Fase 1 houve a inoculação dos reatores, com inóculo descrito no item 4.1, e na Fase 2 foi utilizado inóculo já adaptado da fase anterior.

Os ciclos de 24 horas dos reatores eram idênticos, divididos em 12 horas iniciais de reação anaeróbia (50%), seguidos de 11 horas de aeração intermitente (45,8%), 56 minutos de sedimentação (3,9%) e 4 minutos para esvaziamento e troca volumétrica (0,3%). Na Fase 1, o período de aeração consistiu em aplicar pulsos de ar de 10 minutos a cada 2 horas, enquanto na Fase 2 os pulsos foram aumentados para 30 minutos a cada 2 horas. A Figura 7 mostra a divisão do ciclo de reação.

Figura 7 - Ciclo dos reatores nas Fases 1 e 2.



Fonte: O autor (2021).

Os reatores possuíam agitação leve, através de agitadores magnéticos (QUIMIS, Q-241, Diadema - BRA). A aeração foi providenciada por bombas de ar (JAD – Air Pump, S2000, CHN) controladas por rotâmetros (Tecnofluid, TRV-140-K-7, Nova Lima - BRA) para garantir vazão de ar de 0,25 L/min. Dentro dos reatores, o ar era distribuído por difusores do tipo membrana porosa (Resun, Air Curtain, CHN). A intermitência foi realizada através de programadores automáticos (Clip, CLB-40, São Roque - BRA) que controlavam o fornecimento de energia elétrica da bomba de ar.

4.5 MONITORAMENTO E MÉTODOS ANALÍTICOS

A análise de cor foi realizada através da varredura do espectro UV-Visível do afluente e efluente e a concentração de corante foi determinada através do cálculo da área sob a curva correspondente aos picos característicos da cor de cada corante. Os picos característicos dos corantes estão indicados nas Figuras 3 e 4. Para o cálculo da concentração dos corantes foi feito uma curva de concentração x área de absorbância com 11 pontos, variando entre 2,5 e 40,0 mg/L. As curvas tiveram coeficiente de ajuste R^2 de 0,99. As análises do espectro UV-Vis dos reatores foram feitas utilizando o sobrenadante das amostras centrifugadas por 15 minutos a 3500 rpm (Thermo Scientific Heraeus Multifuge X1, São Paulo - BRA). O sobrenadante

centrifugado foi filtrado (Satorius, Sartolon Polyamid 0,2 μm, São Bernardo do Campo – BRA) para análise de DQO.

As aminas aromáticas também foram determinadas por método qualitativo através da varredura espectro UV-Visível. De acordo com Pinheiro, Thouraud e Thomas (2004) é possível identificar a presença de aminas aromáticas nas faixas UV entre 200 e 350 nm, evitando interferência da cor e de outros compostos comuns a processos anaeróbios, como sulfeto.

As variáveis cor, DQO, pH, oxigênio dissolvido, condutividade, temperatura e potencial redox do afluente e efluente dos reatores foram monitoradas em média 3 vezes na semana, seguindo os métodos apresentados na Tabela 4. Após obtenção do equilíbrio dinâmico aparente na Fase 1, foi feito o monitoramento das 12 horas de reação anaeróbia de um ciclo típico através da análise a cada 2 horas de: cor, DQO, pH, O.D., potencial redox, condutividade, temperatura e AOVs. Nesse ciclo típico, também foi analisada a concentração de sulfato no afluente, ao fim da fase anaeróbia e no efluente.

Ao fim da Fase 2, foi adotada análise das mesmas variáveis na mesma frequência. Porém, AOVs foram monitorados a cada hora nas 4 primeiras horas de reação e depois a cada 2 horas até completar o ciclo anaeróbio. Concentração de corantes e DQO foram monitorados ao longo das 24 horas de um ciclo, com coleta de amostras a cada 2 horas durante as 24 horas do ciclo. As análises apresentadas na Tabela 4, foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos em *Standrd Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Tabela 4 - Análises realizadas durante o monitoramento periódico dos reatores.

Análise	**Método**	**Equipamento**
Cor	Espectrofotométrico	HITACHI, U2900
DQO	Colorimétrico	Digestor Merck TR420, Espectrofotômetro HACH, DR900
pH, O.D., Pot. Redox, Condutividade e Temperatura	Potenciométrico	Multiparâmetro Hach HQ40d
Sulfato	Colorimétrico	Espectrofotômetro Nanocolor UV-Vis II

Fonte: O autor (2021).

A concentração de AOVs foi determinada por cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama (GC-FID), através de extração dos AOVs em éter etílico e análise no cromatógrafo Agilent Technologies 7890A. As etapas na extração em éter etílico estão apresentadas abaixo:

1. Adição de 1 ± 0,001g de cloreto de sódio P.A., em um tubo de vidro com tampa rosqueável;
2. Adição aos tubos de vidro contendo cloreto de sódio:
    a. 2 mL de amostra;
    b. 100 µL de ácido crotônico 700 mg/L;
    c. 200 µL de ácido sulfúrico 2 M;
    d. 0,6 mL de éter etícilo P.A.
3. Agitação em agitador vórtex por 2 minutos e centrifugação por 2 minutos;
4. Injeção de amostra com seringa pré-lavada em éter etílico.

As condições cromatográficas estão indicadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Condições cromatográficas para análises de AOVs por cromatografia gasosa.

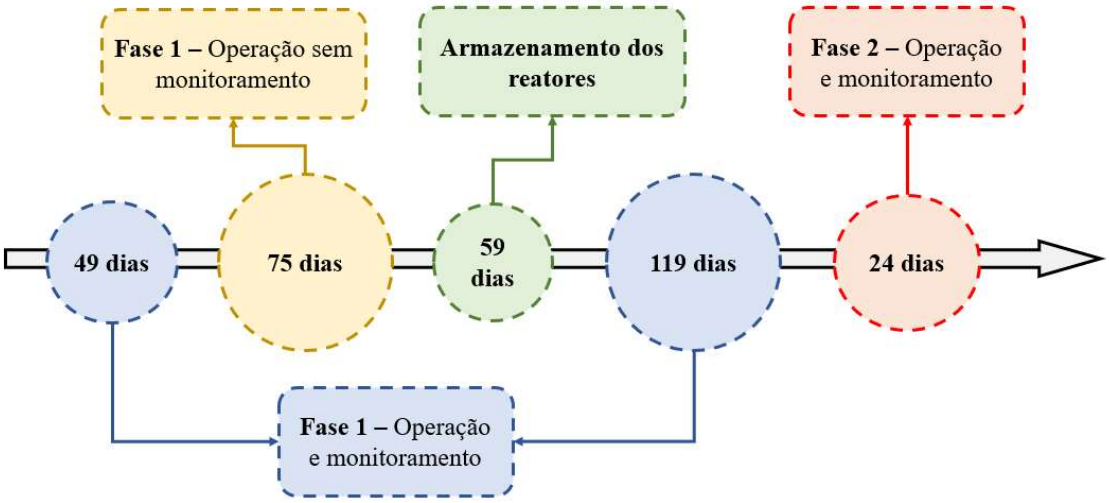
Condição	
Volume de injeção	2,0 µL
Modo de injeção	Split 1:10
Temperatura do injetor	250 °C
Coluna	J&W 122-7332: 260°C: 30 m x 250 µm x 0,25 µm
Rampa de temperatura	100°C por 1 min, taxa de 8°C/min até 150°C por 1 min e taxa 35°C/min até 200°C por 1 min
Tempo total de análise	10,7 minutos
Gás de arraste	N_2
Temperatura do detector	300°C
Fluxo	1,0 mL/min
Detector	Ionização de chama (FID)

Fonte: O autor (2021).

Os reatores foram operados por 267 dias, divididos entre Fase 1 e Fase 2. A Fase 1 teve duração total de 243 dias. Do dia 1 ao 49 os reatores foram alimentados e monitorados, do dia 50 ao dia 124 (75 dias) os reatores foram operados, porém não foram monitorados, devido à limitação de acesso aos laboratórios da UFPE, em função da pandemia causada pelo COVID19. Após o dia 124 houve uma pausa na operação dos reatores e eles foram armazenados a 4°C e alimentados periodicamente por 59 dias, como resultado da declaração de lockdown pela universidade como resultado do agravamento da situação da pandemia na região. Com o retorno das atividades, os reatores foram operados e monitorados dos dias 125 ao 243 (119 dias). A Fase 2 ocorreu depois da fase 1, onde os pulsos de aeração foram alterados de 10 minutos a cada 2 horas para 30 minutos. Essa fase teve duração total de 24 dias, em que os reatores foram operados e monitorados. O aumento do período dos pulsos de aeração teve como objetivo principal melhorar a remoção de aminas aromáticas produzidas a partir da degradação anaeróbia dos corantes.

A Figura 8 mostra um perfil temporal dos períodos operacionais dos reatores.

Figura 8 - Perfil temporal da operação dos reatores.



Fonte: O autor (2021).

4.6 CINÉTICA DE REMOÇÃO DE COR E DQO

Foi feita a análise cinética da remoção de cor e DQO obtida durante a investigação do ciclo de reação (item 4.4) nas Fases 1 e 2, com objetivo de obter os modelos que melhor

representassem os processos e permitissem comparação entre as fases e os tipos de corantes utilizados. Os melhores ajustes foram obtidos para as reações de ordem zero ou de primeira ordem.

De acordo com Levenspiel (2000) os modelos de ordem zero mostram que a taxa de decaimento do composto estudado se mantém constante ao longo da reação, ou seja, a reação independe da concentração do composto. As Equações 3 e 4 descrevem as reações ajustadas para comportamento de ordem zero.

$$\frac{dC}{dt} = -k_0 \tag{3}$$

$$C = C_0 - k_0.(t - t_0) \tag{4}$$

Já os modelos de primeira ordem mostram que a taxa de decaimento é dependente da concentração do composto. Ou seja, ao avaliar a degradação de uma substância que segue modelo de primeira ordem, no início da reação o decaimento é mais acentuado e vai sendo reduzido ao longo do tempo. As Equações 5 e 6 descrevem o comportamento do modelo de primeira ordem.

$$\frac{dC}{dt} = -k_0.C \tag{5}$$

$$C = C_0.e^{-k_0.(t-t_0)} \tag{6}$$

Para determinação do coeficiente cinético no modelo de primeira ordem é necessário linearizar a Equação 6, que resulta na equação 7. O cálculo de coeficiente cinético se deu através da reta que melhor se ajustou à variação do logaritmo natural da concentração do composto ao longo do tempo.

$$Ln(C) = Ln(Co) - k_0.(t - t_0) \tag{7}$$

4.7 CITOTOXICIDADE

Esta etapa da pesquisa foi realizada no Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, pelo mestrando Victor Ventura de Souza, aluno da Prof[a.] Ana Cristina Brasileiro Vidal, em parceria com o autor da presente dissertação de mestrado.

As amostras foram coletadas em ambos os reatores, quando estes estavam no estágio de equilíbrio dinâmico aparente, nas Fases 1 e 2. Foram amostrados o afluente, o efluente da fase anaeróbia e do efluente final, para realizar análises de citotoxicidade através de ensaios de germinação e citometria de fluxo em sementes de *Allium cepa (A. cepa)*.

A germinação das sementes de *A. cepa* foi realizada em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, com duas folhas de papel filtro fino, contendo 5 mL de amostra dos afluentes e efluentes. Como controle negativo foi utilizada água mineral e como controle positivo foram utilizados o Metil Metanosulfonato (MMS, $4x10^{-4}$ M) e a Trifluralina 0,84 ppm. As placas foram lacradas com papel filme. A germinação ocorreu no escuro a 24 ± 1°C.

O potencial de citotoxicidade foi avaliado pela determinação do índice de germinação das sementes e do comprimento médio das raízes após 72 h da montagem do experimento conduzido em delineamento casualizado. Para determinar o índice de germinação, cada tratamento foi constituído por três repetições. Foi calculada a porcentagem de sementes germinadas por unidade de repetição (placa com 50 sementes) e a média aritmética por tratamento, onde o comprimento das raízes foi medido com o auxílio de um paquímetro digital. O comprimento médio de cada tratamento foi calculado com base na média de 15 repetições, cuja unidade experimental consistiu em uma raiz (uma raiz por semente).

A técnica de citometria de fluxo foi utilizada em todas as amostras coletadas (afluente, fim da fase anaeróbia e efluente das Fases 1 e 2). As suspensões nucleares foram obtidas pelo método descrito por Galbraith *et al*. (1983). Foram realizadas três repetições, constituídas por 15 radículas cada. Os meristemas foram seccionados usando uma lâmina de bisturi em placas de Petri contendo 2 mL de tampão de lise *Woody Plant Buffer-WPB,* sobre gelo. Com os núcleos isolados, as suspensões foram filtradas com uma malha de nylon de 45 μm para eliminar resíduos. Estes foram então corados com 50 μL de iodeto de propídio (1 mg/L) e analisados em citômetro de fluxo Partec (Nova Sysmex). Foram determinadas as frequências dos núcleos nas fases G_1 (conteúdo de DNA 2C), S (conteúdo de DNA entre 2C e 4C) e G_2 (conteúdo de DNA

4C). As populações celulares com quantidades inferiores a 2C de DNA foram identificadas como partículas sub-G_1, sendo considerados núcleos em morte celular.

As análises estatísticas foram realizadas usando o software BioEstat 5.3. A avaliação da distribuição dos dados em relação à normalidade foi realizada pelo teste de Lilliefors (SILVA e AZEVEDO, 2002), enquanto a homogeneidade da variância foi avaliada pelo teste de Cochran (AYRES et al., 2007).

4.8 BIOLOGIA MOLECULAR

Aproximadamente 10 mL (preservados em tubos Falcon a 4°C, por 24 h) de amostras da biomassa do inóculo e do licor misto dos reatores ao fim da Fase 1 foram utilizadas para extração do DNA e sequenciamento. As amostras do licor misto da Fase 2 ainda serão sequenciadas.

A extração de DNA foi feita através do Kit PowerSoil® (Mo Bio Laboratoires, Inc. Carlsbad, CA), utilizando procedimento indicado pelo fabricante. Após a extração, a concentração de DNA foi avaliada por espectrofotometria (Nanodrop 2000 Spectrophotometer) nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm para verificar se a concentração estava adequada para envio para o sequenciamento (> 10 ng/µL), de acordo com a empresa contratada. 20 µL de amostra de DNA foram armazenados a em tubos Eppendorf de 1,5 mL a -20°C até o envio. As amostras em tubos Eppendorf foram enviadas para sequenciamento acondicionadas em gelo seco e transportadas em prazo máximo de 48 horas.

O sequenciamento foi feito pela empresa Neoprospecta® (Florianópolis – Brasil) utilizando sistema Illumina MiSeq (CHRISTOFF *et al.*, 2014) para avaliar a região 16S do DNAr do material genético extraído. As comunidades de bactérias e arqueias foram selecionadas com o uso do par de primer 341F-806R (TAKAHASHI, *et al*., 2014).

Os resultados brutos, obtidos em arquivos “fastq”, foram inseridos na plataforma de bioinformática MG-RAST (www.mg-rast.org) para pré-processamento (remoção de singletons, quimeras etc.) e processamento (agrupamentos das OTUS e comparação taxonômica). Neste estudo optou-se pela utilização da base de dados Ribosomal Database Project - RDP para fazer a comparação taxonômica.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção os resultados e a discussão estão apresentados de forma conjunta, sem tópicos que separam os reatores ou as fases.

5.1 MONITORAMENTO DOS REATORES

A apresentação e a discussão dos resultados de monitoramento dos reatores consideram apenas os dados de entrada (efluente bruto) e saída (efluente tratado) dos reatores, desconsiderando o comportamento do tratamento ao longo de uma batelada típica.

5.1.1 Monitoramento das variáveis físico-químicas

A Tabela 6 mostra as médias e os respectivos desvios padrão das principais variáveis físico-químicas monitoradas no afluente e efluente dos dois reatores, durante o período de monitoramento, após a aclimatação da comunidade microbiana.

De modo geral, os valores médios das variáveis analisadas foram semelhantes entre os reatores nas Fase 1 e 2. Análise comparativa de médias utilizando teste t de Student indicou que não existe diferença estatística para um intervalo de confiança de 95% entre a concentração de DQO nos efluentes do Reator 1, na Fase 1 e 2 e o mesmo foi observado para o Reator 2. Entre os reatores também não foi identificada diferença estatística da DQO efluente entre os reatores na Fase 1 e 2.

A variação mais significativa foi observada na concentração de corante no efluente do reator 2 que aumentou durante a Fase 2, indicando que o aumento do período de pulsos de aeração influenciou a remoção do corante RB5, na forma como foi medida neste trabalho. O item 5.2.3 discute sobre a remoção do RB5 ao longo do ciclo de uma batelada e tal influência é abordada em maior profundidade.

Também é possível observar que o pH foi reduzido nos efluentes entre a Fase 1 e 2, dos 2 reatores. Esse comportamento indicou que o aumento de aeração pode ter permitido alguma reação capaz de produzir acidez.

Uma comparação estatística entre as médias da condutividade do afluente e efluente utilizando teste t de Student de ambos os reatores indicou que não existe diferença para um intervalo de 95% de confiança, tanto no reator 1 quanto para o reator 2. Esse resultado era esperado pois a maior parte da condutividade no esgoto sintético é resultante da presença de íons cloreto (proveniente do cloreto de sódio) que foi adicionado como interferente típico, e que não são removidos durante o tratamento biológico.

Tabela 6 - Média e desvio padrão das variáveis monitorada dos reatores durante o estado de equilíbrio dinâmico aparente.

