



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

JUCÉLIA TAVARES FERREIRA

**REMOÇÃO DO CORANTE AZO DIRECT BLACK 22 EM
SISTEMAS DE CULTIVO FECHADO DE MICROALGAS**

Recife

2025

JUCÉLIA TAVARES FERREIRA

**REMOÇÃO DO CORANTE AZO DIRECT BLACK 22 EM
SISTEMAS DE CULTIVO FECHADO DE MICROALGAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Engenharia Civil. Área de concentração: Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Sávvia Gavazza

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Christina Brasileiro-Vidal

Recife

2025

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Ferreira, Jucélia Tavares.

Remoção do corante Azo Direct Black 22 em sistemas de cultivo fechado de microalgas / Jucélia Tavares Ferreira. - Recife, 2025.

Of.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2025.

Orientação: Sâvia Gavazza.

Inclui referências.

1. Microalgas; 2. C. vulgaris; 3. D. tertiolecta; 4. A. platensis; 5. T. obliquus; 6. Tratamento biológico; 7. Efluente têxtil; 8. Corante azo; 9. Algas; 10. Biotecnologia. I. Gavazza, Sâvia. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

JUCÉLIA TAVARES FERREIRA

**REMOÇÃO DO CORANTE AZO DIRECT BLACK 22 EM
SISTEMAS DE CULTIVO FECHADO DE MICROALGAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Engenharia Civil, Área de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Aprovada em 23/04/2025

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sávía Gavazza dos Santos, UFPE

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Brasileiro Vidal, UFPE

BANCA EXAMINADORA

participação por videoconferência
Prof. Dr. Osmar Luiz Moreira Pereira Fonseca de Menezes (examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

participação por videoconferência
Prof. Dr. Carlos Pereira da Silva (examinador externo)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí

participação por videoconferência
Dr.^a Fernanda Magalhães Amaral (examinadora externa)
Instituto SENAI de Meio Ambiente

participação por videoconferência
Prof.^a Dr.^a Elizabeth Amaral Pastich Gonçalves (examinadora externa)
Universidade Federal de Pernambuco

participação por videoconferência
Prof. Dr. Fabrício Motteran (examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

dedicatória

Dedico esse trabalho a minha avó, Rita Maria Ferreira (in memória), meu pouso seguro a quem eu devo minha sobrevivência, e a quem eu reporto todo significado do amor verdadeiro, sem reserva. Ao meu pai, Geraldo Vicente Ferreira (in memória), que do céu, ficará orgulhoso do meu sucesso. Ao meu padrinho (dindo), Edivar Alves, por seu olhar acolhedor e orgulhoso da minha trajetória.

AGRADECIMENTOS

Ao meu amado Deus, a quem eu devo minha existência, minha inspiração, meu refúgio, sem a sua força e sua misericórdia não chegaria a lugar algum, minha imensa gratidão.

Aos meus familiares, avó (Rita Maria Ferreira-in memória), tias, tio, irmãos, primos, sobrinhos, e todos os agregados, que são meu alicerce, para onde sempre poderei recorrer e receber afago e carinho.

Às minhas orientadoras, Professoras Sávia Gavazza, Ana Christina Brasileiro e Raquel Bezerra, pelo incentivo, pela confiança, e compreensão em todos os momentos da pesquisa.

Aos professores, Mário Kato e Lourdinha Florêncio, sou grata e orgulhosa de tê-los como orientadores na minha trajetória na UFPE. Muito obrigada por tudo.

À FACEPE pela bolsa de doutorado concedida.

Ao FINEP e CNPQ pelo suporte financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Saneamento Ambiental – LSA por todo suporte para desenvolvimento da pesquisa, muito orgulho em fazer parte da história do LSA.

À minha segunda família, os Guedes, em especial a minha madrinha Maria Neide Guedes, por ter me ensinado a ter um novo olhar pra vida, como também a Marluce e Wilson por me acolherem em Recife, sendo fundamental para minha trajetória aqui.

À amiga Larissa Ribeiro Martins, amizade valiosa desde 2007, agradeço por toda ajuda na fase final desse trabalho.

À amiga Ariane Cardoso, amizade que vem comigo desde a graduação, muito obrigada por todas as palavras de conforto e encorajamento.

À amiga Natanna Melo, amiga muito especial que a pós graduação me trouxe, obrigada pela escuta atenta, pelas orações e contribuições científicas.

Ao meu IC Albean Santiago, uma benção de Deus, agradeço por todo apoio na fase experimental durante este trabalho.

À Osmar Meneses, amigo que o LSA me trouxe, obrigada por toda ajuda e disponibilidade e contribuições científicas na reta final desse trabalho.

À Ronaldo e Danúbia, pela compreensão e toda ajuda no dia a dia e por todo suporte técnico no laboratório.

Aos meus amigos do Cabo de Santo Agostinho (Rose, Elineide, Ivonete, Karla, Erigleison, Djanira, Cláudio), que sempre foram força e incentivo desde o início dessa jornada.

Aos meus queridos e preciosos amigos que fiz no LSA Nathaly Cordeiro, Oucilane, Poliana Januario, Rhayssa Brito (amiga irmã, obrigada por tudo) Bárbara Moraes, Antonio Gustavo, Carlos Pereira, Juliana Melo, Geisa Maria (minha casca de bala, obrigada por tudo), Henrique César (amigo querido que sempre esteve disposto a ajudar com o necessário, meu muito obrigada), Luiz Pereira (amigo muito querido, obrigada por toda disponibilidade e apoio, sou grata). Sou grata a Deus por cada um de vocês fazerem parte da minha vida.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma fizeram parte da minha caminhada, muito obrigada!

epígrafe

*Um amigo fiel é uma poderosa proteção: quem o achou, descobriu um tesouro.
Nada é comparável a um amigo fiel, o ouro e a prata não merecem ser postos em
paralelo com a sinceridade de sua fé” (Eclesiástico 6:14-17).*

RESUMO

O tratamento biológico de efluentes têxteis tem despontado no cenário mundial em razão das suas vantagens em relação aos métodos químicos convencionais, como custo-benefício, sustentabilidade e baixa geração de lodo. O uso de microalgas para remoção de corantes é recente e tem como atrativo o potencial que as microalgas tem de utilizar os referidos efluentes como fonte de energia e nutrientes para seu crescimento e reprodução, por exemplo, transformando o nitrogênio inorgânico em orgânico, incorporando em seus processos metabólicos. Além disso, podem remover os contaminantes dos efluentes por biodegradação e/ou adsorção. No entanto, há algumas lacunas no processo de remoção de contaminante têxteis via microalgas, como o entendimento do papel da fotodegradação e da adsorção no processo. A remoção do corante tetra-azo *Direct Black 22* (DB22) utilizando as microalgas *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis*, *Dunaliella tertiolecta* e *Tetrademus obliquus* foi avaliada no presente estudo, para elucidar a contribuição dos processos de biodegradação, fotodegradação e adsorção na remoção do composto. Com o objetivo de medir a contribuição dos diferentes processos, as condições experimentais envolveram: o cultivo da microalga ativa na ausência do corante (crescimento), controle sem a microalga conduzidos na presença do corante com luz (fotodegradação), cultivo da microalga ativa na presença do corante (biodegradação), microalga inativa na presença do corante com luz (fotodegradação + adsorção na biomassa), controle sem microalgas conduzidos sem luz (adsorção no vidro) e controle com microalga inativa na presença do corante sem luz (adsorção na biomassa). Todos os testes foram realizados em triplicata. O crescimento e as características morfológicas das quatro microalgas não sofreram interferência da presença do corante no meio reacional. A eficiência de remoção do corante para *C. vulgaris* foi de $62,6 \pm 1,46\%$, sendo, $47,7\%$ atribuídos à fotodegradação, $13,2 \pm 6,5\%$ associados à contribuição da microalga, por via enzimática e $1,7 \pm 1,3\%$ relacionados ao processo de adsorção. Para *T. obliquus* a maior eficiência foi de $67,2 \pm 2,1\%$, indicando que a combinação de biomassa, meio e a luz foi determinante para a remoção do corante, como também a ação ativa da biomassa, além de processos abióticos. A microalga *A. platensis* representou uma remoção de $66,2 \pm 4,3\%$ do corante em meio a biomassa ativa e destaca o papel da adsorção com $76,0 \pm 1,8\%$, além dos processos de fotodegradação. A *D. tertiolecta* representou remoção de $56,0 \pm 1,0\%$, entretanto a parte da remoção que foi atribuída à combinação dos processos de fotodegradação (remoção devido a reação química da luz) e adsorção, que foi de $80,2 \pm 0,3\%$. A biodegradação foi confirmada por verificação da ação enzimática e por testes de espectroscopia no infravermelho (FTIR), que confirmaram a presença de enzimas nas células das microalgas nos experimentos com a *C. vulgaris* e *T. obliquus*. Todas as espécies se desenvolveram na presença do corante, o que foi visto como positivo, pois grande parte desses compostos não são facilmente biodegradáveis, o que aponta para as microalgas como uma alternativa viável na redução dos impactos ambientais negativos causados por essas substâncias no meio ambiente.

Palavras-chave: microalgas; *C. vulgaris*; *D. tertiolecta*; *A. platensis*; *T. obliquus*; tratamento biológico; efluente têxtil; corante azo; algas; biotecnologia.