Variáveis	**Reator 1 - RO4**			**Reator 2 - RB5**		
	Afluente	**Efl. Fase 1**	**Efl. Fase 2**	**Afluente**	**Efl. Fase 1**	**Efl. Fase 2**
DQO (mgO_2L^{-1})	1325,8±191,3	247,8±78,5	307,6±132,6	1401,1±107,9	427,2±189,8	293,2±54,4
Corante (mgL^{-1})	31,5±3,2	7,1±5,9	7,2±2,4	35±3,5	3,9±1,2	6,8±2
pH	8,3±0,2	7,9±0,2	7,6±0,1	8,3±0,2	7,6±0,1	7,7±0,1
Condutividade (mS/cm)	4,65±0,16	4,51±0,24	4,26±0,12	4,62±0,22	4,3±0,4	4,26±0,12
Temperatura (°C)	27,5±0,2	28,8±0,2	30,7±0,4	27,1±1,3	28,9±1,5	30,5±0,4
O.D. (mgL^{-1})	3,89±1,07	0,03±0,14	0,01±0,01	3,51±1	0,04±0,03	0,01±0,01
Pot. Redox (mV)	95,7±25,8	-281,9±110	-280±111,4	92,4±20,1	-362,6±33,8	-240,1±123,2

Fonte: O autor (2021).

Os dados de potencial redox, negativos no efluente nas duas fases refletem o baixo fornecimento de oxigênio durante as 11 horas de aeração intermitente, não tendo sido suficiente para aumentar significativamente o potencial redox do efluente de ambos os reatores nas 2 fases. Análise comparativa de t de Student indicou que não existe diferença entre o potencial redox no efluente do reator 1 nas fases 1 e 2. Porém, a mesma análise estatística indicou que existe diferença significativa entre o potencial redox do efluente do reator 2 nas fases 1 e 2, provavelmente devido ao aumento da aeração na Fase 2. O valor médio do potencial redox do efluente dos reatores indica que houve manutenção do ambiente microaerado nas duas fases (NGUYEN *et al*., 2019; CHEN *et al*., 2020). Kato, Field e Lettinga (1997) reportaram que concentrações de oxigênio dissolvido superiores a 0,04 mgL^{-1} resultaram em inibição de cerca de 50% da atividade metanogênica de lodos granulares anaeróbios. A inibição dos organismos metanogênicos pode prejudicar a degradação da matéria orgânica durante a reação anaeróbia. A influência da aeração na remoção anaeróbia de matéria orgânica no presente estudo é discutida no item 5.2.2. Oliveira *et al*., (2020) que utilizaram uma comunidade microbiana fermentativa (não metanogênica) para degradação do corante DB22 em esquema de digestão anaeróbia associada a aeração intermitente não obtiveram bons resultados de remoção de DQO, que foi atribuída a falta de organismos capazes de converter a matéria orgânica a metano.

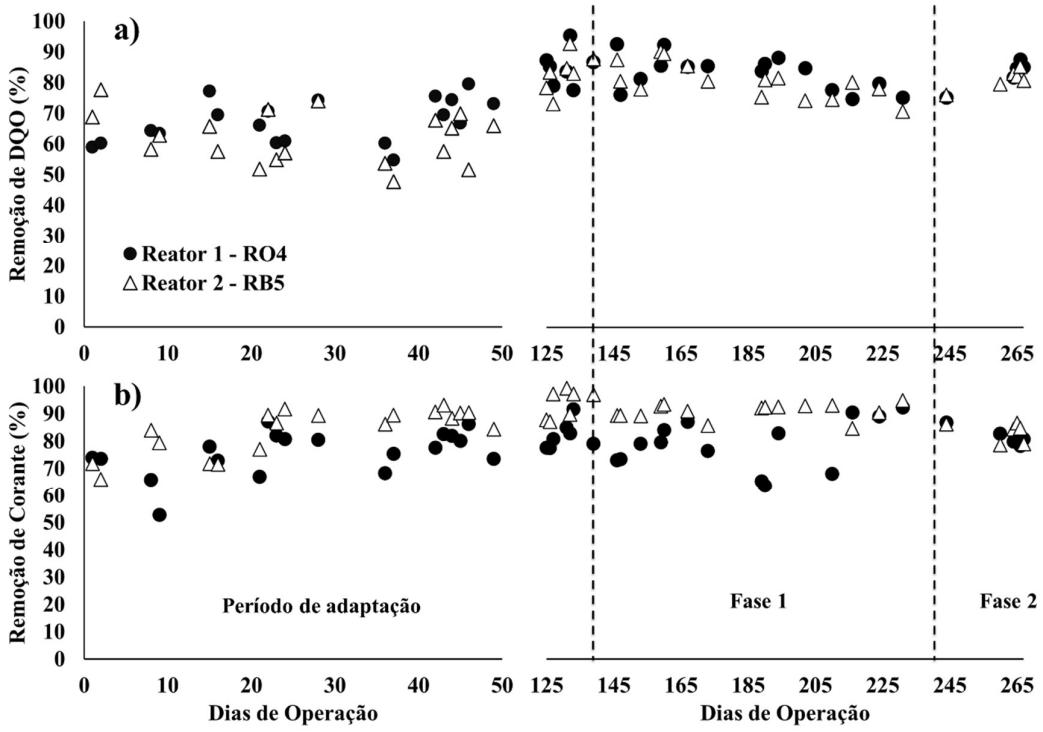
5.1.2 Monitoramento da remoção de matéria orgânica e corante

A Figura 9 mostra a variação temporal da remoção de DQO e de corante para ambos os reatores. O período de alimentação e monitoramento inicial dos reatores foi considerado como período de adaptação (dia 1° ao 139° - Figura 9), pois os reatores foram monitorados apenas entre os dias 1° ao 49° e posteriormente (a partir do dia 124°) armazenados em geladeira por 59 dias, como explicado no item 4.5. Após a reativação dos reatores, no dia 125°, foi considerado que o estado de equilíbrio dinâmico aparente tenha sido alcançado a partir do dia 139 e o comportamento das Fases 1 e 2 foi, então, avaliado neste estado, como indicado na Figura 9.

A remoção de DQO foi bastante variável durante os primeiros 49 dias de operação nos dois reatores, o que pode ser atribuído ao período de aclimatação. O inóculo foi previamente adaptado para utilizar aminas aromáticas simples (anilina e ácido sulfanílico) como única fonte de carbono e agora estava sendo readaptada a degradar etanol e corantes.

A partir da retomada do monitoramento dos reatores no dia 125°, se observou melhoria de desempenho tanto de remoção de corante quanto de DQO, ocorrida durante o período em que os reatores foram alimentados, mas não monitorados. Os dados apresentados na Figura 9 também indicam que o armazenamento dos reatores em geladeira, por 59 dias não prejudicou o comportamento de remoção de cor e DQO.

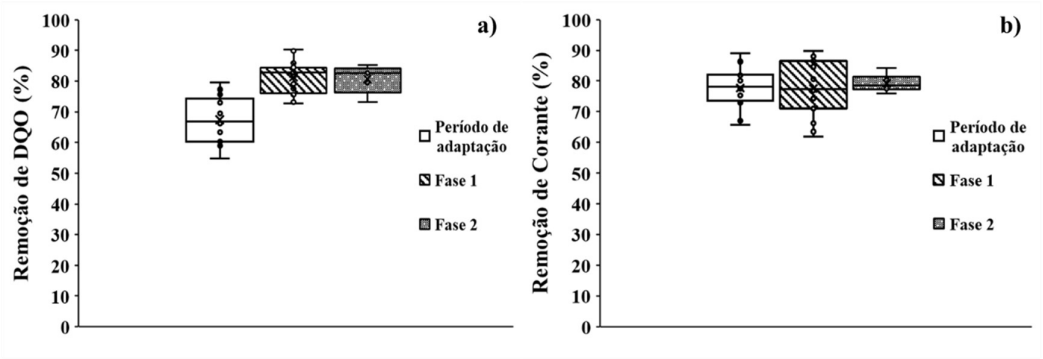
Figura 9 - Variação temporal da: a) remoção de DQO e b) remoção de corantes durante a Fase 1.



Fonte: O autor (2021).

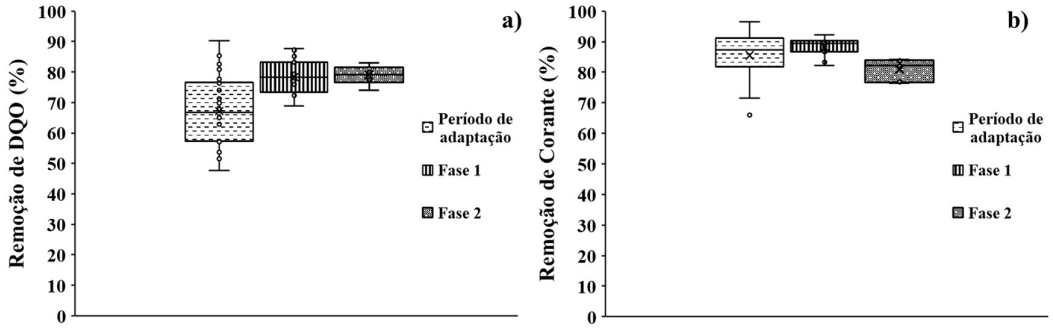
As Figuras 10 e 11 mostram 4 gráficos tipo Boxplot que avaliam a diferença entre a variação da eficiência de remoção de DQO e de corante no período de adaptação e nas Fases 1 e 2.

Figura 10 - Gráfico Boxplot de remoção de: a) DQO e b) corante – RO4 (Reator 1) nos períodos de adaptação e Fases 1 e 2.



Fonte: O autor (2021).

Figura 11 - Gráfico Boxplot de remoção de: a) DQO e b) corante – RB5 (Reator 2) nos períodos de adaptação e Fases 1 e 2.



Fonte: O autor (2021).

Ao longo da operação os reatores apresentaram comportamento semelhante de remoção de DQO (entre si e entre as fases, avaliados através de teste t de Student), o que pode ser atribuído à utilização de um mesmo doador de elétrons e com mesma concentração na composição do efluente sintético. O doador de elétrons também era responsável pela maior parcela da DQO do esgoto sintético.

Os reatores apresentaram remoção de DQO semelhante aos trabalhos recentes realizados pelo grupo da UFPE, com efluente sintético. Carvalho *et al*., (2020) obtiveram 78% de remoção de DQO para um reator UASB microaerado utilizado para o tratamento de efluente têxtil sintético contendo corante DB22 e utilizando amido como doador de elétrons (1,2 gDQO/L), operando com tempo de detenção hidráulica de 24 horas. Menezes *et al*., (2019) observaram 79,5% de eficiência de remoção de DQO para o reator trabalhando em bateladas sequenciais

com período anaeróbio seguido de microaeração intermitente, utilizado para tratar efluente têxtil sintético, contendo DB22 e etanol (1,2 gDQO/L) e 24 horas de reação em ambiente mesofílico (37°C). Apesar da remoção de DQO estar de acordo com os trabalhos citados, a literatura também reporta eficiências de remoção de DQO superiores às obtidas no presente trabalho, através de sistemas mais sofisticados: dos Santos *et al*., (2003) obtiveram mais de 90% de eficiência remoção de DQO em um reator termofílico (55°C) anaeróbio de leito expandido, tratando efluente têxtil sintético utilizando uma mistura de glicose e ácidos orgânicos (2 g DQO/L) como doador de elétrons e tempo de detenção hidráulica de 10,5 h. Tomei *et al*., (2016) obtiveram mais de 97% de remoção de DQO para RBSs mesofílicos (27°C) anaeróbio-aeróbio em esquema de 11 horas de reação anaeróbia seguidos de 11 horas de reação aeróbia (3 – 4 mg O.D./L), alimentado com efluente têxtil real com adição de acetato de sódio, garantindo 1g DQO/L.

Com relação a remoção de corante, o reator 2 apresentou melhora significativa após o período de aclimatação na Fase 1, o que não foi observado para o reator 1 que mostrou grande variação na remoção de corante, nos dias 189, 190 e 210. Os resultados obtidos para o Reator 1 indicam menor variação na Fase 2, que pode ser atribuído ao menor tempo de operação nessa fase.

Uma análise estatística de comparação entre médias utilizando teste t de Student, mostrou que existe diferença significativa entre a remoção do corante RO4 e do RB5 na Fase 1, para um intervalo de confiança de 95%. O corante RB5 foi mais bem degradado e com maior estabilidade durante toda a operação. 88,7 ± 3,2% do corante Reactive Black 5 foi removido, enquanto o corante RO4 77,4 ± 9,0%, na Fase 1. Na Fase 2, 77,7 ± 4,8% do corante RO4 foi removido, enquanto o RB5, 80,9 ± 3,1%. Nesta fase não houve diferença estatística entre a remoção dos corantes.

A redução do desempenho de remoção de corante RB5 entre as Fases 1 e 2 é discutida no item 5.2.3.

O resultado observado para a Fase 1 pode estar associado com o fato de que o RO4 contém um grupo triazina associado à sua estrutura molecular. Van der Zee, Lettinga e Field (2001) avaliaram a degradação de 20 corantes através de lodo granular anaeróbio e observaram que os corantes reativos que possuíam grupos triazina apresentaram degradação mais lenta, o que pode explicar a menor remoção de corante reator 1, na Fase 1. Outros estudos de degradação do RO4 são reportados na literatura, porém trabalharam com processos físico-químicos. Dos Santos *et*

al., (2003) utilizaram um reator anaeróbio termofílico de leito expandido para remoção do corante monoazo Reactive Red 2 que possui grupo triazina e conseguiram remoção de cor em torno de 92%. Já Farabegoli *et al*., (2010) estudaram a degradação do corante reativo monoazo Reactive Red 195, que também contém triazina, em RBSs com tempo de reação de 23 horas, com 19 horas de reação anaeróbia e 4 horas de aeração e obtiveram remoção de corante em torno de 80%. Da Silva *et al.*, (2013) estudaram a remoção dos corantes RB5 e do Reactive Red 2, corante monoazo que contém triazina, em um reator UASB com tempo de detenção hidráulica de 12 horas e etanol (1g DQO/L) como fonte de matéria orgânica e obtiveram remoção de cor 78,1 e 33,2% para os corantes RB5 e RR2, respectivamente.

A variabilidade de resultados encontrados na literatura, tanto para remoção de corante quanto de matéria orgânica pode ser resultado das diferentes configurações de reatores adotados (reatores com recirculação, fluxo contínuo, bateladas únicas, sequenciais etc.), dos substratos utilizados (matéria orgânica complexa pode exigir maior tempo para a sua remoção através da digestão anaeróbia), dos corantes utilizados e do inóculo.

Diante dos trabalhos presentes na literatura que avaliaram a degradação dos corantes estudados ou de corantes de estrutura semelhante, utilizando tanto RBS, UASB e outras configurações, os reatores obtiveram boa performance de remoção de corante e de matéria orgânica. O uso de uma cultura mista, com histórico de degradação de efluentes têxteis e da indústria petroquímica e que foi previamente aclimatada à degradação de compostos aromáticos pode ter sido fator determinante na performance dos reatores no presente trabalho.

As considerações sobre as comunidades microbianas da Fase 1, discutidas no item 5.5 auxiliam no entendimento dos processos biológicos que ocorreram nos reatores.

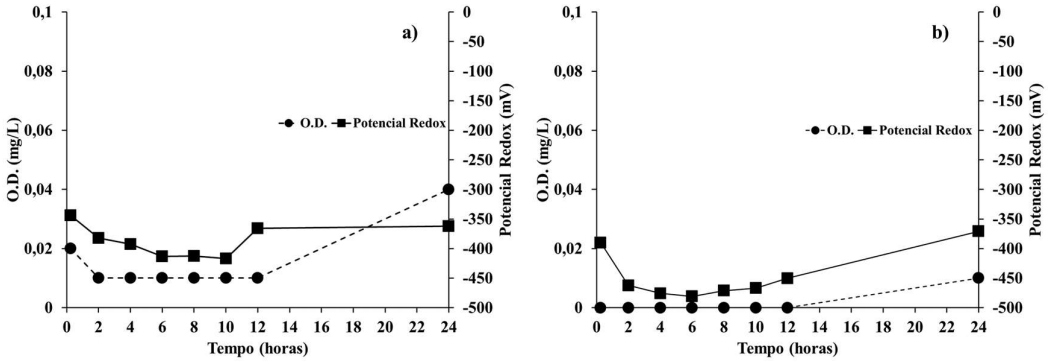
5.2 SEMI-PERFIL TEMPORAL E CINÉTICA DE REMOÇÃO DE CORANTE E MATÉRIA ORGÂNICA

Após atingirem o estado de equilíbrio dinâmico aparente durante a Fase 1, foi realizado um perfil temporal das primeiras 12 horas, equivalentes ao período anaeróbio, denominado neste documento como semi-perfil. Este foi conduzido com o intuito de avaliar a cinética de degradação dos corantes e de remoção de matéria orgânica e as interrelações entre as variáveis físico-químicas. O mesmo foi feito para a Fase 2, porém as variáveis pH, O.D. e a remoção de corante, de DQO foram analisadas durante as 24 horas de tempo de ciclo.

5.2.1 Variáveis físico-químicas: pH, oxigênio dissolvido e potencial redox

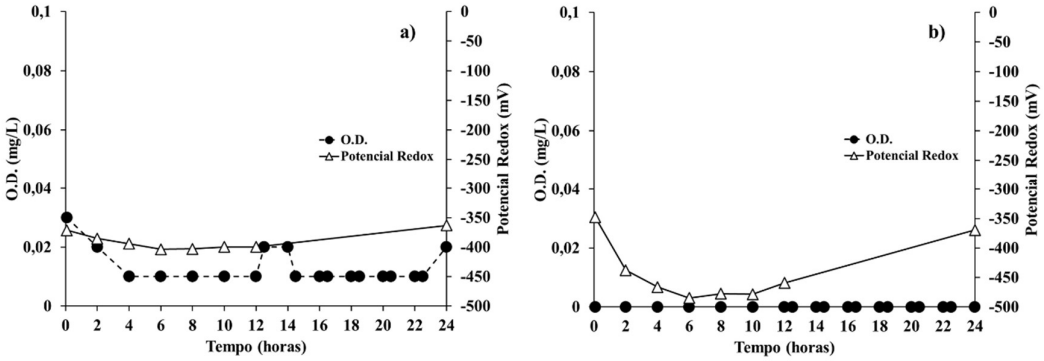
As Figuras 12 e 13 mostram os resultados das variáveis: oxigênio dissolvido, potencial redox e pH, do semi-perfil e do perfil dos reatores nas fases 1 e 2. O potencial redox variou entre os valores máximos e mínimos de -344,0 mV e -417,1 mV no reator 1 e entre -390 mV e -481 mV no reator 2 durante a Fase 1. Ao longo de toda a fase anaeróbia os reatores mantiveram potencial redox abaixo de -300 mV, comprovando que foi garantido ambiente anaeróbio (NGUYEN e KHANAL, 2018). O potencial redox foi maior no início da reação, para ambos os reatores, pois o efluente sintético foi produzido diariamente e possuiu potencial redox e concentração de oxigênio dissolvido elevados, porém não foi suficiente para perturbar o ambiente necessário para a remoção de corantes. Alguns autores consideram ambientes com potencial redox menores que -50 mV ideais para remoção de corantes azo (DOS SANTOS, CERVANTES E VAN LIER, 2007). No entanto, outros autores indicam remoção eficiente de corantes azo em ambientes entre -180 e -430 mV (POPLI e PATEL, 2015), mostrando que não existe um consenso. Assim, de acordo com os autores citados, os reatores mantiveram ambiente adequado para a metanogênese e para a remoção de corantes azo.

Figura 12 - Semi-perfil do O.D. e do potencial redox dos reatores 1 (a) e 2 (b) na Fase 1.



Fonte: O autor (2021).

Figura 13 - Perfil do O.D. e do potencial redox dos reatores 1 (a) e 2 (b) na Fase 2.



Fonte: O autor (2021).

Na Fase 2, o comportamento do potencial redox e oxigênio dissolvido durante o período anaeróbio foi semelhante ao da Fase 1 para os 2 reatores, com leve redução inicial, seguido de estabilização durante a reação anaeróbia e ao fim da fase de aeração o ambiente retornou a condições semelhantes ao início da reação. O potencial redox mínimo ocorreu em 6 horas de reação e foram de -403,7 mV e -484,8 mV nos reatores 1 e 2, respectivamente. A reação anaeróbia da Fase 2 também mostrou ambiente adequado para a garantir a descoloração redutiva das ligações azo.

Também foi possível observar que a condição de aeração adotada não resultou no aumento significativo do oxigênio dissolvido e acarretou um aumento sutil no potencial redox, medidos no efluente em ambos os reatores, variando de 0,01 mgl^{-1} a 0,04 mgl^{-1} (início da reação e efluente) no reator 1 e de não detectável a 0,01 mgl^{-1} (início da reação e efluente) no reator 2. A Fase 2 também apresentou comportamento semelhante com relação ao oxigênio dissolvido, em que não teve aumento significativo medidos no efluente dos reatores, com 0,02 mg/L e não detectável nos efluentes dos reatores 1 e 2 respectivamente. Como o oxigênio dissolvido e o não foi avaliado ao longo do período de aeração na Fase 1, não foi possível avaliar sobre o comportamento dessas variáveis ao longo do período microaerado. Porém, a Figura 13 mostra que não houve aumento significativo ao longo do período de aeração na Fase 2, indicando que o oxigênio foi rapidamente consumido, mantendo ambiente microaerado durante o período de aeração.

A variação do pH ao longo da fase anaeróbia teve comportamento semelhante entre os dois reatores, tanto na fase 1 como na fase 2. Ocorreu um leve decréscimo inicial nas primeiras 2 horas de reação, seguida de estabilização durante as 10 horas restantes da reação anaeróbia e

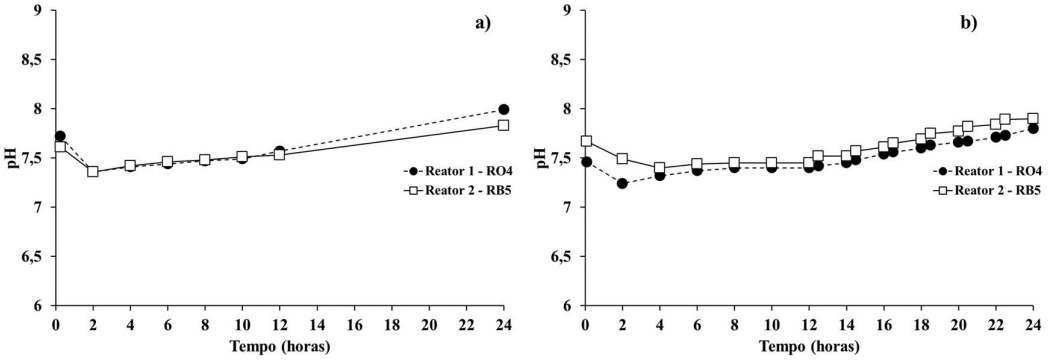
aumento após o período de aeração, observadas na Figura 14. O comportamento do pH está relacionado com a produção e remoção de ácidos orgânicos voláteis, que é discutido no item 5.2.2. A diminuição do pH durante as 2 horas iniciais deve ser devido à produção inicial de AOVs que consomem alcalinidade. O consumo desses AOVs durante o resto da fase anaeróbia pode responder pela estabilidade do pH.

A deaminação é uma etapa da degradação das aminas aromáticas que resulta na liberação de amônia. Esta reação pode ser responsável pelo aumento do pH após o período de microaeração.

A análise de nitrogênio amoniacal não foi realizada pois faixa de trabalho do método disponível ao laboratório (entre 5 – 100 mg $N\text{-}NH_3/L$) estaria acima da concentração máxima teórica de nitrogênio amoniacal que poderia ser liberada a partir da deaminação dos corantes estudados (1,43 mg $N\text{-}NH_3/L$ para RO4 e 0,9 mg $N\text{-}NH_3/L$ para RB5).

Wang *et al*., (2009) e Chen *et al*., (2014) avaliaram a degradação aeróbia de ácido sulfanílico, que é uma amina aromática simples encontrada na degradação de diversos corantes azo, e ambos reportaram liberação de amônia. O'Neill *et al*., (2000) reportaram liberação de amônia durante a degradação de anilina em processo aeróbio, que também é uma amina aromática simples e subproduto da degradação de diversos corantes azo.

Figura 14 - Perfil do pH dos reatores 1 e 2 nas Fase 1 (a) e 2 (b).

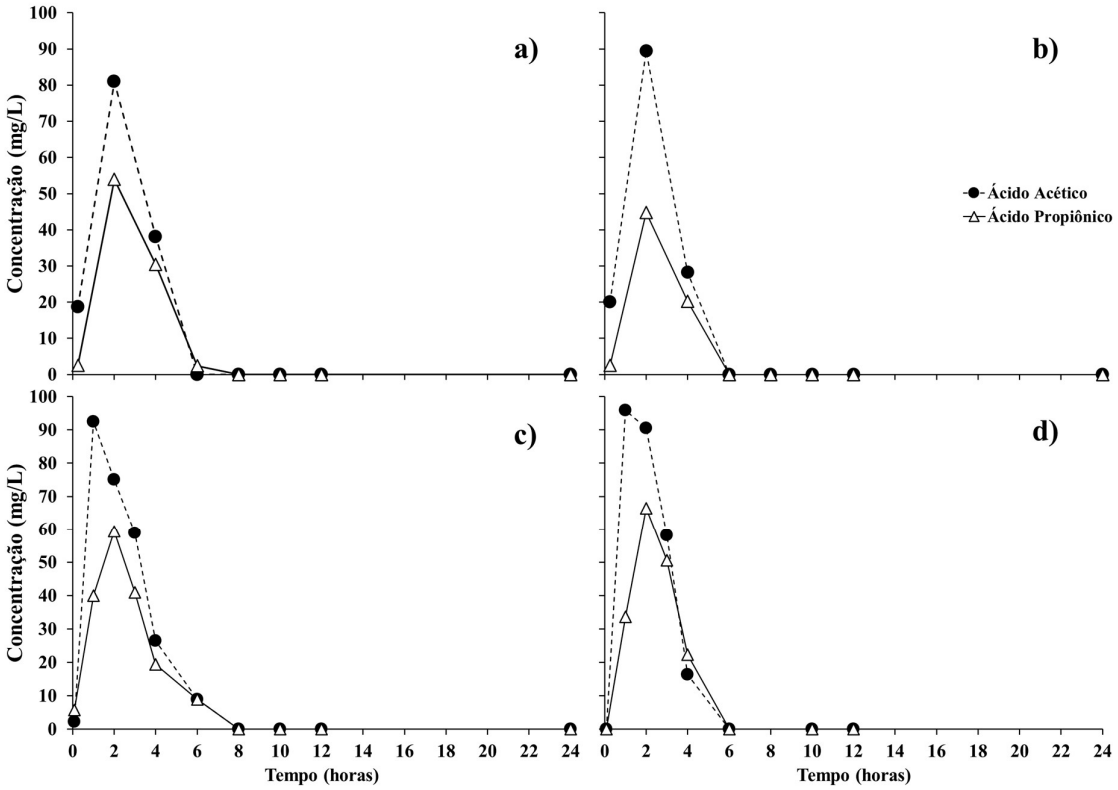


Fonte: O autor (2021).

5.2.2 Produção e consumo de AOVs e cinética da remoção de matéria orgânica

Foi detectada produção de ácido acético e ácido propiônico como subprodutos da degradação anaeróbia do etanol nos reatores 1 e 2. A produção máxima dos ácidos orgânicos aconteceu nas primeiras 2 horas de reação e eles foram consumidos quase totalmente após 8 horas nos 2 reatores, mostrando rápida conversão do etanol e consumo dos ácidos orgânicos. A Figura 15 mostra a produção e consumo dos AOVs nos reatores ao longo do ciclo nas fases 1 e 2.

Figura 15 – Produção e consumo dos AOVs durante o período de reação anaeróbia, nas Fases 1: R1 – RO4 (a), R2 – RB5 (b) e Fase 2: R1 – RO4 (c) e R2 – RB5 (d).



Fonte: O autor (2021).

O etanol pode ser convertido anaerobiamente a ácido acético na proporção de 1 mol de etanol para 1 mols de ácido acético ($\Delta G'_o$ = 9,6 kJ/mol de etanol) (HARPER e POHLAND, 1985) e pode ser convertido a ácido propiônico em condições anaeróbias, seguindo proporção de 2/3 mols de ácido propiônico para cada mol de etanol ($\Delta G'_o$ = -41,5 kJ/mol de etanol) (SCHINK *et*

al., 1987). Ácido acético também é produzido através da fermentação do propionato ($\Delta G'_o$ = -76,1 kJ/mol de propionato), gerando 1 mol de ácido acético para cada mol de propionato. A partir desses 2 substratos produzidos, o processo anaeróbio segue para a conversão dos AOVs para produção de metano, através da metanogênese. As reações da fermentação do etanol, citadas acima, estão apresentadas na Tabela 7.

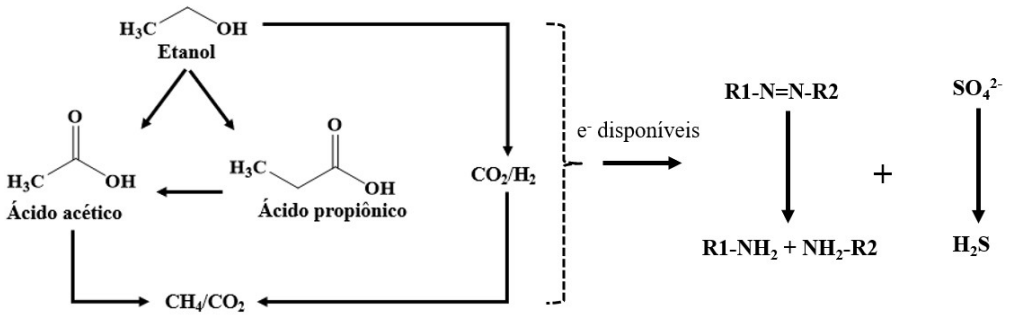
Tabela 7 - Reações da fermentação do etanol e do ácido propiônico.

	Reação	**$\Delta G'_o$ (kJ)**
Fermentação do etanol a ácido acético	$CH_3CH_2OH + H_2O \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+9,6
Fermentação do etanol a ácido propiônico	$3CH_3CH_2OH + 2HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + 2CH_3CH_2COO^- + H^+ + 3H_2O$	-124,5
Fermentação do ácido propiônico a ácido acético	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76,1

Fonte: Adaptado de Tatton et al., (1998), Frimmer e Widdel (1989), Schink (1987) e Harper e Pohland (1986).

A Figura 19 mostra um fluxograma esquemático da digestão anaeróbia do efluente sintético utilizado. A partir daí é possível compreender de maneira geral como se dá a conversão da matéria orgânica durante a fase anaeróbia. Esta avaliação é importante para entender quais processos são responsáveis pela conversão do etanol e eventual consumo de DQO na fase anaeróbia. Tendo em vista que o maior interesse do período anaeróbio é o emprego dos elétrons liberados pela fermentação da matéria orgânica disponível para a clivagem redutiva das ligações azo dos corantes estudados. Entretanto, outros processos metabólicos podem competir por elétrons com a descoloração, como é o caso da metanogênese e a redução de sulfato.

Figura 16 - Fluxograma esquemático da conversão anaeróbia de etanol nos reatores estudados.

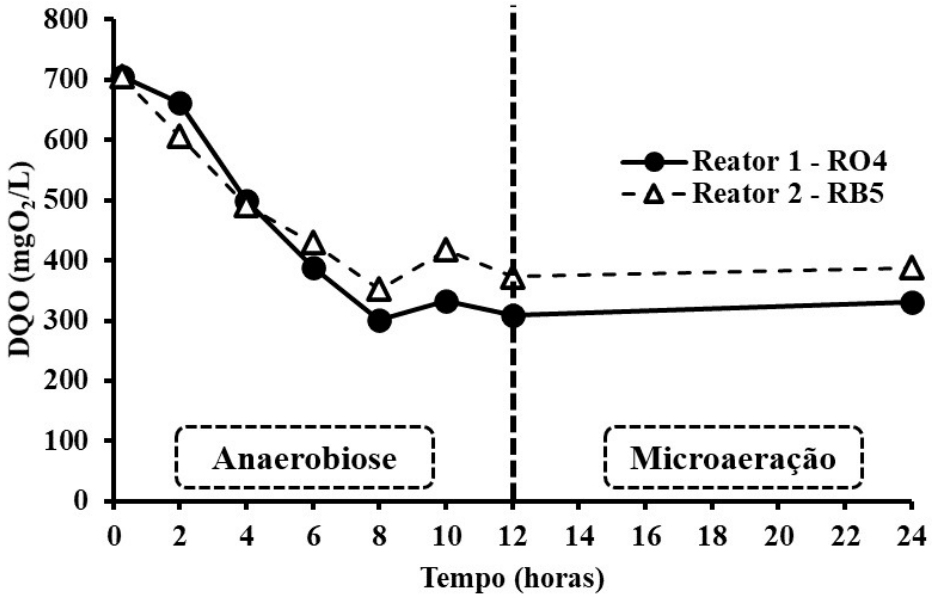


Fonte: O autor (2021).

Como informado no item 3.3, a clivagem redutiva das ligações azo requer a utilização de 4 equivalentes redutores, correspondendo a 32g DQO/mol de ligação azo. Logo, o requerimento teórico de DQO para a descoloração completa dos corantes RO4 e RB5 é de 1,80 e 1,40 mg DQO. A redução anaeróbia de sulfato pela via sulfetogênica requer 0,67 g DQO/g SO_4^{2-} reduzido, que resulta na demanda teórica de 90,45 mg de DQO para redução total do sulfato presente no efluente sintético. Logo, para remover todo o corante o sulfato do meio é necessário em torno de 92,25 e 91,85 mg de DQO, nos reatores 1 e 2 respectivamente. A concentração de etanol utilizada no esgoto sintético de 1200 mg DQO/L que é equivalente a DQO de efluentes têxteis, demonstra que a concentração de doador de elétrons estava em excesso.