ABSTRACT

The biological treatment of textile effluents has emerged on the world stage due to its advantages over conventional chemical methods, such as cost-effectiveness, sustainability and low sludge generation. The use of microalgae to remove dyes is recent and has as its attraction the potential that microalgae have to use these effluents as a source of energy and nutrients for their growth and reproduction, for example, transforming inorganic nitrogen into organic, incorporating it into their metabolic processes. In addition, they can remove contaminants from effluents by biodegradation and/or adsorption. However, there are knowledge gaps from the process of removing textile contaminants via microalgae, such as understanding the role of photodegradation and adsorption. The removal of the tetra-azo dye Direct Black 22 (DB22) using the microalgae *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis*, *Dunaliella tertiolecta* and *Tetradismus obliquus* was evaluated in the present study to elucidate the contribution of the processes of biodegradation, photodegradation and adsorption in the removal of the compound. In order to measure the contribution of the different processes involved in the dye removal, the experimental conditions involved: cultivation of the active microalgae in the absence of the dye (growth), control without the microalgae conducted in the presence of the dye with light (photodegradation), cultivation of the active microalgae in the presence of the dye (biodegradation), inactive microalgae in the presence of the dye with light (photodegradation + adsorption on biomass), control without microalgae conducted without light (adsorption on glass) and control with inactive microalgae in the presence of the dye without light (adsorption on biomass). All tests were carried out in triplicate. The growth and morphological characteristics of the four microalgae were not affected by the presence of the dye in the growth medium. The dye removal efficiency for *C. vulgaris* was $62.6 \pm 1.46\%$, of which 47.7% was attributed to photodegradation, $13.2 \pm 6.5\%$ to the enzymatic contribution of the microalgae and $1.7 \pm 1.3\%$ to the adsorption process. For *T. obliquus*, the highest efficiency was $67.2 \pm 2.1\%$, indicating that the combination of biomass, medium and light was decisive for the removal of the dye, as well as the active action of the biomass and abiotic processes. The microalgae *A. platensis* represented a removal of $66.2 \pm 4.3\%$ of the dye in active biomass and highlights the role of adsorption with $76.0 \pm 1.8\%$, in addition to photodegradation processes. *D. tertiolecta* accounted for $56.0 \pm 1.0\%$ of the removal, although the part of the removal that was attributed to the combination of the photodegradation and adsorption processes was $80.2 \pm 0.3\%$. Biodegradation was confirmed by checking for enzymatic action and by infrared spectroscopy (FTIR) tests, which confirmed the presence of enzymes in the microalgae cells in the experiments with *C. vulgaris* and *T. obliquus*. All species grew in the presence of the dye, which was seen as positive, as most of these compounds are not easily biodegradable, highlighting the microalgae as a viable alternative for reducing the negative environmental impacts caused by these substances in the environment.

Keywords: microalgae; *C. vulgaris*; *D. tertiolecta*; *A. platensis*; *T. obliquus*; biological treatment; textile effluent; azo dye; algae; biotechnology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|--------------------------------------|
| Figura 1 - Preparação das lâminas do ensaio teste <i>Allium cepa</i> | 36 |
| Figura 2 - Montagem dos cultivos para espécies <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Tetrademus obliquus</i> e <i>Dunaliella tertiolecta</i> | 38 |
| Figura 3 - Montagem do cultivo para espécie <i>Arthospira Platensis</i> | 39 |
| Figura 4 - Fluxograma experimental para a montagem dos cultivos | 41 |
| Figura 5 - Concentrações da biomassa para C1 (<i>C. vulgaris</i> , meio Bold's basal) e para C3 (<i>C. vulgaris</i> , meio Bold's basal e corante DB22), obtidos em 685 nm, durante o período de experimento..... | 46 |
| Figura 6 - Imagens de microscopia óptica apresentando as características morfológicas da <i>Chlorella vulgaris</i> nos dias 1, 12 e 17 em C1 (<i>C. vulgaris</i> e Meio Bold's basal) e em C3 (<i>C. vulgaris</i> , meio Bold's basal e corante DB22)..... | 47 |
| Figura 7 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1, 7, 14 e 17. (C1 (<i>C. vulgaris</i> e meio Bold's basal) e C3 (<i>C. vulgaris</i> , meio Bold's basal e corante DB22)) | Erro! Indicador não definido. |
| Figura 8 - Espectro de varredura na região UV-Vis obtido para o teste enzimático. C1 (<i>C. vulgaris</i> e meio Bold's basal), C3 (<i>C. vulgaris</i> , meio Bold's basal e corante DB22), em 475 nm | Erro! Indicador não definido. |
| Figura 9 - FTIR da biomassa após 17 dias de experimento. C1 (<i>C. vulgaris</i> e meio Bold's basal) e C3 (<i>C. vulgaris</i> , meio Bold's basal e corante DB22)..... | 51 |
| Figura 10 - Absorbância em 475 nm em C2 (Meio Bold's basal e corante DB22); C3 (<i>C. vulgaris</i> , meio Bold's basal e corante DB22) e C4 (<i>C. vulgaris</i> (Inativa), meio Bold's basal e corante DB22) durante o período de experimento | Erro! Indicador não definido. |
| Figura 11 - Rotas de degradação do DB22 na presença da microalga <i>C. vulgaris</i> | 55 |
| Figura 12 - Absorbância em 475 nm em C2 (Corante DB22 e meio Bold's basal); C4 (<i>C. vulgaris</i> (Inativa), meio Bold's basal e corante DB22); C5 (Corante DB22, meio Bold's basal (sem iluminação)) e C6 (<i>C. vulgaris</i> (Inativa), meio Bold's basal (sem iluminação)) durant | Erro! Indicador não definido. |
| Figura 13 - Concentrações da biomassa em T1 (<i>T. obliquus</i> , meio BG-11) e para T2 (<i>T. obliquus</i> , meio BG-11 e corante DB22), obtidos em 650 nm, durante o período de experimento | 58 |

| | |
|--|----|
| Figura 14 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1 e 23. T1 (<i>T. obliquus</i> , meio BG-11) e T2 (<i>T. obliquus</i> , meio BG-11 e corante DB22) | 59 |
| Figura 15 - FTIR da biomassa após 23 dias de experimento. T1 (<i>T. obliquus</i> , meio BG-11) e T2 (<i>T. obliquus</i> , meio BG-11 e corante DB22)..... | 60 |
| Figura 16 - Figura 16 - Absorbância em 475 nm em T2 (<i>T. obliquus</i> , meio BG-11 e corante DB22), T3 (meio BG-11 e corante DB22) e T4 (meio BG-11 e corante DB22 – sem luz) durante o período de experimento | 61 |
| Figura 17 - Concentrações da biomassa para A1 (<i>A. platensis</i> , meio Schlösser) e para A2 (<i>A. platensis</i> , meio Schlösser e corante DB22), obtidos em 560 nm, durante o período de experimento | 63 |
| Figura 18 - Imagens de microscopia óptica apresentando as características morfológicas da <i>Arthrospira platensis</i> nos dias 1 e 17 em A1 (<i>A. platensis</i> , meio Schlösser) e em A2 (<i>A. platensis</i> , meio Schlösser e corante DB22) | 64 |
| Figura 19 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1 e 17. A1 (<i>A. platensis</i> , meio Schlösser), (<i>A. platensis</i> , meio Schlösser e corante DB22) e A3 (<i>A. platensis</i> (inativa), meio Schlösser e corante DB22)..... | 65 |
| Figura 20 - Absorbância em 475 nm em A2 (<i>A. platensis</i> , meio Schlösser e corante DB22); A3 (<i>A. platensis</i> (inativa), meio Schlösser e corante DB22); A4 (meio Schlösser e corante DB22) e A5 (meio Schlösser e corante DB22 – sem luz) durante o período de experimento | 66 |
| Figura 21 - Concentrações da biomassa para D1 (<i>D. tertiolecta</i> , meio Bold's basal) e para D2 (<i>D. tertiolecta</i> , meio Bold's basal e corante DB22), obtidos em 680 nm, durante o período de experimento | 68 |
| Figura 22 - Imagens de microscopia óptica apresentando as características morfológicas da <i>D. tertiolecta</i> nos dias 1 e 21 em D1 (<i>D. tertiolecta</i> e Meio Bold's basal) e em D2 (<i>D. tertiolecta</i> , meio Bold's basal e corante DB22) | 69 |
| Figura 23 - Absorbância em 475 nm em D2 (<i>D. tertiolecta</i> , meio Bold's basal e corante DB22); D3 (<i>D. tertiolecta</i> (Inativa), meio Bold's basal e corante DB22); D4 (meio Bold's basal e corante DB22) e D5 (meio Bold's basal e corante DB22 – sem luz) durante o período..... | 70 |
| Figura 24 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1 e 21. D1 (<i>D. tertiolecta</i> e meio Bold's basal); D2 (<i>D. tertiolecta</i> , meio Bold's basal e corante DB22) e D3 (<i>D. tertiolecta</i> (inativa), meio Bold's basal e corante DB22)..... | 71 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Tabela comparativa do uso de diferentes espécies de microalgas utilizadas no tratamento têxtil..... | 27 |
| Tabela 2 - Composição dos meios de cultivo | 32 |
| Tabela 3 - Condições experimentais usadas durante o experimento 01 | 42 |
| Tabela 4 - Condições experimentais usadas durante o experimento 02 | 43 |
| Tabela 5 - Condições experimentais usadas durante o experimento | 44 |
| Tabela 6 - Condições experimentais usadas durante o experimento | 45 |
| Tabela 7 - Ensaio com sistema-teste Allium cepa após 72 h de exposição das sementes a amostras de tratamentos de biodegradação do corante DB22, utilizando <i>Chlorella vulgaris</i> , avaliando dados de índice de germinação (IG), comprimento médio das raízes (CMR), índice mitótico (IM) e índice de alteração cromossômica (IAC)..... | 56 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 18 |
| 2.1 INDÚSTRIA TÊXTIL..... | 18 |
| 2.2 POLUENTES GERADOS PELA INDÚSTRIA TÊXTIL | 19 |
| 2.3 PROCESSOS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO..... | 21 |
| 2.4 MICROALGAS..... | 22 |
| <i>2.4.1 CARACTERÍSTICA TAXONÔMICAS, FISILOGIA E APLICAÇÕES</i> | 23 |
| <i>2.4.2 MICROALGAS E A REMOÇÃO DE CORANTES AZO</i> | 25 |
| <i>2.4.3 MICROALGAS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS</i> | 26 |
| <i>2.4.4 APROVEITAMENTO DOS RECURSOS GERADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTE VIA MICROALGAS</i> | 29 |
| 3 OBJETIVOS | 31 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 31 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 31 |
| 4 METODOLOGIA | 32 |
| 4.1 MICROALGAS E MEIOS DE CULTURA..... | 32 |
| 4.2 INATIVAÇÃO DA BIOMASSA..... | 34 |
| 4.3 CORANTE DIRECT BLACK 22 | 34 |
| 4.4 TESTE ENZIMÁTICO | 34 |
| 4.5 ANÁLISE DE FTIR..... | 35 |
| 4.6 SISTEMA-TESTE <i>Allium cepa</i> | 35 |
| 4.7 CULTIVO | 38 |
| 4.8 COLETA | 39 |
| 4.10 ETAPA EXPERIMENTAL..... | 40 |
| <i>4.10.1 EXPERIMENTO 01 – CHLORELLA VULGARIS</i> | 42 |
| <i>4.10.2 EXPERIMENTO 02 – TETRADESMUS OBLIQUUS</i> | 43 |
| <i>4.10.3 EXPERIMENTO 03 – ARTHROSPIRA PLATENSIS</i> | 43 |
| <i>4.10.4 EXPERIMENTO 04 – DUNALIELLA TERTIOLECTA</i> | 44 |
| 4.9 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA | 45 |