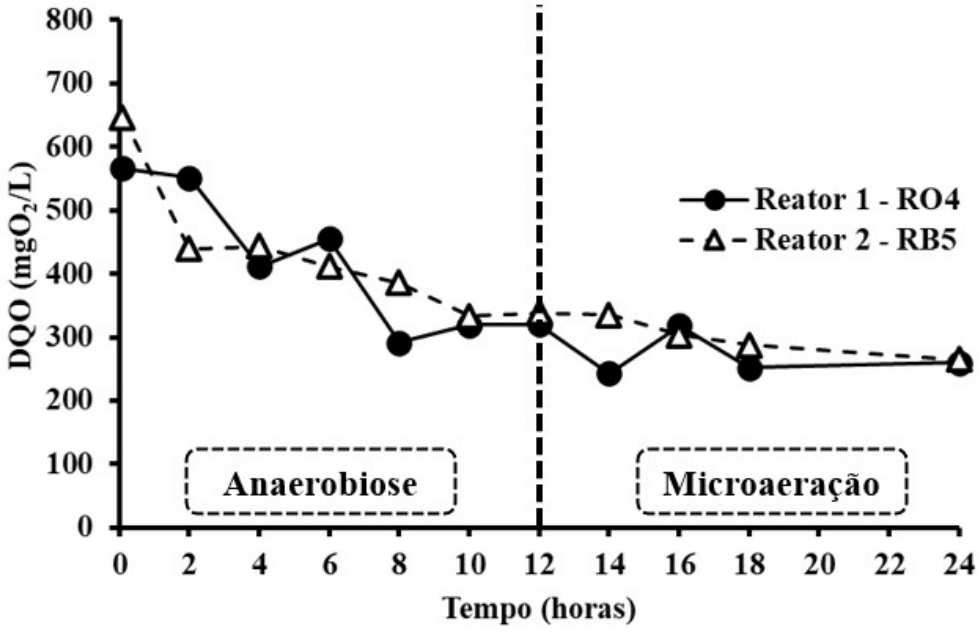
Os gráficos de remoção de DQO apresentados nas Figuras 17 e 18, corroboram os dados de concentração de ácidos orgânicos voláteis, em que a maior parcela da remoção da matéria orgânica ocorreu durante as primeiras 8 horas de reação anaeróbia. A fase aerada não apresentou resultados relevantes para remoção da matéria orgânica durante a fase 1. Já o período de microaeração da fase 2 reduziu levemente a DQO residual nos 2 reatores, removendo 17,5% e 21,7% da DQO residual nos reatores 1 e 2.

Figura 17 - Remoção de DQO durante a fase anaeróbia dos Reatores 1 e 2 durante a Fase 1.



Fonte: O autor (2021).

Figura 18 - Remoção de DQO ao longo da fase anaeróbia dos reatores 1 e 2 durante a Fase 2.



Fonte: O autor (2021).

Os modelos cinéticos de primeira ordem foram utilizados para representar a remoção de matéria orgânica considerando as 12 horas de reação anaeróbia na Fase 1 (Tabela 8).

Tabela 8 - Coeficientes cinéticos obtidos para representar a degradação de DQO, nos reatores 1 e 2 nas fases 1 e 2.

Reator	Fase 1		Fase 2	
	Coeficiente cinético (h^{-1})	Coeficiente de ajuste (R^2)	Coeficiente cinético (h^{-1}); (mg/L.h)	Coeficiente de ajuste (R^2)
Reator 1 - RO4 Anaeróbio	0,0120	0,88	0,0082	0,80
Reator 2 - RB5 Anaeróbio	0,0082	0,81	0,0073	0,83
Reator 1 – RO4 Aeróbio	-	-	5,13	0,35
Reator 2 – RB 5 Aeróbio	-	-	6,53	0,91

Fonte: O autor (2021).

A redução dos coeficientes cinéticos de remoção de matéria orgânica na reação anaeróbia, observada nos 2 reatores pode ser uma resposta da comunidade metanogênica ao aumento dos pulsos de aeração.

A remoção de DQO no período de aeração foi mais bem representada por um modelo de ordem zero. Os coeficientes cinéticos do período aerado foram baixos, entretanto eles valores são esperados, tendo em vista que mesmo o aumento dos pulsos, ainda se trata de aeração intermitente com baixo fluxo de ar e que essa fase é responsável pela remoção de DQO residual, de mais difícil degradação, que inclui as aminas aromáticas.

Os resultados de remoção de DQO estão de acordo com outros estudos de reatores anaeróbios-aeróbios utilizados para tratar efluentes têxteis, em que a maior parte da remoção da matéria orgânica ocorre durante a fase anaeróbia. Çinar *et al*., (2008) avaliaram a utilização de RBSs anaeróbios-aeróbios para degradar 100 mg/L do corante mono-azo Remazol Brilliant Violet 5R utilizando glicose como doador de elétrons e variando o tempo de ciclo de fase anaeróbia entre 6, 12 e 24 horas. Os autores obtiveram remoção de DQO de cerca de 70% da DQO nas primeiras 3 horas de reação anaeróbia em todos os casos, sem grandes variações entre os diferentes tempos de reação.

Albuquerque *et al*., (2005) estudaram a remoção dos corantes monoazo Reactive Violet 5 e Acid Orange 7 em RBSs anaeróbio-aeróbio com reação anaeróbia de 10,5 horas seguida de 10 horas de reação aeróbia, utilizando composto derivado de amido como fonte de carbono (Emsize E1 – 1 gDQO/L). O reator contendo Reactive Violet 5 foi responsável pela remoção entre 61 – 75% de DQO durante a fase anaeróbia de um total de 80% de remoção média de

DQO após a fase de aeração. Já o reator com o corante Acid Orange 7 apresentou entre 49 – 71% de eficiência de remoção de DQO durante a fase anaeróbia e 80% de remoção média de DQO. A contribuição da aeração na remoção de DQO pôde ser atribuída ao composto utilizado como doador de elétrons, que por ser mais complexo que substâncias como etanol ou glicose, fez com que a digestão anaeróbia removesse uma parcela menor de matéria orgânica. A performance inferior do reator com Acid Orange 7 foi explicada pelo acúmulo de corante e subprodutos recalcitrantes parcialmente removidos durante as bateladas, que garantiu toxicidade.

5.2.3 Cinética de remoção dos corantes

As Figuras 19 e 20 mostram o comportamento da remoção dos corantes RO4 e RB5 ao longo do semi-perfil analisado na fase 1 e do perfil na fase 2. O corante diazo, RB5, apresentou maior facilidade de biodegradação, pois nas primeiras 2 horas de reação anaeróbia cerca de 80% do corante foi removido e em 6 horas de reação ocorreu praticamente toda a remoção do corante, tanto na Fase 1 (Figura 19) quanto na Fase 2 (Figura 20). Já o corante monoazo, RO4, foi mais recalcitrante, precisando de 8 horas para a degradação de cerca de 70% nas 2 fases (Figuras 19 e 20). Esses dados estão de acordo com os semi-perfis de AOVs, onde os ácidos orgânicos foram produzidos e consumidos em sua totalidade durante as primeiras 8 horas de reação anaeróbia, assim como o comportamento de remoção da DQO. Portanto, as primeiras 8 horas de reação foram as principais responsáveis pelo fornecimento de elétrons para a clivagem redutiva das ligações azo.

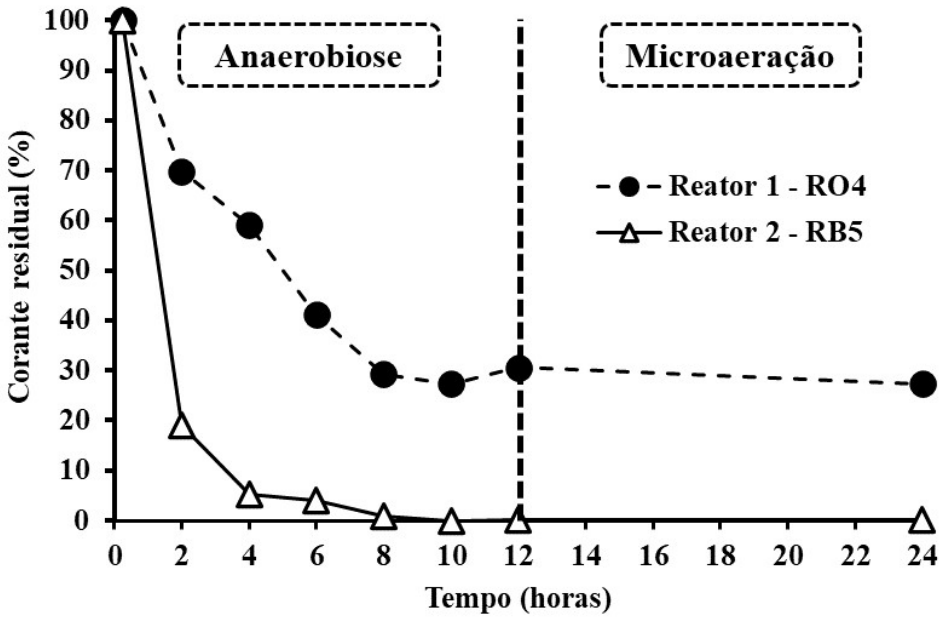
Não foi possível identificar se o período de aeração causou autoxidação das aminas aromáticas produzidas pela degradação dos corantes durante a Fase 1, pois algumas aminas aromáticas quando autoxidadas podem produzir composto de cor semelhante ao do corante predecessor. Porém, se tiver ocorrido, não foi suficiente para prejudicar a eficiência de remoção dos corantes dos efluentes sintéticos (na forma como o corante foi avaliado neste trabalho), pois a concentração de corante analisada (através de análise UV-Vis) não variou entre o fim da fase anaeróbia e o fim da fase aerada.

Porém, na Figura 20 é possível observar que o corante RB5 apresentou retorno de cor após o aumento da duração dos pulsos de aeração, adotados na Fase 2. Esse retorno é causado pela autoxidação das aminas aromáticas, que foram formadas durante a fase anaeróbia e que podem

ter ligações azo reestabelecidas na presença de oxigênio, gerando compostos que absorvem luz no comprimento de onda do corante original. Portanto, os pulsos de aeração de 30 minutos a cada 2 horas prejudicaram a remoção de cor no Reator 2, mas não necessariamente a remoção do corante RB5. Comportamento semelhante foi observado por Yaşar *et al.*, (2012) que utilizou RBSs com ciclos anaeróbio-aeróbio de 12 horas (6 horas de reação anaeróbia e 6 horas de reação aeróbia) para degradar 100 mg/L do corante monoazo Remazol Brilliant Violet 5R – RBV 5R. A reação anaeróbia removeu cerca de 80% do corante, porém uma parcela da cor retornou durante a primeira hora da reação aeróbia e se manteve constante ao fim do ciclo. Os autores atribuíram esse comportamento à autoxidação das aminas aromáticas.

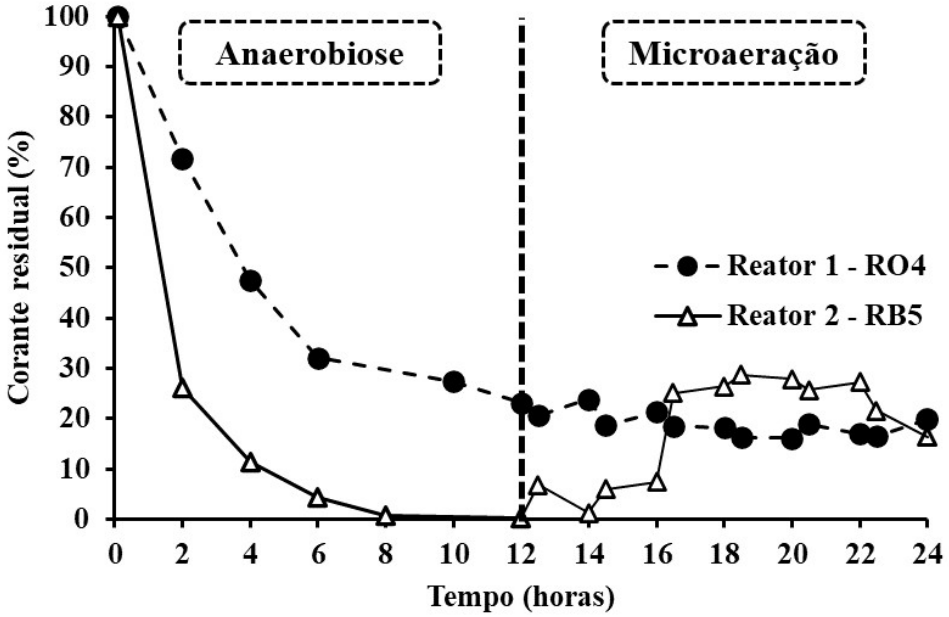
No período de microareação do reator 1, ocorreu leve redução de cor após os pulsos de aeração, indicando que os produtos formados pela autoxidação das aminas possuíam cor diferente do RO4. O RO4 também não possui simetria em sua estrutura molecular, então é provável que a autoxidação das aminas produzidas pela degradação desse corante produza compostos com características de absorbância no espectro UV-Vis diferentes do corante.

Figura 19 - Semi-perfil temporal da concentração residual de corantes na Fase 1.



Fonte: O autor (2021).

Figura 20 – Perfil temporal da concentração residual dos reatores na Fase 2.



Fonte: O autor (2021).

Os coeficientes cinéticos de remoção de cor foram obtidos através de ajustes de primeira ordem para as 12 horas de reação anaeróbia, que foi o período necessário para a remoção de corantes. A Tabela 9 mostra os coeficientes cinéticos e os respectivos ajustes para os modelos de primeira ordem, nas fases 1 e 2.

Tabela 9 - Coeficientes cinéticos obtidos para representar a degradação anaeróbia de corante, nos reatores 1 e 2 nas fases 1 e 2.

Corante	Fase 1		Fase 2	
	Coef. Cinético (h^{-1})	Coeficiente de ajuste (R^2)	Coef. Cinético (h^{-1})	Coeficiente de ajuste (R^2)
Reactive Orange 4	0,045	0,89	0,120	0,92
Reactive Black 5	0,275	0,98	0,236	0,99

Fonte: O autor (2021).

Os coeficientes cinéticos de 1ª ordem obtidos para o RB5 foram aproximadamente 6 e 2 vezes maiores que os obtidos para o RO4, nas fases 1 e 2, respectivamente. A mudança de fase reduziu levemente a cinética de remoção do corante RB5 (14,2% de diminuição) e resultou na melhoria da cinética de remoção do RO4 (116% de aumento). Os produtos formados pela autoxidação das aminas, que absorvem luz no mesmo comprimento de onda que o RB5, não

foram removidos durante os períodos anaeróbios que intercalaram a intermitência de aeração na Fase 2. O fato que os reatores em bateladas sequenciais tendem a acumular compostos residuais das bateladas anteriores também contribui para o acúmulo destes compostos recalcitrantes.

Brito (2018) obteve coeficiente cinético de 0,124 h^{-1} para a remoção do corante RO4 e de 0,040 h^{-1} para a remoção do corante RB5 durante as primeiras 10 horas de reação anaeróbia em bateladas únicas, utilizando melaço como fonte de matéria orgânica. O resultado de remoção do RO4 foi semelhante ao obtido no presente estudo durante a Fase 2, porém a cinética de remoção do RB5 reportado foi muito inferior ao encontrado neste estudo. Já Chen *et al*., (2011) avaliaram a biodegradação de 5 corantes diferentes e apresentaram melhores ajustes nos modelos de primeira ordem. Os autores reportaram resultados de 0,025 h^{-1} de coeficiente cinético para a remoção de 50 mg/L de RB5 e 0,015 h^{-1} para remoção de 50 mg/L do corante Reactive Brilliant Red X-3B, que é monoaozo e contém grupo associado triazina.

Van der Zee, Lettinga e Field (2001) avaliaram a degradação de 20 corantes azo diferentes e reportaram remoção mais lenta para os 4 corantes que possuíam grupo triazina, mesmo comportamento encontrado neste estudo.

5.2.4 Remoção de aminas aromáticas

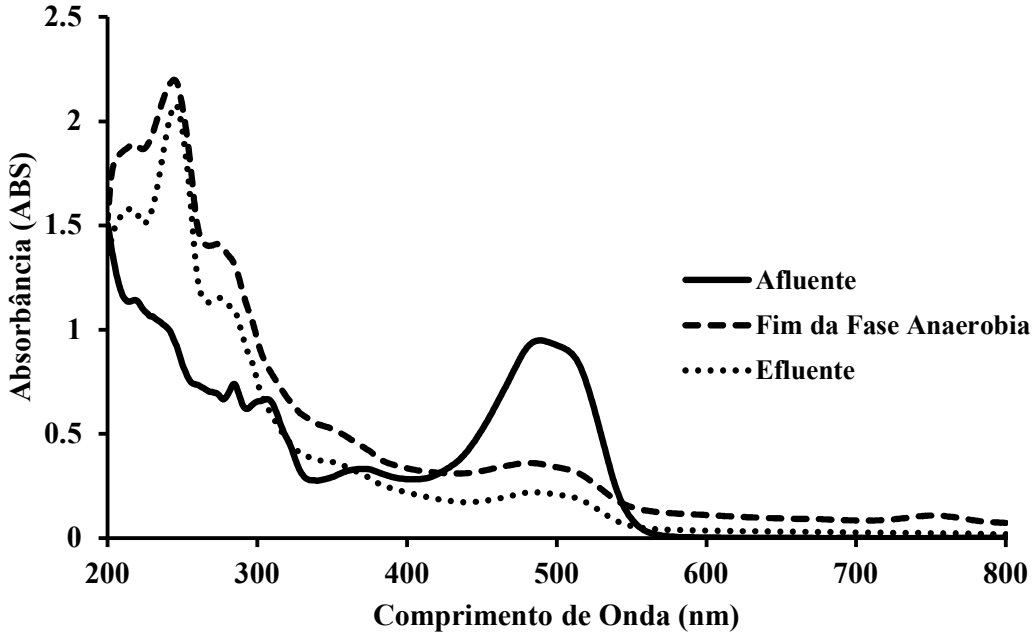
A formação e remoção das aminas aromáticas foi avaliada através da varredura por espectroscopia UV-Visível do afluente, ao fim da fase anaeróbia e do efluente. As Figuras 21 a 24 mostram as varreduras do espectro na região UV-Visível dos reatores 1 e 2, nas fases 1 e 2, respectivamente.

O espectro do afluente do Reator 1 apresentou os picos característicos do corante RO4, assim como reportado por outros autores (BRITO, 2018; GORE *et al*., 2014; DEL RÍO *et al*., 2009). O pico em 489 corresponde ao grupo da ligação azo enquanto os picos em 306 e 204 nm correspondem aos agrupamentos aromáticos presentes na estrutura molecular do corante. O espectro do afluente do Reator 2, com corante RB5 também apresentou resultados similares a outros estudos (WANG *et al*., 2014; BRITO, 2018) com o pico em 595 nm correspondendo aos agrupamentos azo e os picos em 310 e 255 nm devido aos agrupamentos aromáticos. Al-Tohamy *et al.*, (2020) ainda indicaram que o pico em 310, presente no espectro do corante RB5

pode ser atribuído aos anéis aromáticos de naftaleno. Os corantes RB5 e RO4 possuem naftaleno em sua estrutura molecular e mostraram picos em 310 e 306 nm, respectivamente. Wang *et al*., (2014) reportaram o aparecimento e rápida redução de um pico próximo a faixa de 200 nm, que seria causado provavelmente por moléculas orgânicas simples como etanol ou ácido acético.

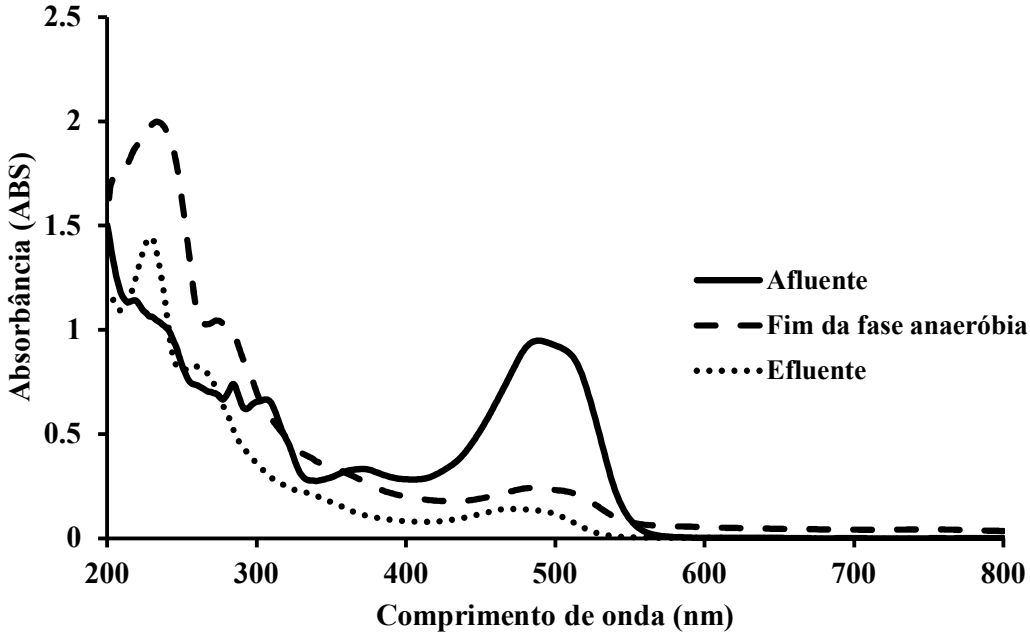
Os espectros do fim da fase anaeróbia do reator 1 mostram redução no pico em 489 nm indicando a remoção parcial do corante durante o período anaeróbio devido ao processo de clivagem da ligação azo e a consequente formação de aminas aromáticas observadas pela aparição dos picos em 246 nm e 274 nm. Comportamento semelhante foi observado no reator 2 com grande redução do pico em 595 nm indicando a clivagem das ligaões azo do corante RB5, durante a fase anaeróbia e formação das aminas aromáticas correspondentes. Os picos em 261 nm e 228 nm correspondem às aminas aromáticas formadas da degradação do corante RB5.

Figura 21 - Espectro UV-Vis do Reator 1, alimentado com corante RO4 (λ_{max} 489 nm) ao longo do tratamento da Fase 1.



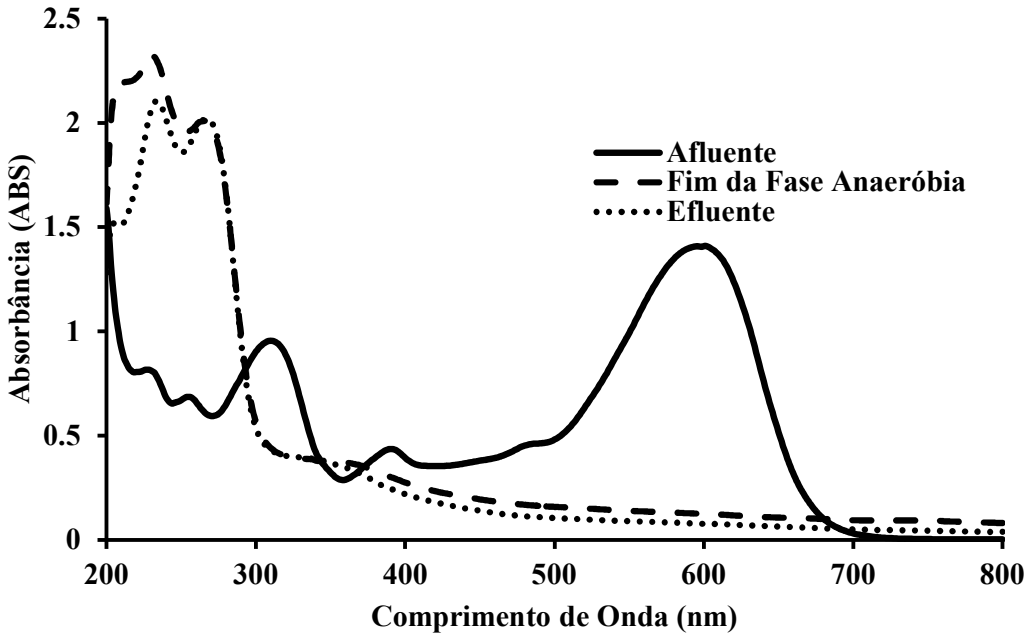
Fonte: O autor (2021).

Figura 22 - Espectro UV-Vis do Reator 1, alimentado com corante RO4 (λ_{max} 489 nm) ao longo do tratamento da Fase 2.



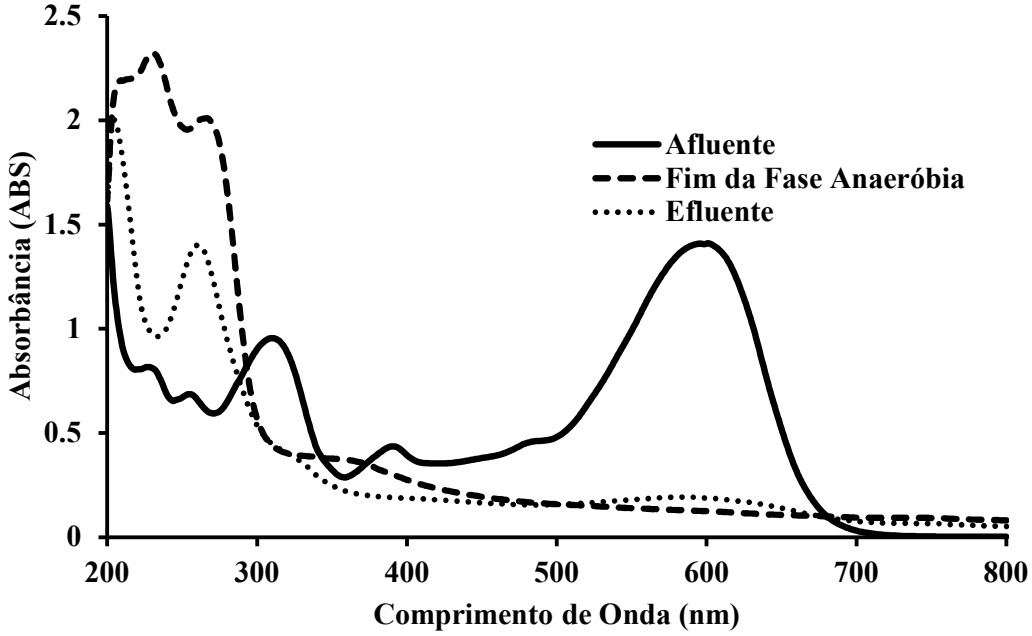
Fonte: O autor (2021).

Figura 23 - Espectro UV-Vis do Reator 2, alimentado com corante RB5 (λ_{max} 595 nm) ao longo do tratamento – Fase 1.



Fonte: O autor (2021).

Figura 24 - Espectro UV-Vis do Reator 2, alimentado com corante RB5 (λ_{max} 595 nm) ao longo do tratamento – Fase 2.



Fonte: O autor (2021).

Del Río *et al*., (2009) que avaliaram a degradação do corante RO4 utilizando processo eletroquímico também reportaram que o espectro após a redução do pico em 489 nm (remoção de cor) era muito semelhante ao espectro do composto ácido 2-aminonaftaleno-1,5-dissulfônico, que possui estrutura semelhante aos possíveis subprodutos formados a partir da clivagem redutiva das ligações azo do corante RO4. Entretanto, é necessário analisar por técnicas mais avançadas, como cromatografia líquida com espectrômetro de massa, para identificar os compostos. Brito (2018) também identificou acúmulo de picos em torno de 250 e 270 nm após a degradação anaeróbia do corante RO4.

O espectro da fase anaeróbia do reator 2 foi muito semelhante ao reportado por Wang *et al*., (2014) que também trabalharam com a degradação anaeróbia-aeróbia do corante RB5. Durante a degradação anaeróbia do corante RB5, os autores identificaram o crescimento de um pico em 260 nm e um próximo a 200 nm. Wang *et al*., (2014) e Libra *et al*., (2004) conseguiram identificar as aminas aromáticas ácido 1,2,7-triamino-8-hidroxinaftaleno-3,6-dissulfônico (TAHNDS) e 2-[(4-Aminofenil) sulfonil] etilo sulfato de hidrogênio (APSEHS) como os principais subprodutos da degradação do RB5.

A microeaeração da Fase 1 ocasionou pouca variação no espectro UV-Vis tanto para o reator 1 quanto para o reator 2, indicando que quase não houve remoção das aminas aromáticas. O espectro do efluente do reator 1 ainda apresentou picos em 246 e 274 nm, com pouca redução nas absorbâncias quando comparado com o espectro observado ao fim da fase anaeróbia. O espectro do efluente do reator 2 também apresentou pequena diminuição dos picos em 261 e 228 nm, indicando acúmulo das aminas aromáticas que absorvem luz neste comprimento de onda.

Já a aeração da Fase 2 foi capaz de proporcionar diminuição dos picos de aminas aromáticas nos 2 reatores. Na Figura 25 é possível observar diminuição importante dos picos em 264 e 274 nm, no Reator 1 e nos picos de 261 e 228 nm no Reator 2 (Figura 27). Contudo, também é possível observar aumento do pico em 595 nm no efluente, indicando aumento na absorção de luz decorrente da autoxidação das aminas, como já discutido no item 5.2.3.

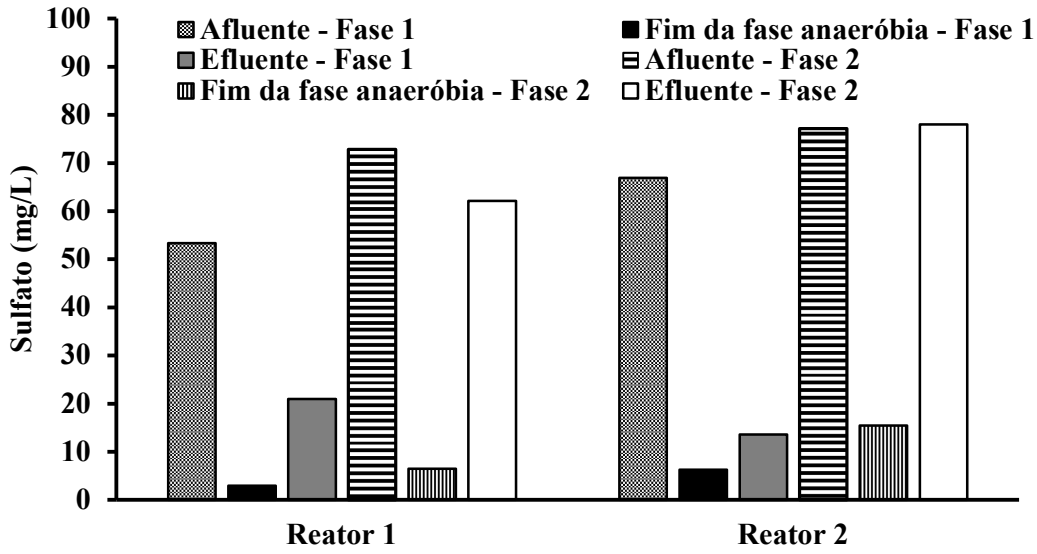
Libra *et al*., (2004) avaliaram a biodegradação do corante RB5 em processo anaeróbio-aeróbio, fornecendo cerca de 1,67 L/min de ar durante a fase aeróbia e reportaram autoxidação das aminas aromáticas e eventual acúmulo desses novos subprodutos, onde os autores indicaram que cerca de 30 – 40% da cor presente no efluente era resultante das aminas aromáticas autoxidadas que absorviam luz no comprimento de onda semelhante ao corante e esses compostos resistiram a degradação aeróbia. Wang *et al*., (2014) reportaram que após tratamento anaeróbio-aeróbio do corante RB5, houve a reaparição de cor após 2 minutos de reação aeróbia (4 mg O.D./L), devido a autoxidação das aminas aromáticas e que esses compostos não foram removidos em ambiente aeróbio.

5.3 REMOÇÃO DE SULFATO

Análise de sulfato ao longo de uma batelada típica durante as fases 1 e 2 também levantou informações relevantes sobre os processos metabólicos das comunidades dos reatores. Sulfato está presente no efluente sintético na forma de $Mg.SO_4$-$7.H_2O$ como macronutriente, na concentração de 100 mg/L, que resulta em concentração de 79,8 mg SO_4^{2-}/L. Em condições anaeróbias e na presença de um doador de elétrons, sulfato é reduzido biologicamente a sulfeto (H_2S). Na presença de oxigênio, as formas reduzidas de enxofre são reoxidadas a sulfato, através de processos biológicos (MADIGAN *et al*., 2019).

A Figura 25 mostra os resultados da análise de sulfato no afluente, ao fim da fase anaeróbia e no efluente dos reatores 1 e 2 em uma batelada típica das fases 1 e 2. Ao fim da fase anaeróbia 94,6% e 90,7% do sulfato foi reduzido nos reatores 1 e 2, respectivamente, na Fase 1. Após a fase de aeração, 35,8% e 12,2% do sulfeto formado anaerobiamente foi reoxidado à sulfato. Redução anaeróbia de sulfato também foi observada na Fase 2, em que os percentuais de remoção anaeróbia foram de 91,1% e 80%, para os reatores 1 e 2 respectivamente. No entanto, na Fase 2, a contribuição da aeração para o ciclo fútil foi mais importante, com retorno de concentração de sulfato, devido a reoxidação durante o período aerado.

Figura 25 - Remoção de sulfato ao longo do tratamento nos reatores nas Fases 1 e 2.



Fonte: O autor (2021).

Amaral *et al.*, (2014) trabalharam com Reator UASB seguido de Biofiltro Aerado Submerso para o tratamento de efluente têxtil real e reportou comportamento similar. Ao fim do período anaeróbio, a concentração de sulfato foi reduzida de 268 mg SO_4^{2-}/L para 62mg SO_4^{2-}/L, porém após o período aeróbio a concentração retornou à 176 mgSO_4^{2-}/L. Carvalho *et al*., (2020) também reportaram resultados semelhantes, de redução de sulfato no compartimento anaeróbio de um retor UASB microaerado utilizado para tratar efluente têxtil sintético, e o retorno posterior da concentração de sulfato após o trecho aerado. Esse comportamento se mostra típico de reatores utilizados para tratar efluentes têxteis, que possuem concentração elevada de sulfato e necessidade de aplicação de fase anaeróbia seguida de fase aerada.

A Fase 1 contou com adição mínima de ar no sistema com intuito de servir como aceptor de elétrons para a degradação das aminas aromáticas, porém o oxigênio também pôde ser utilizado como aceptor de elétrons para outros processos biológicos, como a oxidação do enxofre, ou para a metanotrofia. A competição pelo oxigênio, utilizado como aceptor de elétrons, entre a oxidação do enxofre e a remoção de aminas aromáticas poderia ter contribuído na má performance da remoção de aminas nos 2 reatores durante a Fase 1. Porém, as considerações sobre a comunidade microbiana no item 5.5 elucidam sobre a utilização de oxigênio para oxidação do enxofre nos reatores.

Nos trabalhos supracitados, os autores não reportaram competição por doadores de elétrons entre a redução de sulfato e a descoloração redutiva, mostrando que a remoção de sulfato não prejudicou a remoção de cor. Entretanto, os autores citados não fizeram considerações sobre a competição entre oxidação do sulfeto e remoção de aminas aromáticas.