| | |
|--|-----------|
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 46 |
| 5.1 EXPERIMENTO 01 - <i>Chlorella vulgaris</i> | 46 |
| 5.1.1 EFEITO DO CORANTE TETRA AZO DB22 NO CRESCIMENTO DA MICROALGA <i>C. VULGARIS</i> | 46 |
| 5.1.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA | 49 |
| 5.1.3 REMOÇÃO DO CORANTE TETRA AZO DB22 (<i>CHLORELLA VULGARIS</i>) | 51 |
| 5.1.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE | 56 |
| 5.2 EXPERIMENTO 02 – <i>Tetradismus obliquus</i> | 57 |
| 5.2.1 EFEITO DO CORANTE TETRA AZO DB22 NO CRESCIMENTO DA MICROALGA <i>TETRADESMUS OBLIQUUS</i> | 57 |
| 5.2.2 AVALIAÇÃO DA ANÁLISE DE FTIR | 60 |
| 5.2.3 REMOÇÃO DO CORANTE TETRA AZO DB22 (<i>TETRADESMUS OBLIQUUS</i>) | 61 |
| 5.3 EXPERIMENTO 03 – <i>Arthrospira platensis</i> | 62 |
| 5.3.1 EFEITO DO CORANTE TETRA AZO DB22 NO CRESCIMENTO DA MICROALGA <i>ARTHROSPIRA PLATENSES</i> | 62 |
| 5.3.2 REMOÇÃO DO CORANTE TETRA AZO DB22 (<i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i>) | 65 |
| 5.4 EXPERIMENTO 04 – <i>Dunaliella tertiolecta</i> | 67 |
| 5.4.1 EFEITO DO CORANTE TETRA AZO DB22 NO CRESCIMENTO DA MICROALGA <i>DUNALIELLA TERTIOLECTA</i> | 67 |
| 5.4.2 REMOÇÃO DO CORANTE TETRA AZO DB22 (<i>DUNALIELLA TERTIOLECTA</i>) | 69 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 73 |
| REFERÊNCIAS | 75 |

1 INTRODUÇÃO

A indústria têxtil emprega milhões de pessoas no mundo e impulsiona a economia de muitos países, sobretudo asiáticos, como a China. Em nível global, a indústria têxtil movimentou US\$ 925,3 bilhões em 2018 e deve registrar uma taxa de crescimento de 4,24% até 2025. No Brasil, em 2024, o setor têxtil e de confecções faturou R\$ 215 bilhões, registrando um crescimento de 4,8% na produção em relação ao mesmo período de 2023. Existem cerca de 25,3 mil de indústrias têxteis no Brasil (ABIT, 2025).

O arranjo produtivo local de confecções do Agreste de Pernambuco (APLCAPE) abrange principalmente três cidades da região: Caruaru, Santa Cruz do Capibaribe e Toritama (SECTI, 2020). O APLCAPE é responsável por 15% da produção de jeans do Brasil e por 3% do Produto Interno Bruto (PIB) do estado de Pernambuco, gerando diversos empregos diretos e indiretos. A ABIT projeta um crescimento de 1,2% em toda cadeia, com base no Confederação Nacional da Indústria (CNI) que deve refletir no poder de compra dos consumidores (ABIT, 2025).

Os efluentes têxteis são apresentam altas concentrações de compostos orgânicos, salinidade, sulfato e cor (Amaral *et al.*, 2014). A maioria dos corantes usados na indústria são classificados como azo, caracterizados pela dupla ligação entre átomos de nitrogênio ($-N=N-$) em sua estrutura molecular.

A indústria têxtil é um setor em crescimento expressivo e o estudo dos tratamentos de efluentes têxteis são relevantes e cada vez mais necessários. Todavia, ainda há diversas lacunas a serem exploradas e o lançamento de resíduos sem tratamento nos corpos hídricos é muito prejudicial ao ecossistema aquático e ao ser humano.

A presença de corantes azo e seus subprodutos em ecossistemas aquáticos ocasiona problemas estéticos e de saúde, devido à coloração de águas, à inibição da penetração da luz e da transferência de oxigênio (Asad *et al.*, 2007). Além do fato de que alguns corantes azo, em sua rota de biotransformação, podem ser tóxicos, cancerígenos e teratogênicos para os organismos presentes no ambiente natural, incluindo os seres humanos (Rauf *et al.*, 2009; Wijetununga; Li; Jian, 2010).

Em geral, as indústrias têxteis do APLCAPE aplicam tratamento físico-químico aos efluentes gerados em seu processo produtivo, composto por: coagulação, floculação e decantação. A remoção de corantes através dos processos de coagulação, floculação e sedimentação é um método eficiente, utilizando como agente coagulante sais, em sua maioria

de alumínio. Esse tipo de tratamento promove a transferência de massa do poluente da fase líquida para a fase sólida. Como desvantagens, há custo dos reagentes químicos necessários, restringindo a sua aplicação, além de produzir grandes quantidades de lodo (Huang *et al.*, 2014).

Uma alternativa para o tratamento físico-químico é o tratamento biológico, que tem recebido bastante atenção em razão das suas vantagens em relação aos métodos convencionais. Este tipo de tratamento apresenta um bom custo-benefício, sendo amigável ao meio ambiente, além de apresentar simples operação, possui baixa geração de lodo e não configurar uma transferência de poluentes (Silva Júnior *et al.*, 2022).

Através do processo biológico é possível transformar compostos de difícil biodegradabilidade em substâncias simples (Ahmad *et al.*, 2015).

Os tratamentos utilizando microalgas são eficientes na remoção destes poluentes, evitando que boa parte seja lançada nos corpos d'água, além de gerar subprodutos que agregam valor a biomassa e que também podem ser aproveitados, por exemplo, na produção de biodiesel através dos lipídios que as algas são capazes de acumular. Além do emprego de sistemas bacterianos, o uso de microalgas desponta como proposta de tratamento para os efluentes têxteis (Lekshmi *et al.*, 2015; Oyebamiji *et al.*, 2019).

A composição do efluente apresenta características que podem favorecer o crescimento algal (pH, temperatura, nutrientes disponíveis, oxigênio dissolvido.). Variações na demanda desses nutrientes são um fator preponderante, pois cada espécie de microalga apresenta características específicas de crescimento (Lim *et al.*, 2010; Sinha *et al.*, 2016).

As microalgas são capazes de remover nutrientes de efluentes têxteis podendo utilizar os efluentes como fonte de energia e nutrientes para seu crescimento e reprodução, transformando, por exemplo, o nitrogênio inorgânico em orgânico, incorporando em seus processos metabólicos (Cai; Park; Li, 2013; Yaseen *et al.*, 2016). Além disso, os contaminantes podem ser removidos por biodegradação e/ou adsorção (Lebron *et al.*, 2018).

Adicionalmente, uma das vantagens do uso das microalgas para biorremediação é a produção de biomassa algal, com alto teor de lipídeos e proteínas, que apresenta potencial de uso para a produção de biodiesel e ração animal (Huang *et al.*, 2010).

A utilização das microalgas para promover a bioconversão do corante azo em compostos mais simples é bastante recente. O processo de redução é intermediado pela ação das azoredutases, presente nas células das microalgas (Sinha *et al.*, 2016). Apesar desse entendimento, pouco se conhece sobre esse processo, incluindo seus mecanismos, a

contribuição da fotodegradação ou fototransformação, a relevância da adsorção, dentre outros processos.