5.4 CITOTOXICIDADE

As Tabelas 10 e 11 mostram os resultados dos ensaios de citotoxicidade dos afluentes ao longo do tratamento realizados em sementes de *Allium cepa*.

Tabela 10 - Ensaio com sistema-teste *Allium cepa* após 72 h de exposição das sementes antes e após tratamentos de biodegradação.

Amostra	**Índice Germinativo (%)**	**Crescimento radicular (cm)**
CN (Água mineral)	82 ± 0,5	1,55 ± 0,30
CP (MMS)	79 ± 0,80	1,65 ± 0,25
CP (Trifluralina)	81 ± 0,75	1,45 ± 0,25
Afluente – R1 RO4	68 ± 4,65	1,25 ± 0,50
Anaerobiose – R1 $RO4_{10min}$	76 ± 2,10	1,15 ± 0,35
Efluente – R1 $RO4_{10min}$	85,50 ± 0,95	1,05 ± 30
Anaerobiose – R1 $RO4_{30min}$	73 ± 2,15	1,25 ± 0,40
Efluente – R1 $RO4_{30min}$	83 ± 1,40	1,20 ± 0,15
Afluente – R2 RB5	82 ± 2,10	1,30 ± 0,45
Anaerobiose – R2 $RB5_{10min}$	80,50 ± 3,10	1,20 ± 0,40
Efluente – R2 $RB5_{10min}$	74,50 ± 7,55	0,95 ± 0,25
Anaerobiose – R2 $RB5_{30min}$	75,50 ± 3,40	1,30 ± 0,20
Efluente – R2 $RB5_{30\ min}$	74 ± 0,95	1,45 ± 0,30

Fonte: O autor (2021).
CN corresponde ao controle negativo com uso de água mineral, enquanto CP aos controles positivos com uso de Metilmetanosulfonato e Trifluralina.

Dos ensaios de germinação é possível identificar que o corante RO4 apresentou toxicidade suficiente para prejudicar a germinação das sementes de *A. cepa* e que a toxicidade foi mantida após a degradação anaeróbia do corante nas Fases 1 e 2. Os índices germinativos do efluente do reator 1 na Fase 1 indicam que a aeração conseguiu diminuir a toxicidade no efluente do Reator 1. É provável que a toxicidade seja causada tanto pela presença do corante quanto dos seus subprodutos, tendo em vista que só foi reduzida após o período de aeração nas Fases 1 e 2. Já o reator 2 alimentado com RB5 apresentou citotoxicidade indicada pelo índice germinativo nos efluentes das Fases 1 e 2.

Tabela 11 - Frequência (%) de núcleos meristemáticos de *Allium cepa* nas fases do ciclo celular após exposição das sementes à amostras, por 72 h.

Amostra	Núcleos em Sub-G_0 (%)	Núcleos em G_1(%)	Núcleos em S (%)	Núcleos em G_2/M (%)
CN (Água mineral)	10,20 ± 0,40	59,95 ± 7,10	11,15 ± 0,45	13,30 ± 1,15
Controle positivo (MMS)	14,95 ± 5,35	13 ± 0,50	64,70 ± 2,20	19,90 ± 0,50
Afluente - R1 RO4	37,76 ± 5,75	58,35 ± 1,75	10,90 ± 1,80	6,95 ± 0,30
Anaerobiose - R1 $RO4_{10min}$	15,05 ± 1,55	61,30 ± 8,20	14,30 ± 0,40	11,30 ± 2,75
Efluente R1 $RO4_{10min}$	12,25 ± 1,30	65,95± 6,20	10,95 ± 1,95	9,70 ± 2,45
Anaerobiose - R1 $RO4_{30min}$	16,20 ± 3,05	71,70 ± 0,75	11,95 ± 1,40	4 ± 0,15
Efluente R1 $RO4_{30min}$	12,35 ± 2,45	66,95 ± 1,20	9,35 ± 0,90	11,60 ± 2,20
Afluente - R2 RB5	14,15 ± 2,60	59,40 ± 5,85	14,85 ± 2,15	11,60 ± 0,45
Anaerobiose - R2 $RB5_{10min}$	24,05 ± 3,15	56,71 ± 12,55	14,42 ± 0,60	5,20 ± 1,75
Efluente R2 $RB5_{10min}$	21 ± 3,90	64,80 ± 3	13,20 ± 1,25	8,55 ± 0,75
Anaerobiose - R2 $RB5_{30min}$	19,95 ± 3,50	71,25 ± 0,80	9,85 ± 1,55	2,15 ± 0,25
Efluente R2 $RB5_{30min}$	13,10 ± 2,25	64,55± 1,25	10,70 ± 1,20	11,60 ± 0,25

Fonte: O autor (2021).
Sub-G1, populações de células com quantidades inferiores a 2C de DNA; G1, populações de células com quantidade 2C de DNA; S, síntese de DNA; G2/M, populações de células com quantidade 4C de DNA.

Os ensaios que avaliaram o ciclo celular, na Tabela 11, confirmaram os resultados sobre a toxicidade do corante RO4 apresentados na Tabela 10, mostrando porcentagem elevada de morte celular (núcleos em Sub-G_0) no afluente. Esse número diminuiu após período anaeróbio nas fases 1 e 2, corroborando a hipótese de que a toxicidade no Reator 1 foi causada principalmente pela presença do corante, pois o RO4 foi removido durante a fase anaeróbia. Porém, a baixa porcentagem de células que completaram o ciclo celular (Núcleos em G_2/M) ao fim da fase anaeróbia do reator 1 nas 2 Fases indica presença de citotoxicidade ao fim deste período. Logo, neste reator houve presença de toxicidade mais evidentemente devido ao corante RO4 mas seus subprodutos também foram citotóxicos. Os efluentes do reator 1 nas fases 1 e 2 apresentaram redução na morte celular e aumento no percentual de células que completaram o ciclo, indicando diminuição da toxicidade.

Assim como mostrado pelas análises de germinação, o afluente do Reator 2 não apresentou toxicidade. Porém, com a degradação do RB5 e produção de aminas aromáticas, a toxicidade aumentou significativamente, aumentando o número percentual de núcleos em Sub-G_0 e redução do percentual de núcleos em G_2/M após a reação anaeróbia nas fases 1 e 2, indicando que a toxicidade era causada substancialmente pela presença de aminas aromáticas. No Reator 2, o período de aeração da Fase 1 não foi capaz de diminuir a toxicidade, corroborando as informações apresentadas no item 5.2.4, que não houve remoção significativa de aminas aromáticas nessa etapa. No entanto, a aeração adotada na Fase 2 foi capaz de diminuir a toxicidade do efluente, reduzindo percentual de morte celular e aumentando o percentual de células que completaram o ciclo, resultando em valores similares ao controle negativo.

Phugare *et al.* (2011) avaliaram a citotoxicidade do corante diazo Reactive Red 120 que possui grupo de triazina em sua estrutura molecular. Os autores reportaram que a exposição das sementes de *Allium cepa* a soluções do corante promoveu alto índice de citotoxicidade, mas que foi reduzido à medida que a solução sofreu tratamento biológico para remoção de cor. Jadhav *et al*. (2011) também avaliaram a citotoxicidade de um corante azo que contém um grupo triazina (Remanzol Red) e o corante apresentou maior citotoxicidade em sementes de *A. cepa* que os metabólitos de sua degradação anaeróbia. O grupo triazina, quando associado a molécula do corante pode ter sido responsável por garantir a toxicidade do RO4 no afluente no Reator 1. Compostos baseados em triazina são amplamente utilizados como herbicidas, o que pode ajudar a compreender a citotoxicidade do RO4 (TREBST, 2008).

A massa molar elevada e alta presença de grupos sulfônicos podem ter reduzido a capacidade de permeabilidade do corante RB5 no indicador utilizado, reduzindo o potencial de citotoxicidade (RAWAT *et al*., 2016). Já o aumento da citotoxicidade após quebra da ligação azo pode ser explicado pela liberação de aminas aromáticas com estruturas mais simples com maior capacidade de permeabilidade. Menezes *et al*., (2019) obtiveram resultados similares na avaliação de ecotoxicidade em *Vibrio fischeri* ao longo do processo de degradação biológica do corante DB22. O corante não apresentou ser tóxico, porém, produziu toxicidade após o tratamento anaeróbio que liberou aminas aromáticas e o período de microaeração foi capaz de removê-las e reduzir a eco-toxicidade.

É importante frisar que a redução de toxicidade encontrada nos efluentes dos reatores na Fase 2, não indica remoção total das aminas aromáticas produzidas durante o tratamento anaeróbio. O período de microaeração foi responsável por remover parcialmente as aminas a ponto de reduzir a citotoxicidade no indicador utilizado.

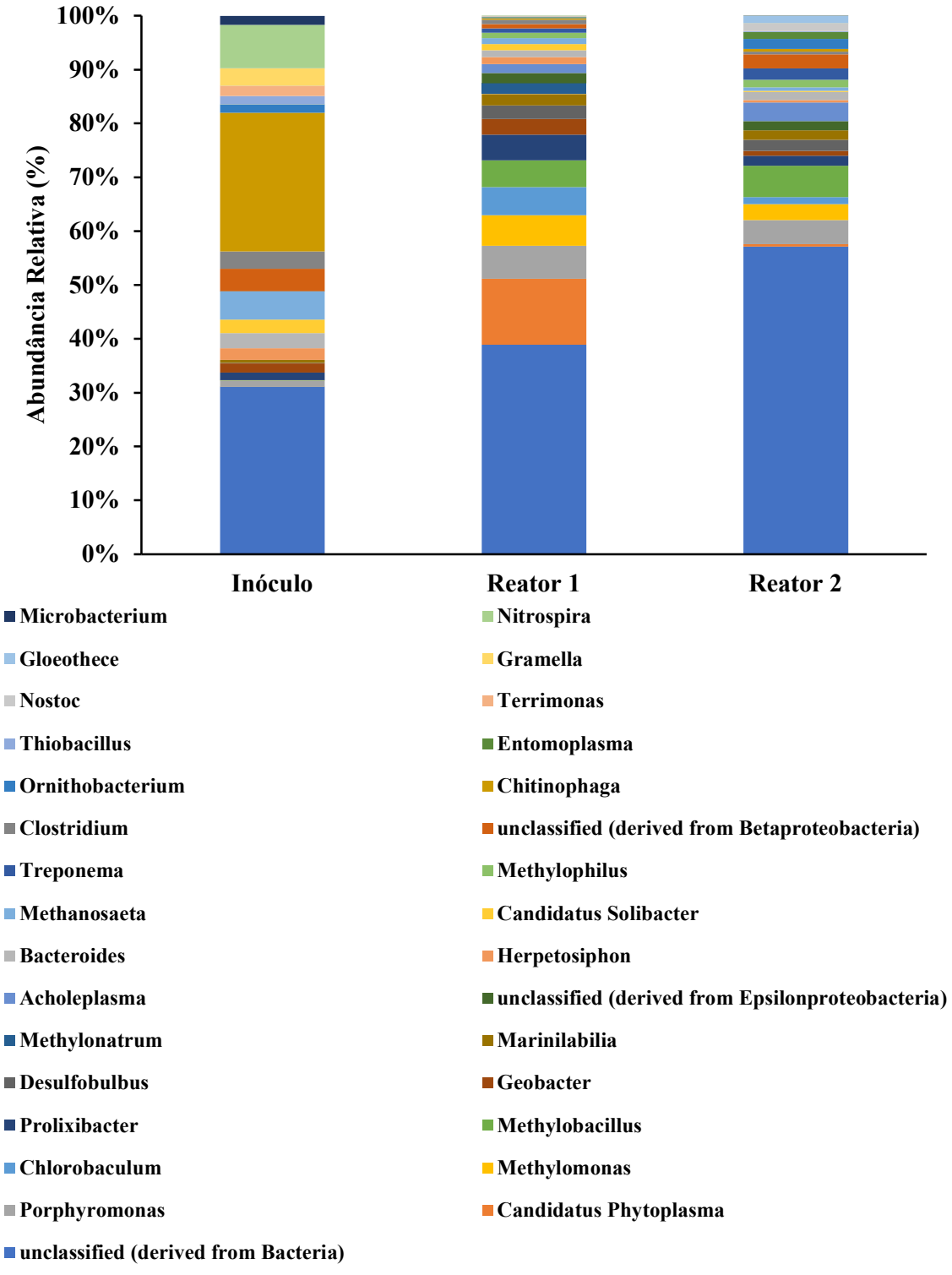
5.5 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS COMUNIDADES MICROBIANAS

A Figura 26 mostra os organismos com abundância relativa (AR) superiores a 1% presentes no inóculo e nos reatores 1 e 2 durante o período estacionário da Fase 1.

O inóculo proveio de uma mistura de lodo de um reator UASB utilizado para degradar efluente têxtil sintético e lodo de um reator anaeróbio de uma indústria petroquímica que foi previamente adaptada a degradar anilina e ácido sulfanílico em condições de microaeração intermitente. Os gêneros *Chitinophaga*, *Nitrospira* e *Methanosaeta* tiveram maior abundância relativa no inóculo e condizem com as condições aplicadas. *Chitinophaga* é um gênero de organismos aeróbios reportados em tratamentos de efluentes da indústria petroquímica (WANG *et al.*, 2021.a; WANG et *al*., 2021.b) e a liberação de amônia na degradação de anilina e presença oxigênio pode favorecer a presença de *Nitrospira*. *Nitrosomonas* também foram encontradas no inóculo, porém com abundância relativa inferior a 1%.

Organismos de metabolismo versátil também foram encontrados no inóculo, como *Clostridium* e *Gramella*, que são anaeróbios estritos e aerotolerantes e já foram reportados em reatores para tratamento de efluentes têxteis; além de *Bacteroides*, anaeróbios fermentativos também encontrados em reatores para tratamento de efluentes da indústria têxtil (KRIEG *et al*., 2010; CARVALHO *et al*., 2020; LI *et al*., 2015).

Figura 26 - Gênero dos organismos com abundância relativa >1% presentes no inóculo e nos reatores 1 e 2 durante a Fase 1.



Fonte: O autor (2021).

As comunidades dos reatores 1 e 2 apresentaram semelhança relativa entre si e grande distinção da comunidade do inóculo. A salinidade presente no efluente sintético pode ter sido responsável pela seleção de organismos halotolerantes, como *Marinilabilia* (AR de 1,8 e 1,6% nos reatores 1 e 2, respectivamente), *Methylonatrum* (AR de 1,8% no Reator 1) e *Methylobacillus* (AR de 4,4 e 5,1% nos reatores 1 e 2) (BRENNER, KRIEG e STALEY, 2010.b; KIREG *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2019).

A comunidade do Reator 1 desenvolveu organismos do gênero *Candidatus phytoplasma* com 10,6% de AR, pertencentes ao filo *Tenericutes*. Esses organismos são identificados como patógenos de plantas, incluindo plantas nas quais são utilizadas herbicidas baseados em triazina (MEDEIROS *et al*., 2017). Uma das características de organismos patógenos é a de transferência horizontal de genes, permitindo o desenvolvimento de mecanismos similares aos de seus hospedeiros, logo, é possível que o desenvolvimento desse organismo no reator 1 esteja relacionado com a presença de compostos derivados da traizina (SOANES e RICHARDS, 2014). Mavriou *et al*. (2021) reportaram a presença de organismos do gênero *Candidatus phytoplasma* em um reator aeróbio de leito fixo utilizado para o tratamento de esgotos domésticos com adição do fungicida Fludioxonil.

Os gêneros *Porphyromonas, Prolixibacter, Marinilabilia*, *Bacteroides* e *Acholeplasma* que estiveram presentes em alta abundância relativa nos reatores 1 e 2, são exemplos de bactérias fermentativas, estritamente anaeróbias ou facultativas, capazes de produzir ácido acético, propiônico e ácido butírico (KRIEG *et al*., 2010) e que podem estar ligadas a fermentação do etanol aos ácidos orgânicos observados neste estudo. Xie *et al*., (2018) reportaram presença de *Porphyromonas* durante todas as fases de operação de um reator fermentativo utilizado para degradar 50 mg/L dos corantes RB5 e Remanzol Brilliant Blue R utilizando uma variedade de substratos (amido, glicose, peptona e Y5). Zhu *et al*., (2018) identificaram bactérias do gênero *Bacteroides* nos compartimentos anaeróbios de reatores utilizados para tratar os corantes diazo Congo Red e Amino Black alimentados com glicose.

Nos reatores 1 e 2 também foi observada diversidade de metanotróficas e metilotróficas como *Methylomonas*, *Methylobacillus*, *Methylonatrum* e *Methylophilus*. Esses organismos são capazes de metabolizar metano ou outros compostos que contém formados por 1 átomo de carbono, por via aeróbia ou anaeróbia. As *Methylomonas* oxidam metano aerobiamente, produzindo metanol como subproduto (HANSON e HANSON, 1996). *Methylophilus* metabolizam estritamente metanol utilizando oxigênio como aceptor de elétrons (JENKINS *et al*., 1987). Os *Methylobacillus* são capazes de oxidar uma variedade de compostos C_1

aerobiamente (BRENNER *et al*., 2010b). A presença desses organismos indica produção de metano e possivelmente de metanol nos reatores. A presença das metano e metilotróficas mostram outros processos biológicos que consumiram o oxigênio inserido no sistema, aumentando a competição do mesmo e prejudicando a remoção de aminas aromáticas durante a Fase 1.

A análise da comunidade microbiana também mostrou a presença de microrganismos com capacidade de produzir azo reductases, como os anaeróbios *Bacteroides*, *Geobacter* e *Prolixibacter* (LIU *et al.*, 2013). Algumas espécies de organismos metanotróficos e metilotróficos, pertencentes aos gêneros *Methylomonas*, ou *Methylobacillus* também apresentam genes capazes de codificar azo reductases indicado pela base de dados da Uniprot (UNIPROT, 2021.a; UNIPROT, 2021.b). Zhu *et al*., (2018) correlacionaram a presença de *Bacteroides* com a clivagem redutiva das ligações azo de dois corantes. Esses organismos pertencem ao filo *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* comumente encontrados em grande abundância relativa nos reatores têxteis. Carvalho (2016) obteve os filos de *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* com maior abundância relativa na manta de lodo de um reator UASB tratando efluente têxtil sintético. As azoreductases são enzimas não específicas, portanto, é esperado que exista uma grande diversdidade de microrganismos capazes de produzi-la para descolorir os corantes.

Outra característica importante das comunidades dos reatores 1 e 2 é a presença de microrganismos utilizadores de enxofre. *Desulfobulbus* obtiveram abundância relativa significativa nos 2 reatores. Esses organismos correspondem a um gênero popular de bactérias anaeróbias redutoras de sulfato, capazes de utilizar etanol, ácido propiônico, hidrogênio ou outros compostos orgânicos para reduzir sulfato a sulfeto (LENS, 2009). Li *et al.*, (2019) reportaram a oxidação anaeróbia de metano através da redução de sulfato a sulfeto em um consórcio anaeróbio contendo *Methanosaeta sp.* e a espécie *Desulfobulbus propinonicus*.

As comunidades também apresentaram AR>1% do gênero anaeróbio *Chlorobaculum,* que são conhecidas como bactérias sulfurosas fototróficas capazes de oxidar sulfeto a sulfato (MADIGAN *et al.*, 2019). Bactérias do gênero *Thiobacillus,* que são aeróbias oxidadoras de enxofre, também foram encontradas nas comunidades dos reatores, porém com AR<1%. A elevada abundância relativa de *Chlorobaculum* nos 2 reatores mostram que a rota principal da reoxidação de sulfato durante a Fase 1 não envolve a utilização de oxigênio fornecido durante a fase de microaeeração e que o consumo de oxigênio tenha ocorrido majoritariamente pelo metabolismo das bactérias metanotróficas e metilotróficas.

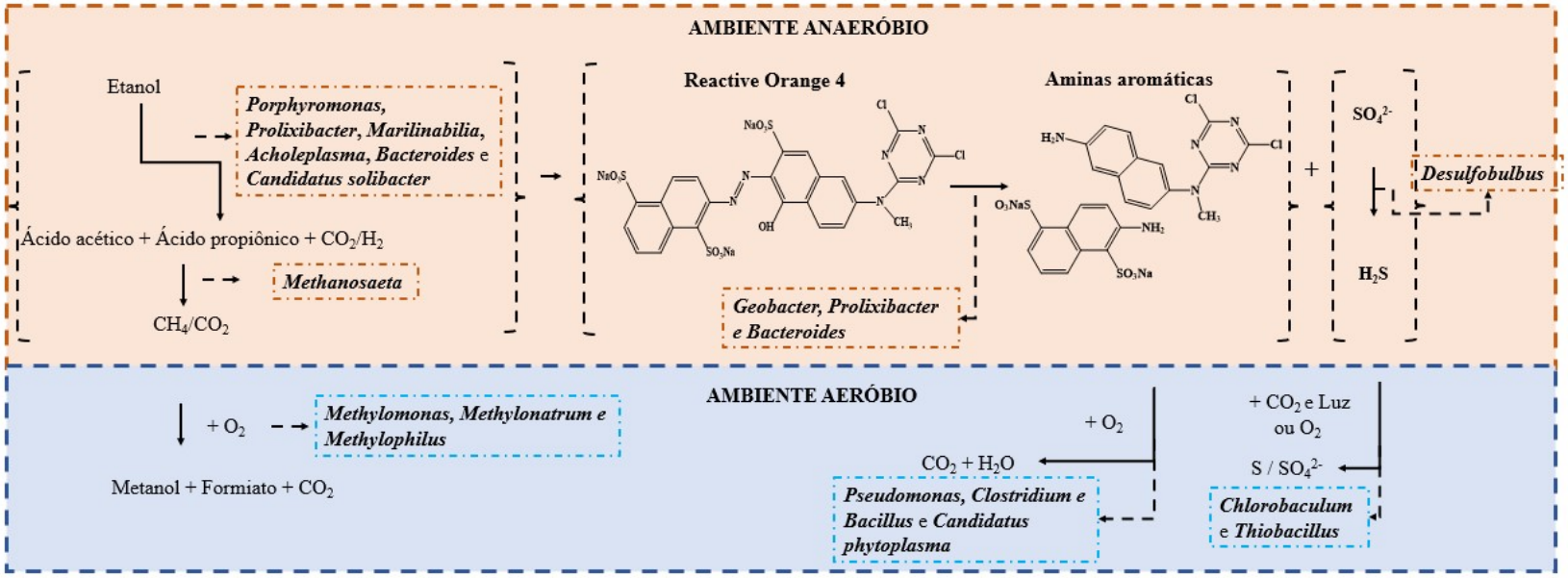
Através de análise na base de dados da Uniprot, também foi notificado a presença de bactérias, nos 2 reatores, com capacidade de produzir enzimas para realizar a deaminação (etapa de remoção dos grupos amino ligados aos anéis aromáticos), como os *Methylobacillus*, *Acholeplasma, Nostoc* e a já citada *Candidatus phytoplasma* (UNIPROT, 2021.c; UNIPROT, 2021.d; UNIPROT, 2021.e). As *Methylomonas* também conseguem produzir enzimas para realizar a desulfonação das aminas aromáticas, indicando alta variedade metabólica das bactérias desse gênero (UNIPROT, 2021.f).

O gênero *Methanosaeta* esteve presente em abundância relativa igual a 0,9 e 0,6% nos reatores 1 e 2. Arqueias não classificadas também estiveram presentes com AR de 0,5% nos 2 reatores. Esses organismos, em conjunto com os metanotróficos, apontam fortemente para a presença de comunidade metanogênica.

As comunidades dos reatores durante o período estacionário da Fase 1 conseguiram desenvolver organismos anaeróbios e facultativos fermentativos, capazes de produzir ácido acético e propiônico. Também houve a presença significativa de organismos com capacidade de produzir azo reductases e de enzimas relacionadas às etapas da degradação parcial de aminas aromáticas, como a deaminação e desulfonação. Além disso, a presença de organismos utilizadores de enxofre ajudou a confirmar o processo biológico de redução e oxidação dos compostos de enxofre. A característica mais marcante das comunidades dos reatores se dá pela presença das metano e metilotróficas, que pôde corroborar a hipótese de competição pelo oxigênio entre a remoção de aminas aromáticas e outros processos metabólicos.

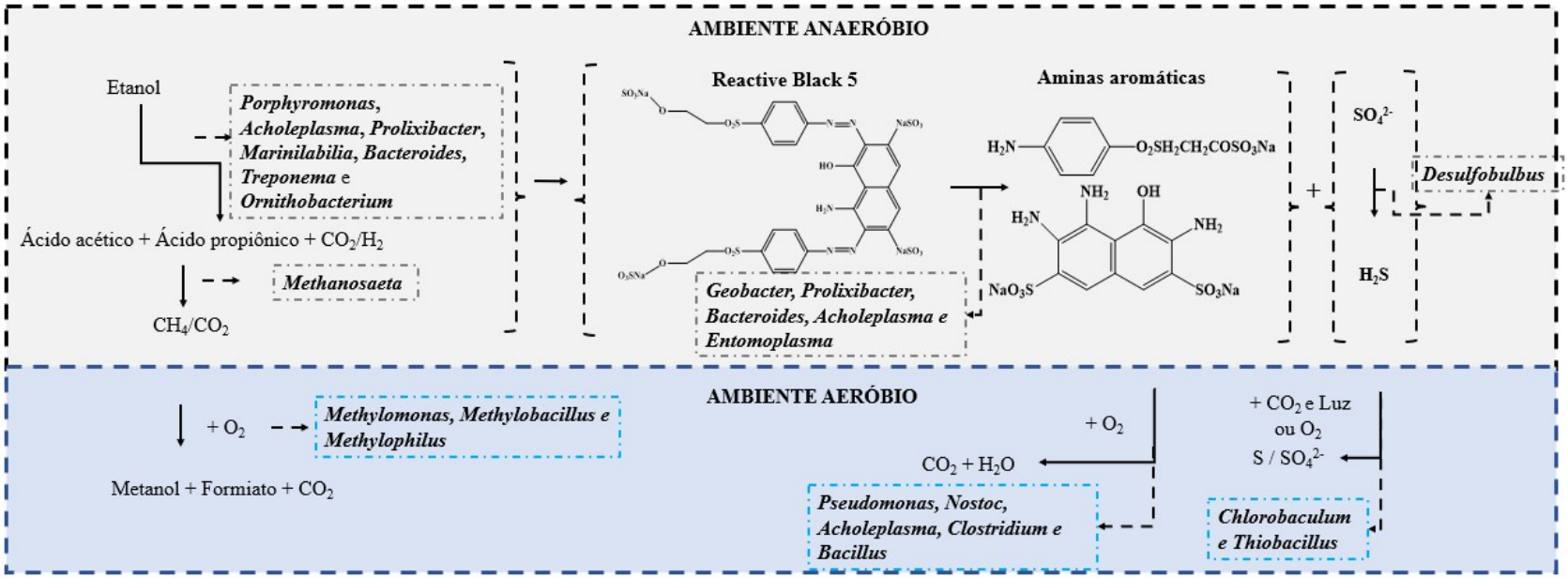
O esquema de aeração intermitente foi fundamental para a presença de cometabolismos (metanotrofia, redução de sulfato e oxidação de sulfeto) que influenciaram a degradação dos compostos no efluente têxtil sintético. As Figuras 30 e 31 mostram um fluxograma simplificado dos processos metabólicos mais importantes que possivelmente ocorreram durante a Fase 1 e os possíveis organismos relacionados a tais processos das comunidades dos reatores 1 e 2, respectivamente.

Figura 27 – Fluxograma simplificado dos possíveis metabolismos das comunidades no Reator 1 alimentado com corante Reactive Orange 4 durante a Fase 1 e possíveis microrganismos envolvidos.



Fonte: O autor (2021).

Figura 28 - Fluxograma simplificado dos possíveis metabolismos das comunidades microbianas do Reator 2 alimentado com corante Reactive Black 5 durante a Fase 1 e possíveis microrganismos envolvidos.



Fonte: O autor (2021).

6 CONCLUSÕES

Os reatores em bateladas sequenciais R1 e R2, alimentados, respectivamente, com efluente têxtil sintético contendo o corante Reactive Orange 4 (RO4) e Reactive Black 5 (RB5), apresentaram comportamento semelhante de remoção de matéria orgânica, com eficiência em torno de 80% em ambas as fases operacionais. Isto indica que o aumento da duração da aeração intermitente de 10 minutos (Fase 1) para 30 minutos (Fase 2) a cada 2 horas não influenciou o comportamento global de remoção de matéria orgânica. Os ácidos acético e propiônico foram os metabólitos detectados, tendo sido removidos após 8 e 6 horas nos reatores 1 e 2, respectivamente, em ambas as fases operacionais.

A remoção anaeróbia da matéria orgânica foi bem representada por modelo cinético de primeira ordem. Em F1, os reatores apresentaram coeficientes cinéticos de remoção da DQO semelhantes (Reator 1 – k_1=0,0120 h^{-1} e Reator 2 – k_1=0,0082 h^{-1}). Já em F2 se observou diminuição dos coeficientes cinéticos, (Reator 1 – k_1=0,0082 h^{-1} e Reator 2 k_1=0,0073 h^{-1}) o que pode refletir inibição da metanogênese pelo aumento dos pulsos de aeração. O período de aeração da Fase 2 obteve melhores ajustes de ordem zero, e apresentou coeficientes cinéticos baixos comparados com a literatura (Reator 1 – k_0=5,13 mg/L.h e Reator 2 – k_0=6,53 mg/L.h), o que era esperado para a degradação de DQO residual recalcitrante.

O corante RB5 foi mais bem reduzido (88,7%) que o RO4 (77,4%) na Fase 1, sendo que o reator 1, alimentado com este último, manteve o comportamento na Fase 2. A eficiência de remoção de cor no Reator 2 sofreu uma diminuição aparente para 80,9% na Fase 2, o que esteve associado à autoxidação das aminas aromáticas, formadas anerobiamente, quando expostas a maior disponibilidade de oxigênio. Os produtos de autoxidação absorveram luz visível, interferindo na absorbância no comprimento de onda de leitura do corante RB5 (595 nm).

A remoção de corantes também foi bem representada por reação de primeira ordem. Em ambas as fases o processo de degradação do RB5 (Fase 1 – k_1=0,275 h^{-1} e Fase 2 – k_1=0,236 h^{-1}) gerou coeficientes cinéticos maiores que os obtidos para o RO4 (Reator 1 – k1=0,045 h^{-1} na Fase 1 e k_1=0,120 na Fase 2) corroborando os dados da literatura que indicam que os corantes com grupo triazina, como o RO4, apresentam menores coeficientes cinéticos de remoção. Na Fase 2, houve melhora na cinética da remoção do RO4, provavelmente em função da redução da toxicidade do meio. Já para o RB5 houve diminuição do coeficiente cinético com o aumento

dos pulsos de aeração, indicando que as aminas provenientes do RB5 que sofreram autoxidação, geraram compostos também recalcitrantes.

Os processos anaeróbios de redução dos corantes, de sulfato e de degradação do etanol ocorreram de forma concomitante, produzindo aminas aromáticas, sulfeto e metano, respectivamente. Estes entraram em processo competitivo pelo oxigênio durante a aeração intermitente. Durante a Fase 1, a remoção de aminas aromáticas foi prejudicada, tendo gerado efluente tóxico para sementes de *Allium cepa*, independente do corante utilizado. No entanto, as aminas aromáticas foram removidas parcialmente na Fase 2, gerando efluente sem toxicidade.

O ciclo fútil de redução de sulfato a sulfeto e reoxidação a sulfato esteve presente em ambas as fases, sendo a reoxidação quase completa na Fase 2.

A análise da diversidade microbiana dos reatores na Fase 1 mostrou semelhança entre as comunidades dos reatores e diferença com o inóculo. O reator 1 desenvolveu organismos do gênero *Candidatus phytoplasma* com abundância relativa de 10,6% que pode estar ligado à presença de compostos derivados da triazina, como o corante RO4 e seus metabólitos. A presença de organismos fermentativos anaeróbios estritos e aerotolerantes como os do gênero *Porphyromonas*, *Prolixibacter*, *Mariniliabilia Acholeplasma* e *Bacteroides* corroboram os dados de degradação do etanol e produção de ácidos orgânicos. Também foi observada a presença de vários organismos capazes de produzir azo reductases (*Bacteroides*, *Geobacter*, *Prolixibacter*) e de organismos metanotróficos e metilotróficos (*Methylomonas*, *Methylonatrum*, *Methylobacillus* e *Methylophilus*) que utilizam oxigênio para metabolizar metano ou outros compostos formados por 1 átomo de carbono. A presença desses organismos mostra que houve grande competição pelo oxigênio inserido na Fase 1, o que deve ter prejudicado a remoção das aminas aromáticas.

Os reatores ainda desenvolveram organismos do gênero *Desulfobulbus*, que são redutoras de sulfato e *Chlorobaculum*, que são organismos fototróficos oxidadoras de sulfeto. O desenvolvimento do gênero *Chlorobaculum* descartou a possibilidade de competição pelo oxigênio para oxidação do sulfeto.

6.1 SUGESTÕES

De acordo com os resultados e questionamentos obtidos nesse trabalho ficam como sugestões para trabalhos posteriores:

a) Desenvolvimento de métodos cromatográficos para quantificação dos corantes, em substituição ao método espectrofotométrico, para evitar influência dos produtos de autoxidação das aminas aromáticas;
b) Investigação de aeração intermitente utilizando pulsos entre 10 e 30 minutos a cada 2 horas para os mesmos corantes e para outros de estrutura molecular diferentes;
c) Identificação dos metabólitos produzidos ao longo da degradação dos corantes e sua remoção no processo aeróbio;
d) Aplicação de RBS anaeróbio-microaeróbio para degradar efluentes têxteis reais.

REFERÊNCIAS

ABIT. Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. **Indústria Têxtil e de Confecção Brasileira**, 2018. Disponível em: < http://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor >. Acesso em: 12/04/2018.

AL-TOHAMY, R. *et al*. Ecofriendly biodegradation of Reactive Black 5 by newly isolated Sterigmatomyces halophilus SSA1575, valued for textile azo dye wastewater processing and detoxification. 2020. **Sci Rep**. v. 10.

ALBUQUERQUE, M. G. E. *et al*. Biological sulphate reduction and redox mediator effects on azo dye decolourisation in anaerobic-aerobic sequencing batch reactors. **Enzyme and Microbial Technology**. 2005. v. 36, p. 790-799.

AMARAL, F. M. Avaliação da remoção de cor, matéria orgânica e sulfato de efluente têxtil por processo anaeróbio seguido de aeróbio. 76 p. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil**). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2011.

AMARAL, F. M. *et al.* Color, organic matter and sulfate removal from textile effluents by anaerobic and aerobic processes. **Bioresource technology**, 2014. v. 163, p. 364–369.

AMARAL, F. M. Remoção de corantes azo em sistema de reator anaeróbio/aeróbio e em reator UASB micro-aerado. 103 f. **Tese (Doutorado em Engenharia Civil**) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2015.