Dessa forma, este trabalho tem por finalidade contribuir para o conhecimento do processo de remoção de corantes têxteis do tipo azo por microalgas, avaliando o potencial das microalgas *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis*, *Dunaliella tertiolecta* e *Tetradesmus obliquus*, na degradação do corante tetra azo *Direct Black 22* (DB22).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INDÚSTRIA TÊXTIL

A indústria têxtil brasileira desempenha um papel significativo na economia nacional, destacando-se como um dos maiores empregadores do setor industrial. Em 2023, o Brasil ocupava a quinta posição mundial na produção têxtil, com um faturamento de R\$ 203,9 bilhões e mais de 25 mil empresas formais em operação. Além disso, o país se destaca como o maior produtor de denim e malhas do Ocidente, sendo o único a possuir uma cadeia têxtil completa no hemisfério ocidental (Mendes Junior, 2024).

As indústrias têxteis produzem 200 bilhões de litros de efluentes coloridos anualmente. A elevada quantidade de efluentes industriais contendo corantes (acima de 50%) são direcionados a estações de tratamento de resíduos convencionais, onde são submetidos a tratamentos primários, secundários e terciários baseados em processos físicos, químicos e biológicos, ou descartados diretamente no ecossistema aquático (Kant, 2012; Zaharia; Suteu, 2012).

De acordo com Tkackyk *et al.*, (2020), os corantes têm sido encontrados em diversos tipos de amostras ambientais, tais como água, material particulado suspenso, sedimento e peixes, sendo assim considerados micro poluentes dos ecossistemas aquáticos. A persistência ambiental permite que esses poluentes alcancem todos os níveis tróficos de uma cadeia alimentar, proporcionando a biomagnificação (Sandhya, 2010), de forma que os organismos em altos níveis tróficos mostram altos níveis de contaminação comparados às suas presas (Newman, 2015).

Nas estações de tratamento de resíduos convencionais, os métodos de tratamentos físicos e químicos são incapazes de degradar, de forma efetiva, os compostos químicos indesejáveis, especialmente os corantes orgânicos sintéticos (Sudha *et al.*, 2014; Tkaczyk *et al.*, 2020). Muitos dos produtos químicos utilizados nos tratamentos, produtos de degradação, metabolitos e contaminantes refratários com baixo teor mas elevada toxicidade permanecem após o tratamento, o que provoca efeitos adversos graves nas massas de água naturais (Asghar *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2018).

Neste sentido, a descoloração e degradação de corantes usando tratamento microbiológico incluindo bactérias, microalgas, fungos, leveduras (Jadhav *et al.*, 2016; Zabłocka-Godlewska *et al.*, 2018), por metabolismo anaeróbico e/ou aeróbico, têm recebido

atenção especial devido a sua simples operação, natureza pouco dispendiosa e sustentável. Além disso, diversos microrganismos degradam os compostos-alvo, eliminando o problema da transferência de poluentes (Menezes *et al.*, 2019).

Entre os tratamentos de efluentes têxteis, a utilização de microalgas, conhecida como fitorremediação, tem sido proposta como uma alternativa para mitigar os poluentes tóxicos e recalcitrantes nos efluentes. As microalgas, especialmente as verdes, têm a capacidade de remover diferentes tipos de contaminantes através de diferentes métodos, tais como biossorção, bioacumulação e bioconversão (Lekshmi *et al.*, 2015), devido à presença de diferentes grupos funcionais na sua parede celular, tais como grupos amino, carboxilo, hidroxilo e fosfato, que são responsáveis pelo processo de remoção de corantes (Ayele *et al.*, 2021).

2.2 POLUENTES GERADOS PELA INDÚSTRIA TÊXTIL

A produção da indústria têxtil, além de utilizar grandes volumes de água, gera efluentes que muitas vezes são lançados nos corpos hídricos sem o devido tratamento. Entre os produtos liberados no ambiente através do efluente têxtil, destacam-se variados compostos químicos potencialmente tóxicos, como os corantes e os surfactantes, que causam danos ambientais tanto no meio hídrico quanto aos organismos (Bathia, 2017; Kant, 2012).

Nas últimas décadas, houve um aumento da preocupação com a poluição dos recursos hídricos por efluentes têxteis, que contribuem para deterioração de ambientes aquáticos. Assim, sistemas de tratamentos que visam à descoloração e redução da toxicidade destes efluentes têm sido objetos de discussão em muitos países (Prigione *et al.*, 2008).

Efluentes de indústrias têxteis, em especial os originários dos processos de tinturaria, estamparia e etapas de acabamento, são extremamente difíceis de tratar devido ao elevado teor de poluentes, tais como: corantes, surfactantes, metais pesados, detergentes, solventes e compostos recalcitrantes, muitas vezes tóxicos (Amin *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2009; Korbathi; Tanyolaç, 2008; Lau; Ismail, 2009).

Os compostos aromáticos são complexos, têm diversidade estrutural significativa e propriedades que proporcionam um elevado grau de estabilidade química, biológica e fotocatalítica (Saratale *et al.*, 2011). Os corantes azo, em geral, são confeccionados para resistir ao ataque aeróbio, à degradação por luz solar, à água e ao sabão; o que significa dizer que podem ser resistentes à completa degradação no meio ambiente (Savin; Butnaru, 2008).

Os corantes azo são caracterizados pela presença de uma ou mais ligações duplas entre átomos de nitrogênio (N=N). Dependendo do número de ligações azo na molécula, classificam-se em: monoazo, diazo, triazo e poliazo (Chacko; Subramaniam, 2011; Chengalroyen; Dabbs, 2013; Saratale *et al.*, 2011). Além disso, anéis aromáticos e grupos sulfônicos também formam as moléculas destes corantes (Vijayakumar; Karegoudar, 2016).

A presença de corantes azo e seus subprodutos em ecossistemas aquáticos leva a problemas estéticos e de saúde, devido à coloração de águas, à obstrução da penetração da luz e à inibição de transferência de oxigênio (Asad *et al.*, 2007; Fang; Wenrong; Yuezhong, 2004).

Embora mais empregados nas indústrias, por serem métodos convencionais de tratamento, os métodos físico-químicos apresentam diversas limitações como o custo geral do tratamento e a alta quantidade de poluentes secundários e de lodo residual gerado. Como também, a interferência no tratamento por outras substâncias que compõem o efluente, além de se configurar uma transferência de poluentes do estado líquido para o sólido (Amaral *et al.*, 2014; Naresh kumar *et al.*, 2015).

Os processos de tratamento biológico têm recebido bastante atenção em razão das suas vantagens em relação aos métodos convencionais: eles apresentam bom custo benefício, são amigáveis ao meio ambiente, são de simples operação e possuem baixa geração de lodo (Menezes *et al.*, 2019), além de não configurar uma transferência de poluentes, uma vez que os microrganismos degradam os compostos alvo.

Através do processo biológico é possível transformar compostos perigosos em substâncias simples (Ahmad *et al.*, 2015), sendo necessário um bom conhecimento do processo, e não só do funcionamento do reator e de sua combinação correta com o tipo de efluente a se tratar, como também do processo biológico e seus pontos ótimos de trabalho (pH, temperatura, concentração dos compostos) para que se assegure o correto tratamento do efluente (Vikrant *et al.*, 2018).

A biodegradação de efluentes têxteis pode ser realizada utilizando tanto bactérias, quanto fungos, plantas e algas, podendo ser com organismos isolados ou uma combinação destes (Ahmad *et al.*, 2015). Um dos desafios do tratamento biológico dos efluentes têxteis é a produção de lodo, o que torna o tratamento com microalgas uma vertente promissora, pois a biomassa gerada tem se tornado fonte de produtos com valor para indústria, por exemplo, a produção de biocombustíveis (Behl *et al.*, 2019_a).

2.3 PROCESSOS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO

Os processos biológicos de tratamento de efluentes têm como vantagem, sobre os de base físico-química, serem “eco amigáveis”, por se tratar de processos de degradação da matéria orgânica e não somente da transferência de massa da fase líquida para sólida.

A mineralização do corante ocorre em ambientes oxidativos, sendo, portanto, os processos biológicos anaeróbio e aeróbio ou microaerofílicos nessa ordem, complementares para a completa degradação dos corantes (Ferreira *et al.*, 2024; Aguiar *et al.*, 2023; Araujo *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2022; Florêncio *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2021; Da Costa *et al.*, 2021; Menezes *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2019; Ferraz *et al.*, 2011; Gavazza *et al.*, 2015; Naresh Kumar *et al.*, 2015).

A remoção de corantes azo no tratamento de águas residuárias têxteis pode ser feita por processo biológico em que ocorre uma combinação do tratamento anaeróbio seguido de um aeróbio (Amaral *et al.*, 2014; Amaral *et al.*, 2017; Amorim *et al.*, 2013; Carvalho *et al.*, 2020; Ferraz *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2004). Nesse tipo de sistema, o corante é primeiro transformado, na fase anaeróbia, formando assim as aminas aromáticas, que são compostos intermediários de elevada toxicidade.

Dentre as tecnologias de tratamento que podem ser aplicadas aos efluentes têxteis, encontram-se os tratamentos de natureza físico-química tais como a coagulação, floculação e sedimentação (Huang *et al.*, 2014); sendo estes os mais utilizados no APLCAPE (Amaral *et al.*, 2014). Esses processos são bastante utilizados em escala real, porém também são muito utilizados os métodos de oxidação química e adsorção (Vikrant *et al.*, 2018).

A combinação dos processos anaeróbios seguido de aeróbio para tratamento deste tipo de efluente tem produzido bons resultados em estudos conduzidos com efluentes sintético e real na região do APLCAPE (Amaral *et al.*, 2014; Amaral *et al.*, 2017; Ferraz *et al.*, 2011; Menezes *et al.*, 2019). Com uma configuração de reator do tipo UASB seguido de biofiltro aerado submerso (BAS), para tratar efluente têxtil real, Amaral *et al.* (2014) conseguiram remoção máxima de cor de 96% e remoção máxima de DQO de 71%. Já para Menezes *et al.* (2019) que avaliaram estratégias de microaeração em RBSs anaeróbios, utilizados para degradar efluente têxtil sintético contendo 32,5 mg/L do corante tetra azo Direct Black 22, conseguiram 77% e 81% de remoção de cor e DQO, respectivamente.

A transformação do corante se dá pela quebra da ligação azo, em fase anaeróbia, sendo o corante o aceptor de elétrons para a degradação de uma fonte externa de carbono e energia

(doador de elétrons) (Santos, 2007). Também foram conduzidos estudos com algas e fungos, separadamente e/ou em consórcio com bactérias para remoção do corante azo (Baêta *et al.*, 2015; Mata; Pinheiro; Lourenço, 2015; Yurtsever; Calimlioglu; Sahinkaya, 2017; Vikrant *et al.*, 2018)

Estudos vem reportando a capacidade desses processos de tratamento como os de Baêta *et al.* (2015) que conseguiram atingir remoção de cor e DQO acima de 90% e 85%, respectivamente, utilizando reator anaeróbio seguido de aeróbio com adição de carbono ativado em pó (PAC) e a remoção completa do subproduto ácido sulfanílico, produzido durante a degradação anaeróbia do azo Remazol Golden Yellow RNL, pelo reator aerado. Yurtsever *et al.* (2017), utilizando processo anaeróbio seguido de aeróbio no tratamento de efluente contendo o corante azo Remazol Brilliant Violet 5R, conseguiram uma remoção completa de cor e 86% de remoção de DQO.

Na última década, as microalgas têm sido utilizadas para tratamento de efluentes da indústria têxtil, dada a sua versatilidade, presença de enzimas específicas, capacidade de adsorção e facilidade de cultivo (Lebron *et al.*, 2019) aliando o potencial de geração de produtos de valor agregado.

2.4 MICROALGAS

Microalgas são organismos unicelulares, fotossintetizantes que vivem em grupos ou colônias e podem ser encontradas em corpos d'água em toda extensão do globo terrestre (Menezes *et al.*, 2015). Os estudos sobre todos os grupos de microalgas existentes no território brasileiro foram atualizados por Menezes *et al.* (2015) sendo identificados 1.250 espécies, apontando, entre os grupos de microalgas, a classe das Cyanophyceae, Bacillariophyceae, Chlorophyceae e Euglenophyceae.

As microalgas apresentam características que demonstram as especialidades do grupo no seu desenvolvimento: em dias mais quentes passam por intensa divisão celular e conseqüentemente, boa fixação de nitrogênio o que favorece seu crescimento. Ademais, a presença de aerótopos possibilita a flutuação no meio aquoso, aproveitando melhor a luz e os nutrientes (Gentil; Tucci; Sant'anna, 2008). De gêneros bastante cosmopolitas, as microalgas são encontradas sobretudo em ambientes eutrofizados, e são também caracterizadas por serem um dos principais produtores de biomassa (Pham *et al.*, 2014; Ramos *et al.*, 2012).

O crescimento algal se dá em ambientes com abundância de nutrientes como o fósforo e nitrogênio e com variações ambientais como, por exemplo, o pH alcalino entre 8,0 e 9,3 (Komárek *et al.*, 2008; Furtado *et al.*, 2009). Por apresentar características que favorecem a atenuação e/ou degradação de poluentes, as microalgas são utilizadas em variados processos de tratamento de efluentes.

2.4.1 *Característica taxonômicas, fisiologia e aplicações*

O gênero *Chlorella* abriga indivíduos conhecidos pelo seu crescimento rápido, metabolismo mixotrófico e alto rendimento lipídico, sendo *Chlorella vulgaris* uma das espécies mais investigadas (Santos *et al.*, 2023). Esses indivíduos correspondem a microalgas verdes pertencentes à divisão Chlorophyta, estruturados como células esféricas de tamanho microscópico, medindo entre 2–10 µm de diâmetro, e que contam com vários elementos semelhantes às plantas em sua estrutura (Safi *et al.*, 2014).

Em relação à utilização da biomassa deste gênero, há abrangência de aspectos que vão desde a produção de biocombustíveis, passando pela nutrição humana, ração animal e até mesmo o uso enquanto organismo modelo para avaliação de ecotoxicidade de poluentes. Este último é possível graças ao seu “curto ciclo de crescimento, facilidade de cultivo e sensibilidade a tóxicos” (Liu *et al.*, 2022; Safi *et al.*, 2014).

Além disso, por também possuírem características como adaptação aos meios de cultura flexíveis e resistência a fatores externos, auxiliam em processos de biorremediação de águas residuais, contribuindo para a redução das cargas poluentes em meio aquoso. Isso pode ser aliado ainda à produção de biomassa microalgal para usos diversos (Assis Neto *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2021).

Arthrospira platensis é um organismo pertencente à classe Cyanophyceae, nos agrupamentos Cyanobacteria e Prochlorales, sendo reconhecido, portanto, como uma cianobactéria. Sua caracterização morfológica inclui a presença de “tricomatos curtos com um diâmetro constante das espirais soltas”, o que traz um diferencial na sua identificação em relação à outra espécie filamentosa pertencente ao gênero *Arthrospira*, conhecida como *Arthrospira maxima*, na qual os tricomas possuem maior diâmetro e há ausência de constrição desses nas paredes transversais (Gentscheva *et al.*, 2023; Thangsiri *et al.*, 2024).

Por apresentar uma vasta e rica composição química, como a presença de seus pigmentos naturais ficocianina e carotenóides, *A. platensis* vem sendo bastante cultivada para

diversos fins comerciais, popularizando-se enquanto “Spirulina” e participando da produção de alimentos e suplementos nutricionais, no setor farmacêutico e na medicina (Gentscheva *et al.*, 2023).

Além disso, também conta com uma capacidade de crescimento em ambientes diversos, fruto de uma plasticidade metabólica entre as formas fotoautotrófica, heterotrófica ou mixotrófica. Isto contribui para a sua ação na absorção de diferentes compostos (nutrientes e matéria orgânica, por exemplo), auxiliando na limpeza do ambiente em que forem empregadas. Dessa forma, é um organismo promissor para o tratamento de águas em processos de biorremediação ou semelhantes. Por fim, a biomassa resultante dessas aplicações também pode ter aplicações industriais, como na produção de biocombustíveis ou biofertilizantes (Araujo *et al.*, 2021; Dolatabadi; Hosseini, 2016; Papadopoulos *et al.*, 2022).

Dunaliella tertiolecta configura-se como uma das espécies que compõem o gênero *Dunaliella*, o qual conta com algas verdes biflageladas halofíticas, de formatos esféricos a fusiformes, com ausência de parede celular e elevada resistência a fatores externos, de forma geral (Barbosa *et al.*, 2023; Baudalet *et al.*, 2017). Além disso, outras características marcantes são a síntese de β -caroteno, que tem usos múltiplos nas áreas farmacêuticas e nutracêuticas, e a presença de vários outros componentes na sua biomassa que possuem valores diversos para a saúde humana, animal e na origem de biocombustíveis (Ramdhony *et al.*, 2024).

No campo das aplicações ambientais, *D. tertiolecta* mostra-se de grande valia para a avaliação da ecotoxicidade de elementos antrópicos, enquanto bioindicador, já que apresenta elevada sensibilidade a efluentes de origem urbana e industrial (Barbosa *et al.*, 2023). Com a adição, ainda, do seu papel na remoção de poluentes nas águas, como os antibióticos, que podem ser biodegradados por esses organismos (Hom-Diaz *et al.*, 2022).

Tetradismus obliquus é uma espécie de microalga verde que conta principalmente com “açúcares neutros” na formação da sua parede celular, um cloroplasto único ocupando cada célula individualmente e estratégias de defesa variadas, como a formação de uma bainha de mucilagem ou de colônias (Oliveira *et al.*, 2021). Adicionalmente, esses organismos também apresentam uma rápida taxa de crescimento, resistência a fatores adversos, alta tolerância a elevadas temperaturas e irradiância; com o adicional de ainda poderem se desenvolver em panoramas heterotróficos e mixotróficos (Oliveira *et al.*, 2021).

Esses aspectos, por sua vez, acabam contribuindo para a aplicação de *T. obliquus* em diferentes panoramas, como é o caso da sua contribuição para o cenário ambiental. Um exemplo é o seu papel na remoção de nutrientes e micropoluentes (nitrogênio, ortofosfato, produtos

farmacêuticos e desreguladores endócrinos, por exemplo) em águas residuais municipais, aliado a formação de uma biomassa com atividade antimicrobiana, de interesse agrícola (Grivalský *et al.*, 2022).

2.4.2 Microalgas e a remoção de corantes azo

As microalgas podem remover o contaminante por dois processos: biodegradação e/ou biossorção. O processo de biossorção das microalgas pode ser explicado pelo poder absorvente que sua parede celular apresenta. Metabolicamente, as microalgas possuem moléculas que fixam carbono e outros nutrientes, como estratégia para favorecer seu crescimento.