AMARAL, F. M. *et al*. Hydraulic retention time influence on azo dye and sulfate removal during the sequential anaerobic-aerobic treatment of real textile wastewater. 2017. **Water Science & Technology**. v. 76, p. 11-12.

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20. ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 2005.

ARAÚJO, S. P. Tratamento biológico de efluente têxtil com alto teor de sulfato e de salinidade. 75 p. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil**). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2017.

AYRES, M., AYRES Jr, M., AYRES, D. L., SANTOS, A. A. S. B**ioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: IDSM, 2007.

BISCHOPS, I. & SPANJERS, H. Literature review on textile wastewater characterization. 2003. **Environmental Technology**. v. 24, p. 1399-1411.

BOTHEJU, D.; BAKKE, R. Oxygen effects in anaerobic digestion – a review. 2011. Open **Waste Management Journal**. v. 4, p. 1-19.

BRENNER D. J., KRIEG N. R., STALEY J. T. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2 Part: B**, 2™ Ed. Springer, New York. 2010.a.

BRENNER D. J., KRIEG N. R., STALEY J. T. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2 Part: C**, 2™ Ed. Springer, New York. 2010.b.

BRITO, R. S. Comportamento cinético da degradação de corantes azo e aminas aromáticas sob diferentes condições redox. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2018.

BUSINESS INSIDER. The fashion industry emits more carbon than international flights and maritime shipping combined: here are the biggest ways it impacts the planet. 2019. Disponível em: https://www.businessinsider.com/fast-fashion-environmental-impact-pollution-emissions-waste-water-2019-10. Acesso em: 21/12/2020.

CARVALHO, J. R. S. *et al*. Microaerated UASB reactor treating textile wasetwater: The core microbiome and removal of azo dye Direct Black 22. **Chemosphere**, 2020. v. 242.

CASTRO, J. C. Aplicação do método de análise multicritério para selecionar políticas públicas de incentivo à redução da informalidade no polo de confecções do agreste pernambucano. Dissertação (Mestrado em Economia) – Universidade Federal de Pernambuco Campus Agreste, Caruaru, Brasil, 2013.

CERVANTES, F. J.; DOS SANTOS, A. B. Reduction of azo dyes by anaerobic bactéria: microibiological and biochemical aspects. **Rev. Environ. Sci. Biotechnology**. 2011. v. 10, p. 125-137.

CHAGAS, M. A. Tratamento de efluente têxtil por processos físico-químico e biológico. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, Recife, 2009.

CHEN, G. *et al*. A batch decolorization and kinetic study of Reactive Black 5 by a bacterial strain *Enterobacter* sp. GY-1. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 2011. v. 65, p. 790-796.

CHEN, G. et al. Aerobic degradation of sulfanilic acid using activated sludge. **Water Research**. 2012. v. 1, p. 145-151.

CHEN, Q. *et al*. Review on microaeration-based anaerobic digestion: State of the art, challenges, and prospectives. 2020. **Science of the Total Environment**. v. 710.

CHUNG, K. T.; CERNIGLIA, C. E. Mutagenicity of azo dyes: structure-activity relationships. 1992. **Mutat. Res**. v. 277, p. 210-220.

CÂMARA, I. R. M. Influência da microaeração intermitente na degradação anaeróbia da anilina. Dissertação (**Mestrado em Engenharia Civil**) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2021.

CORREIA, V. M.; STEPHENSON, T.; JUDD, J. S. Characterisation of textile wastewaters – a review. 1994. **Environmental Technology**. v. 15, p. 917-929.

ÇINAR, O. et al. Effect of cycle time on biodegradation of azo dye in sequencing batch reactor. 2008. **Process Safety and Environment Protection**. 2008. v. 86, p. 455-460.

DA SILVA, M. E. R. *et al*. Reductive Decolourisation of Sulphonated Mono and Diazo Dyes in One- and Two-Stage Anaerobic Systems. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 2013. v. 170, p. 1-14.

DEL RÍO, A. I., *et al*. Influence of electrochemical reduction and oxidation processes on the decolourisation and degradation of C.I. Reactive Orange 4 solutions. **Chemosphere**. 2009. v. 10, p. 1329-1337.

DONOVAN P. K., WOOD A. P. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2™ Ed. Volume 2, p. 60. 2010

DOS SANTOS, A. B. *et al*. Review paper on current Technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. **Bioresource Technology**. 2007. v. 98, p. 2369-2385.

DOS SANTOS, A. B. *et al.* The contribution of fermentative bacteria and methanogenic archaea to azo dye reduction by a thermophilic anaerobic consortium. **Enzyme and microbial technology**, 2006. v. 39, n. 1, p. 38–46.

DOS SANTOS *et al*. Effect of redox mediator, AQDS, on the thermophilic decolourisation of a reactive azo dye containing triazine group in a thermophilic anaerobic EGSB reactor. **Enzyme and Microbial Technology**. 2003. v. 33, p. 942-951.

ELLEN MCARTHUR FOUNDATION. **A new textiles economy: redesigning fashion's future**. 2017. Disponível em: https://www.ellenmacarthurfoundation.org/publications/a-new-textiles-economy-redesigning-fashions-future. Acesso em: 21/12/2020.

FARABEGOLI, G.; CHIAVOLA, A.; ROLLE, E.; NASO, M. Decoloriazation of Reactive Red 195 by a mixed culture in an alternating anaerobic-aerobic Sequencing Batch Reactor. **Biochemical Engineering Journal**. 2010. v. 52, p. 220-226.

FERRAZ JR, A. D. N., et al. Textile effluent treatment in a UASB reactor followed by submerged aerated biofiltration. 2011. **Water Science & Technology**. v. 64, p. 1581-1589.

FLORENCIO, L.; JENIČEK, P.; FIELD, J. A; LETTINGA, G. Effect of cobalt on the anaerobic degradation of methanol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 75, n. 5, p. 368-374, 1993.

FRIMMER, U.; WIDDEL, F. Oxidation of ethanol by methanogenic bacteria. **Archives of Microbiology**. 1989. v. 152, p. 479-483.

GALBRAITH, D. W., *et al*. Rapid flow cytometric analysis of the cell-cycle in intact plant-tissues. **Science**. 1983. v. 220, p.1049–1051.

GIROTTO, F.; PENG, W.; RAFIEENIA, R.; COSSU, R. 2016. Effect of aeration Applied during different phases of anaerobic digestion. **Waste Biomass Valorization**. v. 9, p. 161-174.

GORE, M. M. et al. Degradation of reactive orange 4 dye using hydrodynamic caviation based hybrid techniques. 2014. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 21, p. 1075-1082.

HARPER, S. R.; POHLAND, F. G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology and bioengineering**, 1986. v. 18, p. 585–602.

HANSON, R. S.; HANSON, T. E. Methanotrophic bacteria. **Microbiological Reviews**. 1996. v. 6, p. 439-471.

HOLKAR, C. R. *et al*. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. **Journal of Environmental Management**. 2016. v. 182, p. 351-366.

JADHAV, S.; PHUGARE, S.; PATIL, P. S.; JADHAV, J. P. Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol red and subsequent toxicological evaluation by cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 2011. v. 65, p. 733-743.

JENKINS, O.; BYROM, D.; JONES, D. Methylophilus: a New Genus of Methanol-Utilizing Bacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**. 1987. p. 446-448.

MCKINSEY. Style that's sustainable: A new fast-fashion formula. 2016. Disponível em: https://www.mckinsey.com/business-functions/sustainability/our-insights/style-thats-sustainable-a-new-fast-fashion-formula#. Acesso em: 21/12/2020.

KATO, M. T.; FIELD, J.; LETTINGA, G. Anaerobe tolerance to oxygen and the potentials of anaerobic and aerobic cocultures for wastewater treatment. **Brazilian journal of chemical engineering**, 1997. v. 14, n. 4, p. 1–12.

KOUPAIE, E. H.; MOGHADDAM, M. R. A.; HASHEMI, S.H. Post-treatment of anaerobically degraded azo dye Acid Red 18 using aerobic moving bed biofilm process: Enhanced removal of aromatic amines. 2011. **Journal of Hazardous Materials**. v. 195, p. 147-154.

KUDLICH, M.; BISHOP, P. L.; KNACKMUSS, H. J.; & STOLZ, A. Simultaneous anaerobic and aerobic degradation of the sulfonated azo dye Mordant Yellow 3 by immobilized cells from a naphthalenesulfonate-degrading mixed culture. 1996. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 46, p. 597–603.

KUMAR, et al. Biomineralization of azo dye bearing wastewater in periodic discontinuous batch reactor: Effect of microaerophilic conditions on treatment efficiency. 2015. **Bioresource Technology**. v. 188, p. 56-64.

KRIEG N. R., *et al*. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 4**, 2™ Ed. Springer, New York. 2010.

LENS, P. **Encyclopedia of Microbiology**, 3ª Ed. Moselio Schaechter, San Diego. 2009.
LI, L., *et al*. Anaerobic oxidation of methane coupled to sulfate reduction: Consortium characteristics and application in co-removal of H_2S and methane. 2019. **Journal of Environmental Sciences**. v. 76, p. 238-248.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das Reações Químicas**. 3. Ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2000.

LI, C., *et al*. Study on dyeing wastewater treatment at high temperature by MBBR and the thermotolerant mechanism based on its microbial analysis. 2015. **Process Biochemistry**. v. 50, p. 1934-1941.

LIBRA, J. et al. Two Stage biological treatment of a diazo reactive textile dye and the fate of the dye metabolites. **Chemosphere**. 2004. v. 56, p. 167-180.

MADIGAN, M. T., et al. **Brock Biology of Microorganisms**. 15th ed. New York – NY: Pearson, 2019.

MEDEIROS, F. H. V., et al. **Novos sistemas de produção**. 1ª Ed. Lavras – MG: UFL Núcleo de Estudo em Fitopatia, 2017.

MENEZES, O. *et al*. Coupling intermittent micro-aeration to anaerobic digestion improves tetra-azo dye Direct Black 22 treatment in sequencing batch reactors**. Chemical Engineering Research and Design**. 2019. v. 146, p. 369-378.

METCALF e EDDY. **Wastewater Engineering – Treatment, Disposal, Reuse**. 4ª Edição. Nova York, 2003.

NGUYEN, D.; KHANAL, S. K. A little breath of fresh air into an anaerobic system: How microaeration facilitates anaerobic digestion process. 2018. **Biotechnology Advances**. v. 36, p. 1971-1983.

NIINIMAKI, K. et al. The environmental price of fast fashion. **Nature Reviews Earth & Environment**. 2020. v. 189, p. 189-200.

NTCPE. Cadeia têxtil e de confecções. Disponível em: https://www.ntcpe.org.br/?page_id=496. Acesso em: 04/01/2020.

OLIVEIRA, J. M. S., *et al*. Intermittent aeration strategy for azo dye biodegradation: a suitable alternative to conventional biological treatments? **Journal of Hazardous Materials**. 2020. v. 385.

PANDEY, A.; SINGH, P.; IYENGAR, L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 2007. v. 2007, p. 73-84.

PHUGARE, S. S.; KALYANI, D. C.; PATIL, A. V.; JADHAV, J. P. Textile dye degradation by bacterial consortium and subsequent toxicological analysis of dye and dye metabolites using cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. **Journal of Hazardous Materials**. v. 2, p. 713-723.

PRATO-GARCÍA, D.; CERVANTES, F. J.; BUITRÓN, G. Azo dye decolorization assisted by chemical and biogenic sulfide. 2013. **Journal of Hazardous Materials**. v. 250, p. 462-468.

POPLI, S.; PATEL, D. Destruction of azo dyes by anaerobic-aerobic sequential biological treatment: a review. **Int. J. Environ. Sci. Technol**. 2015. v. 12, p. 405-420.

RAWAT, D.; MISHRA, V.; SHARMA, R. S. **Detoxification of azo dyes in the context of environmental process**. 2016. Chemosphere. v. 155, p. 591-605.

SAMSAMI, S., *et al*. Recent advances in the treatment of dye-containing wastewater from textile industries: Overview and perspectives. **Process Safety and Environmental Protection**. 2020. v. 143, p. 138-163.

SARAYU, K.; SANDHYA, S. Current Technologies for Biological Treatment of Textile Wastewater–A Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2012, v. 167, n. 3, p. 645-661.

SCHINK, B. *et al*. Pathway of propionate formation from ethanol in *Pelobacter propionicus*. **Archives of Microbiology**. 1987. v. 147, p. 321-327.

SHARMA, K. P., *et al*. A comparative study on characterization of textile wastewater (untreated and treated) toxicity by chemical and biological tests. 2007. **Chemosphere**. v. 69, p. 48-54.

SHAW, C. B.; CARLIELL, C. M.; WHEATLEY, A. D. Anaerobic/aerobic treatment of coloured textile effluents using sequencing batch reactors. 2002. **Water Research**. v. 36, p. 1993-2001.

SHOUKAT, R.; KHAN, S. J.; JAMAL, Y. Hybrid anaerobic-aerobic biological treatment for real textile wastewater. 2019. **Journal of Water Process Engineering**. v. 29.

SILVA, F. de A.S.; AZEVEDO, C.A.V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. 2002. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais.** v. 4, p. 71-78.

SOANES, D.; RICHARDS, T. A. Horizontal gene transfer in Eukaryotic Plant Pathogens. **Annu. Rev. Phytopathol**. 2014. v. 52, p. 583-614.

SOUTO, T. H. M. P. Estudo do comportamento químico e ambiental de efluentes industriais e resíduos sólidos oriundos de lavanderias do polo têxtil no agreste pernambucano. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil, 2017.

TAN, N.C.G., FIELD, J.A. Biodegradation of sulfonated aromatic compounds. In: Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution Principles and Engineering. **IWA Publishing**, London, 2005, p. 377 e 392.

TATTON, M. J. et al. Methanogenesis from ethanol by defined mixed continuous cultures. **Applied and Environmental Microbiology**. 1988. v. 2, p. 440-445.

TOMEI, M. C.; PASCUAL J. S.; ANGELUCCI, D. M. Analysing performance of real textile wastewater bio-decolourization under different reaction environments. 2016**. Journal of Cleaner Production**. v. 129, p. 468-477.

TREBST, A. The mode of action of triazine herbicides in plants. In: LeBaron, H. M. The **Triazine herbicides**. 1. ed. San Diego: Elsevier, 2008. Cap. 8, p. 101-110.

UNIPROT. **UniProtKB 2021_01 Results**. 2021.a. Disponível em: https://www.uniprot.org/uniprot/?query=taxonomy:421(azor). Acesso em: 11/02/2021.

UNIPROT. **UniProtKB 2021_01 Results**. 2021.b. Disponível em: https://www.uniprot.org/uniprot/?query=taxonomy:1848039(azor). Acesso em: 11/02/2021.

UNIPROT. **UniProtKB 2021_01 Results**. 2021.c. Disponível em: https://www.uniprot.org/uniprot/?query=taxonomy:265072(%221%2014%20-%20-%22%20AND%20reviewed:yes). Acesso em :11/02/2021.

UNIPROT. **UniProtKB 2021_01 Results**. 2021.d. Disponível em: https://www.uniprot.org/uniprot/?query=taxonomy:441768(%221%2014%20-%20-%22%20AND%20reviewed:yes). Acesso em :11/02/2021.

UNIPROT. **UniProtKB 2021_01 Results**. 2021.e. Disponível em: https://www.uniprot.org/uniprot/?query=taxonomy:33926(%221%2014%20-%20-%22%20AND%20reviewed:yes). Acesso em: 11/02/2021.

UNIPROT. **UniProtKB 2021_01 Results**. 2021.f. Disponível em: https://www.uniprot.org/uniprot/?query=taxonomy:418(%221%2014%2099%20-%22%20AND%20reviewed:yes). Acesso em: 11/02/2021.

VAN DER ZEE, F. P.; CERVANTES, F. J. Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: A review. 2009. **Biotechnology Advances**. v. 27, p. 256-277.

VAN DER ZEE, F. P.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge. **Chemosphere**. 2001. v. 44, p. 1169-1176.

VISSERR A.; NOZHEVNIKOVA, A. N.; LETTINGA, G. Sulphide inhibition of methanogenic activity at various pH levels at 55°C. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology.** v. 57, p. 9-13.

WANG, D. *et al*. Stability of pure oxygen aeration-activated sludge system under non steady-food-to-microorganisms ratio conditions during petrochemical wastewater treatment. 2021.a. **Journal of Environmental Science Health – Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**. v. 56, p. 21-31.

WANG, M. *et al*. Bacterial community response to petroleum contamination in brackish tidal marsh sediments in the Yangtze River Estuary, China. 2021.b. **Journal of Environmental Sciences**. v. 99, p. 160-167.

WANG, X. *et al*. Fate and transformation of naphthylaminesulfonic azo dye Reactive Black 5 during wastewater treatment. Environ. **Sci Pollut Res**. 2014. v. 21, p. 5713-5723.

WANG, Y. Q. *et al*. Biodegradation of 4-aminobenzenesulfonate by a novel *Pannonibacter* sp. W1 isolated from activated sludge. **Journal of Hazardous Materials**. 2009. v. 169, p. 1163-1167.

YAŞAR, S. *et al*. The effect of cyclic anaerobic-aerobic conditions on the biodegradation of azo dyes. 2012. **Bioprocess and Biosystems Engineering**. v. 35, p. 449-457.

ZHANG, R. et al. *Marinilabilia rubra sp. nov*., isolated from a marine solar satern. 2019. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 69, p. 914 – 919.