No primeiro processo, enzimas como a RuBisCO (Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase) podem atuar quebrando a ligação azo, na biossorção, alguns grupos funcionais presentes na alga podem funcionar como sítios ativos para diversos compostos, tais como corantes.

Estudos como os de Baroukh *et al.* (2016) sugerem que a estratégia de acumulação de carbono pelas moléculas das microalgas, durante o dia, e sua liberação durante a noite é, de fato, favorável para seu desenvolvimento, visto que todo carbono disponível é transformado em biomassa e carboidratos. Em resposta a condições ambientais, as microalgas alteram seu metabolismo para acumular lipídios ou proteínas, estratégia que pode ser aproveitada para produção de biocombustíveis (Baroukh *et al.*, 2016).

O funcionamento do metabolismo algal facilita o entendimento do mecanismo de adsorção das microalgas na remoção de corantes, como também nutrientes, uma vez que os compostos do efluente têxtil são de forma geral de difícil degradabilidade. A bioquímica das algas indica sua eficiência em responder a ambientes com estresse tóxico.

O processo de adsorção do corante azo por microalgas pode resultar em compostos secundários de menor toxicidade (Kurade *et al.*, 2016). Dellamatrice *et al.* (2017) estudaram a degradação do corante Indigo (ANIL) pela microalga *Phormidium* sp. e constataram que o corante foi biotransformado em dois subprodutos, o ácido antranílico e isatina, após 17 dias de tratamento.

A biossorção do corante realizada pelas microalgas está relacionada à composição dos grupos funcionais presentes na estrutura química do corante. Ademais, a adesão a superfície da biomassa algal, ocorre devido à parede celular da alga possuir enzimas azoredutoras, o que favorece a degradação (Lebron *et al.*, 2018).

Uma das formas de observar a capacidade das microalgas de remover corantes é a partir das alterações dos fatores abióticos. Espécies da divisão Chlorophyta são grandemente utilizadas nesses processos de tratamento (Moreira *et al.*, 2019). A *Chlorella pyrenoidosa* foi testada na remoção do corante azul de metileno (MB), por exemplo (Pathak *et al.*, 2015). Hernández-Zamora *et al.* (2015), também utilizaram a *Chlorella vulgaris* para investigar a biodegradação do corante azo Congo Red, e indicaram a presença de enzima azoredutoras como fonte da biodegradação.

Ademais, outras espécies de microalgas estão sendo testadas para biodegradação de corantes do tipo azo. Tais como as espécies estudadas por Lebron *et al.* (2019), que utilizaram *Spirulina maxima* e *Chlorella pyrenoidosa* para testar a remoção de corantes têxteis sintéticos, expondo as microalgas a modificações na presença de ácido fosfórico e cloreto de zinco. Com estas mesmas espécies, foi avaliada a capacidade de bioadsorção das microalgas usando o corante azul de metileno (Lebron *et al.*, 2018).

O favorecimento da adsorção da enzima azo redutase é proporcional às condições operacionais de parâmetros como pH e temperatura que, quando controladas, favorecem a biodegradação de corantes (Srinivasan *et al.*, 2019). Dellamatrice *et al.* (2017), verificaram que o pH alcalino favoreceu o aumento da descoloração do efluente. O controle destes parâmetros pode ser facilmente assimilado pelas microalgas, visto que possuem características que as fazem altamente adaptáveis às variadas condições do ambiente.

2.4.3 Microalgas no tratamento de efluentes têxteis

O uso das microalgas para o tratamento de efluente têxtil vem sendo cada vez mais estudado devido ao potencial de remoção de contaminantes que as algas apresentam (Lekshmi *et al.*, 2015).

Oyebamiji *et al.* (2019), estudaram algumas espécies de Chlorophyceae (algas verdes) em efluente têxtil e comprovaram o poder de remoção dos nutrientes assim como a geração de biomassa, alcançando um percentual de remoção de 70% de cor do efluente. Isso ocorre devido à capacidade de adaptação celular, modificando-se morfológicamente para suportar as condições operacionais, passando de uma célula para duas, além de serem favoráveis à produção de lipídios (Behl *et al.*, 2019a).

Entre as espécies mais utilizadas na remoção de poluentes em águas residuárias têxteis, podem ser citadas: *Arthrospira* sp. (*Spirulina* sp.) (Lebron *et al.*, 2018), *Chlorella* sp. (Lebron

et al., 2018; Lekshmi *et al.*, 2015; Moreira *et al.*, 2019), e *Scenedesmus* sp. (Lekshmi *et al.*, 2015) que também pertence ao grupo das *Chlorella* sp. (Pathak *et al.*, 2015; Oliva-Martínez *et al.*, 2014).

Estudos que comprovam a eficiência de remoção de poluentes têxteis pelas microalgas vêm sendo publicados, enfatizando a possibilidade do uso dessa tecnologia de fonte renovável e biodegradável (Tabela 1).

Tabela 1- Comparativo do uso de diferentes espécies de microalgas utilizadas no tratamento têxtil

| Microalga | Mecanismo | Corante | Remoção de cor (%) | Tempo | Tipo de efluente | Referência |
|-------------------------------|--------------|-------------------|--------------------|---------|------------------|---------------------------------------|
| <i>Anabaena</i> sp. | Bioconversão | Indigo (ANIL) | 71.2 | 14 dias | Sintético | Dellamatrice <i>et al.</i> (2017) |
| <i>Aphanocapsa elachista</i> | Bioconversão | Orange 2RL | 49.1 | 7 dias | Sintético | El-Sheekh <i>et al.</i> (2018) |
| <i>Chlorella</i> sp. | Bioconversão | Orange 2RL | 55.2 | 7 dias | Sintético | El-Sheekh <i>et al.</i> (2018) |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | Bioconversão | G-Red (FN-3G) | 59.1 | 7 dias | Sintético | El-Sheekh <i>et al.</i> (2009) |
| <i>C. vulgaris</i> | Biossorção | NU | 75.6 | 15 dias | Real | El-Kassas; Mohamed (2014) |
| <i>C. vulgaris</i> | Bioconversão | Congo Red | 83.0 | 15 dias | Sintético | Hernández-Zamora <i>et al.</i> (2015) |
| <i>C. vulgaris</i> | Biossorção | Congo Red | 90.0 | 15 dias | Sintético | Mahalakshmi <i>et al.</i> (2015) |
| <i>C. vulgaris</i> | Biossorção | Methylene Blue | 98.5 | 8 dias | Sintético | Fazal <i>et al.</i> (2021) |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | Bioconversão | Direct Red-31 | 78.6 | 180 min | Real | Sinha <i>et al.</i> (2016) |
| <i>C. pyrenoidosa</i> | Biossorção | Methylene Blue | 98.2 | 2 h | Sintético | Lebron <i>et al.</i> (2018) |
| <i>C. pyrenoidosa</i> | Biossorção | Methylene Blue | 99.7* | 4 h | Sintético | Lebron <i>et al.</i> (2019) |
| <i>Desmosdesmus</i> sp. | Biossorção | Direct Red 31 | 36.0 | 4 h | Real | Behl <i>et al.</i> (2019a) |
| <i>Microcystis aeruginosa</i> | Bioconversão | Reactive Black NN | 55.12 | 7 dias | Sintético | El-Sheekh <i>et al.</i> (2017) |

| | | | | | | |
|---------------------------------------|--------------|---------------------|------------------------------|-------------|-----------|-----------------------------------|
| <i>M. aeruginosa</i> | Bioconversão | Orange 2RL | 65.07 | 7 dias | Sintético | El-Sheekh <i>et al.</i> (2017) |
| <i>Phormidium</i> sp. | Bioconversão | Indigo (ANIL) | 91.2 | 14 dias | Sintético | Dellamatrice <i>et al.</i> (2017) |
| <i>Pseudoanabaena</i> sp. | Bioconversão | Reactive yellow 3RN | 58.4 | 7 dias | Sintético | El-Sheekh <i>et al.</i> (2017) |
| <i>Pseudoanabaena</i> sp. | Bioconversão | Tracid red BS | 78.44 | 7 dias | Sintético | El-Sheekh <i>et al.</i> (2017) |
| <i>Spirogyra</i> sp. | Biossorção | Reactive Yellow 22 | 92.0 | 120 h | Sintético | Mohan <i>et al.</i> (2002) |
| <i>Spirulina platensis</i> | Biossorção | Reactive Red 120 | 97.1 | NI | Sintético | Cardoso <i>et al.</i> (2012) |
| <i>Spirulina maxima</i> | Biossorção | Methylene Blue | 94.1 | 2 h | Sintético | Lebron <i>et al.</i> (2018) |
| <i>S. maxima</i> | Biossorção | Methylene Blue | 41.6* | 4 h | Sintético | Lebron <i>et al.</i> (2019) |
| <i>Spirulina platensis</i> | Biossorção | Malachite Green | 94,12% | 52,4 min | Sintético | Bonyadi <i>et al.</i> (2022) |
| <i>Spirulina platensis</i> | Biossorção | Malachite Green | 94,12% | 52,4 min | Sintético | Bonyadi <i>et al.</i> (2022) |
| <i>Chlorella vulgaris</i> (biochar) | Biossorção | MB, CR | var. (mg/g) | até 120 h | Sintético | Zha <i>et al.</i> (2022) |
| <i>Chlorella</i> sp. (biochar úmido) | Biossorção | MB, CR | 113 mg/g (MB), 164 mg/g (CR) | 120 h / 4 h | Sintético | Alabi <i>et al.</i> (2024) |
| <i>C. vulgaris</i> (biomassa ativada) | Adsorção | Acid Red 1 | ~80–90% | — | Sintético | Chen <i>et al.</i> (2021) |

Fonte: A autora (2025).

Em tratamento de águas residuárias têxteis, as microalgas têm sido utilizadas como alternativa devido à sua capacidade de fixação de nutrientes. O potencial de remoção de poluentes têxteis está ligado à capacidade de absorção do corante, que é facilitada pela estrutura da parede celular.

Além do potencial das microalgas na degradação da cor, estudos têm investigado sua capacidade de biossorção. El-sheekh *et al.* (2018) utilizaram as microalgas *Chlorella vulgaris*

e *Aphanocapsa elachista* na degradação do corante Orange 2RL e encontraram 55,22% e 49,16% de remoção respectivamente. Outros estudos têm reportado o emprego de microalgas para redução de poluentes orgânicos e inorgânicos em efluentes contaminados (Cho *et al.*, 2013; Lekshmi *et al.*, 2015; Yaseen *et al.*, 2016).

A eficiência de remoção de cor, através das microalgas, foi relatada previamente por Behl *et al.* (2019b), que alcançaram remoção do corante Direct Red 31 utilizando a microalga *Chlorella pyrenoidosa*, e por Lebron *et al.* (2018) e Lebron *et al.* (2019), que conseguiram 94-98% de remoção do azul de metileno utilizando as espécies *Chlorella sp.* e *Spirulina maxima*.

Dessa forma, o tratamento biológico por microalgas apresenta vantagens como: rápido crescimento, facilidade de cultivo, adaptação a variações ambientais, aproveitamento da biomassa, geração de compostos secundários (lipídios, carboidratos, proteínas) e baixo custo de manutenção.

2.4.4 Aproveitamento dos recursos gerados no tratamento de efluente via microalgas

Além da remoção de poluentes, o cultivo de microalgas em efluentes têxteis oferece vantagens econômicas devido ao potencial de aproveitamento da biomassa gerada. Tratamentos utilizando microalgas são reconhecidos pelo potencial de geração de biomassa rica em carboidratos e lipídios, que são utilizados na fabricação de biogás e biocombustível, por exemplo. Além disso, essa vantagem fecha o ciclo de bioprodutos gerados pelo tratamento do efluente têxtil. A utilização de microalgas para o tratamento têxtil produz tanto a biomassa necessária para uso industrial quanto a remoção de contaminantes têxtil, tornando este um excelente prospecto para aplicação industrial (Behl *et al.*, 2019a; Behl, *et al.* 2019b; Oyebamiji *et al.*, 2019; Yadav *et al.*, 2019).

O cultivo de microalgas no efluente têxtil gera uma quantidade significativa de biomassa, rica em lipídios, carboidratos e proteínas, que pode ser utilizada para obtenção de bioprodutos de valor econômico agregado, como ocorre na produção comercial de biodiesel a partir dos óleos lipídicos gerados (Behl *et al.*, 2019a; Huang *et al.*, 2010; Raheem *et al.*, 2018).

A produção de lipídios por microalgas agrega valor à sua biomassa, visto que, algumas espécies como *Chlorella pyrenoidosa* vem sendo estudada para este fim, alcançado resultados positivos como o de Zhang *et al.* (2019) que, variando as condições de disponibilidade de nitrogênio e fósforo, observaram a produção de 48,90% de lipídio a partir da biomassa microalgal. Isso ocorre devido à capacidade de adaptação celular, onde ocorre a modificação

morfológica para suportar as condições operacionais, passando de uma célula para duas. Além de serem favoráveis à produção de lipídios (Behl *et al.*, 2019a).

Em termos de custo e como alternativa sustentável, os microrganismos são viáveis no tratamento de poluentes aromáticos têxteis. Nesse sentido, as microalgas são promissoras fontes para a aplicabilidade dessa tecnologia. Nadarajah *et al.* (2017) utilizaram as microalgas como fonte de lipídios na produção de biodiesel, e constataram sua eficiência de produção de biomassa (6000 mg. L⁻¹) além do rápido crescimento.

A produção de biomassa a partir de microalgas utilizando efluente têxtil e de esgoto doméstico pode ser uma alternativa à biodegradação destes contaminantes, uma vez que as microalgas podem empregá-los como fonte de energia e nutrientes para seu crescimento e reprodução (Lekshmi *et al.*, 2015). As microalgas também podem utilizar o nitrogênio inorgânico a fim de convertê-lo em orgânico, incorporando-o em seus processos metabólicos (Cai; Park; Li, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a remoção do corante tetra azo Direct Black 22 (DB22) pelas microalgas *Arthrospira platensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorella vulgaris* e *Tetradismus obliquus* em sistemas de cultivo fechado, investigando os mecanismos de biodegradação, fotodegradação e adsorção.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir, dentre as espécies *Arthrospira platensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorella vulgaris* e *Tetradismus obliquus*., quais apresentam maior eficiência de crescimento e remoção do corante tetra azo Direct Black-22 em cultivo fechado.
- Avaliar a contribuição da fotodegradação e da adsorção na remoção do corante tetra azo Direct Black-22;
- Analisar a capacidade de biodegradação do DB22 pelas microalgas, com ênfase na atividade enzimática;
- Monitorar a toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do corante tetra azo Direct Black 22 seus possíveis subprodutos de degradação antes e após o processo de cultivo com as microalgas utilizando o sistema teste *Allium cepa*.

4 METODOLOGIA

4.1 MICROALGAS E MEIOS DE CULTURA

Os microrganismos fotossintetizantes *Arthrospira platensis* (UTEX 1926), *Dunaliella tertiolecta* (UTEX 1999) e *Chlorella vulgaris* (UTEX 1803) foram obtidos da coleção de cultura da Universidade do Texas, e a microalga *Tetradesmus obliquus* (A5F5402) foi isolada a partir de amostras coletadas no Açude de Apipucos (Recife, Pernambuco, Brasil, coordenadas 8° 1'13.08"S; 34°55'56.51"W). As cepas originais desses microrganismos estão mantidas no Laboratório de Biotecnologia/CENAPESQ da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A composição dos meios de cultivo segue a metodologia de Schlösser (1982) para *A. platensis*, meio *Bold basal* (Bischoff; Bold, 1963) para *C. vulgaris*, *Bold basal* (Bischoff; Bold, 1963) com adaptação de Moura *et al.* (2020) para *D. tertiolecta* (para esta microalga foi utilizada água do mar no preparo do meio, substituindo a água deionizada), e BG-11, de acordo com Stanier *et al.* (1971) para *Tetradesmus obliquus*.

Os meios de cultivo utilizados para inoculação em cada experimento estão descritos a seguir (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição dos meios de cultivo

| Bold's Basal | |
|--|---------------------------|
| Nutriente | Concentração (g/L) |
| NaNO ₃ | 10 |
| CaCl ₂ .2H ₂ | 0,1 |
| MgSO ₄ .7H ₂ | 0,3 |
| K ₂ HPO ₄ | 3 |
| KH ₂ PO ₄ | 7 |
| NaCl | 0,001 |
| Na ₂ EDTA | 50 |
| FeSO ₄ .7H ₂ O | 4,98 |
| H ₃ BO ₃ | 11,42 |
| ZnSO ₄ .7H ₂ O | 8,82 |
| MnCl ₂ .4H ₂ O | 1,44 |
| MoNO ₃ | 0,71 |
| CuSO ₄ .5H ₂ O | 1,57 |
| Ca(NO ₃) ₂ .6H ₂ O | 0,49 |

| BG-11 | |
|--|---------------------------|
| Nutriente | Concentração (g/L) |
| NaNO ₃ | 1,5 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,04 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0,075 |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 0,036 |
| Citric acid | 0,006 |
| Ferric ammonium citrate | 0,006 |
| EDTA (disodium salt) | 0,001 |
| NaCO ₃ | 0,02 |
| Trace metal mix A5 | 1.0 (ml)* |
| H ₃ BO ₃ | 2,86 |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 1,81 |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 0,222 |
| NaMoO ₄ ·2H ₂ O | 0,39 |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | 0,079 |
| Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O | 0,0494 |

| Schlösser | |
|---------------------------------|---------------------------|
| Solução 1 | |
| Nutriente | Concentração (g/L) |
| NaHCO ₃ | 27,22 |
| Na ₂ CO ₃ | 8,06 |
| K ₂ HPO ₄ | 1,0 |

| Solução 2 | |
|--------------------------------------|---------------------------|
| Nutriente | Concentração (g/L) |
| NaNO ₃ | 5,0 |
| K ₂ SO ₄ | 2,0 |
| NaCL | 2,0 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0,4 |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 0,08 |
| PIV* | 12(mL) |
| CHU* | 2(mL) |

Fonte: A autora (2025).

As cepas foram mantidas em tubos de ensaio com o meio líquido de cultivo padrão para cada cepa. Inicialmente, cada microrganismo foi cultivado em frascos de Erlenmeyer de 500 mL, contendo 200 mL dos meios de cultivo selecionados. Após atingir a fase exponencial de crescimento, os microrganismos foram cultivados em frascos de Erlenmeyer de 1 L, contendo 500 mL dos meios de cultivo. As condições de cultivo apresentavam concentração celular inicial de 200 mg L^{-1} , temperatura de $28 \text{ }^\circ\text{C}$ e iluminação de $72 \text{ } \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

4.2 INATIVAÇÃO DA BIOMASSA

Para a inativação da biomassa foi realizado um pré-tratamento térmico, no qual a biomassa de cada uma das espécies utilizadas foi submetida a autoclave ($121 \text{ }^\circ\text{C}$, 20 min). Após o resfriamento à temperatura ambiente, toda a biomassa foi centrifugada (marca CT-6000 a 3000 RPM) por 10 min. Em seguida, a biomassa foi seca em estufa (marca Nova técnica, $80 \text{ }^\circ\text{C}$, 20 h). A inativação foi realizada por meio de uma adaptação do trabalho de Khalaf (2008).

4.3 CORANTE DIRECT BLACK 22

O corante Direct Black 22 - DB22 (f\u00f3rmula molecular: $\text{C}_{44}\text{H}_{32}\text{N}_{13}\text{Na}_3\text{O}_{11}\text{S}_3$), foi utilizado como composto alvo deste estudo. O DB22 tem origem comercial (ExataCor – Lote 7011), possuindo pureza de 50% (Menezes *et al.*, 2019). A concentração de 65 mg L^{-1} de DB22 foi escolhida com base nos estudos j\u00e1 realizados com o devido corante, a mesma concentra\u00e7\u00e3o foi encontrada nos corpos receptores em que os efluentes t\u00eaxteis finais s\u00e3o lan\u00e7ados (Ferraz *et al.*, 2011). Inicialmente, preparou-se uma solu\u00e7\u00e3o estoque de 5 g. L^{-1} e para a realiza\u00e7\u00e3o do experimento, a solu\u00e7\u00e3o estoque de 65 mg. L^{-1} foi dilu\u00edda em \u00e1gua destilada. A absorb\u00e2ncia do corante DB22 foi obtida por espectrofotometria no pico de absor\u00e7\u00e3o m\u00e1xima do corante (espectrofot\u00f4metro UV-Vis HITACHI, modelo U-2910, 475 nm).

4.4 TESTE ENZIM\u00c1TICO

Para verificar a atividade enzim\u00e1tica referente a azoredutases presentes nas c\u00e9lulas das microalgas. O teste enzim\u00e1tico foi realizado por meio da prepara\u00e7\u00e3o do extrato celular da microalga. Para isso foram utilizados 2 mL de amostra l\u00edquida coletadas em eppendorf, os quais

foram centrifugados (marca Hermle, modelo Z306) a 5500 rpm por 10 min. Posteriormente, o extrato celular foi lavado (2x) com solução 50 mM de tampão fosfato-salino (PBS) em pH 7,0. As células do extrato concentrado foram lisadas mecanicamente por meio de Beadbeater (marca MP Biomedicals™, modelo FastPrep -24™, Valiant) utilizando 0.05 ± 0.015 g de pérolas de vidro de 150-212 μm (Sigma-Aldrich, San Luis, MO) por dois ciclos de 15 minutos. Após a centrifugação a 20.000 rpm à 4°C por 30 min (CAPP APS, CR-1730R) o sobrenadante do extrato celular foi separado.

Para a reação enzimática, 200 μL do sobrenadante do extrato celular foram adicionados em eppendorf de 1 mL juntamente com 400 μL de PBS à 50 mM (pH 7,0), 200 μL da solução do corante DB22 a 65 mg L^{-1} e 200 μL da solução de fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH) a 0,2 mM. Posteriormente, a solução foi homogeneizada e mantida em repouso por 5 min em temperatura ambiente para leitura em espectrofotômetro UV-Vis (marca HITACHI, modelo U-2910 no comprimento de onda de 475 nm. A atividade enzimática foi evidenciada pela diminuição da área do pico de absorção do corante durante o experimento, utilizando o software OriginPro 9.0 (OriginLab, Northampton, MA). O teste enzimático foi adaptado da metodologia descrita por Sinhá *et al.* (2016).

4.5 ANÁLISE DE FTIR

Com a finalidade de analisar a presença de grupos funcionais provenientes da degradação do corante azo, foi realizada a análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando o espectrofotômetro modelo Perkin Elmer, modelo Spectrum 400, na faixa de 400-4000 cm^{-1} , em pastilhas de KBr na razão 5:95. Os valores foram observados em transmitância.

4.6 SISTEMA-TESTE *Allium cepa*

Para os testes de toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade foram utilizadas sementes de *A. cepa* (Vale Ouro - IPA 11), fornecidas pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA. As sementes foram germinadas em placas de Petri, com tamanho médio de 100x20 mm, contendo algodão e papel filtro embebidos em 10 mL de amostra e mantidos em temperatura ambiente (Figura 1).

Figura 1 - Preparação das lâminas do ensaio teste *Allium cepa*

Fonte: A autora (2025).

Foram utilizadas 50 sementes por placa, e cada tratamento foi realizado em quadruplicata. Como controle negativo foi utilizado água destilada e para controles positivos foram utilizados o metil metanosulfonato (MMS, 4×10^{-4} M) que tem ação clastogênica e o herbicida trifluralina (TRI - $0,84 \text{ mgL}^{-1}$ de princípio ativo) que tem ação aneugênica.

No sistema-teste *A. cepa*, para a validação da atenuação do potencial tóxico das amostras, foram utilizadas sementes de *A. cepa* (Vale Ouro - IPA 11). Cinco tratamentos foram testados: (1) água destilada (H_2O), como controle negativo (CN); (2) herbicida trifluralina (TRI - $0,84 \text{ mgL}^{-1}$ de princípio ativo), como controle positivo para análise da genotoxicidade; (3) C1 - *Chlorella vulgaris* e meio Bold's basal; C2 - meio Bold's basal e corante azo DB22; C3(i) início (dia 01) - *Chlorella vulgaris*, meio Bold's basal e corante azo DB22, e C3(f) final (dia 17) - *Chlorella vulgaris*, meio Bold's basal e corante azo DB22.

Para análise de toxicidade, foi observado o índice de germinação durante 13 dias, acompanhando o período necessário para a germinação de todas as sementes nas amostras. Adicionalmente, foi analisado o comprimento médio de 20 raízes coletadas aleatoriamente no quarto dia de germinação. Tais raízes foram fixadas em solução de carnoy (3 partes de etanol para 1 parte de ácido acético) por 2h e armazenadas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente, raízes entre as selecionadas foram utilizadas para preparação das lâminas (Caritá; Marin-Morales 2008).

Para análise da citotoxicidade e genotoxicidade, 10 raízes das 20 selecionadas foram submetidas a três lavagens consecutivas de 5 min em água destilada para retirar o excesso de fixador. Posteriormente, as raízes foram hidrolisadas em HCl 1 normal por 8 min à 60 °C em banho-maria. Após hidrólise, as raízes foram lavadas em água destiladas por 5 min, três vezes consecutivas, e então coradas em Reativo de Schiff por 2 h em local escuro. Em seguida as raízes foram lavadas e seus meristemas esmagados em uma gota de carmim acético (2%), para melhor visualização do citoplasma. Para montagem de cada lâmina utilizou-se apenas uma raiz, que foi coberta com uma lamínula (22 x 22), esmagando ligeiramente o material de modo a espalhar as células pela lâmina. Posteriormente, a lâmina foi imersa em nitrogênio líquido por 3 min; após a imersão, retirou-se a lamínula, e a lâmina foi montada com Entellan (MERK).

Para cada tratamento foram confeccionadas 10 lâminas, das quais foram analisadas 500 células por lâmina, totalizando 5.000 células por tratamento. Para análise da citotoxicidade, foi calculado o índice mitótico a partir da razão entre o número de células que foram observadas em divisão pelo número total de células analisadas e o resultado foi multiplicado por 100.

Para avaliação da genotoxicidade, foram observadas as frequências de alterações cromossômicas (C- metáfases, anáfase multipolar, metáfases poliploides, metáfases com aderência cromossômica, núcleos lobulados, metáfases com perdas e quebra cromossômicas, pontes cromossômicas e micronúcleo em diferentes fases da mitose, seja ela prófase, metáfase, anáfase e telófase). A frequência de alterações cromossômicas identificadas foi calculada pela razão do número de alterações cromossômicas observadas pelo total das células analisadas, sendo o resultado multiplicado por 100.

Para análise estatística foi realizado um delineamento inteiramente casualizado. Para o parâmetro de toxicidade, foram analisados o índice de germinação ao longo do tempo com base na análise de quatro placas de Petri por tratamento e o comprimento médio de 10 raízes por tratamento. Para os parâmetros citotoxicidade e genotoxicidade, 5.000 células por tratamento foram analisadas (500 células/lâmina de um total de 10 lâminas/tratamento). As unidades experimentais consistiam de uma placa de Petri, de uma raiz e das células analisadas por lâmina, respectivamente.

Os resultados obtidos foram comparados com o controle negativo normatizados utilizando os testes de normalidade e homogeneidade, seguindo o modelo de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Posteriormente, utilizou-se o teste de variância (ANOVA) seguido do teste a posteriori de Tukey, utilizando o programa de estatística OriginPro 9.0 (OriginLab, Northampton, MA). Todas as análises foram realizadas no nível de significância de $p < 0,05$.

4.7 CULTIVO

O cultivo foi realizado em sistema foto autotrófico em meio estéril, com temperatura de 28,5 °C ($\pm 1,5$), aferida diariamente por meio de um termômetro portátil em fotoperíodo constante (24 h), com iluminação de 132-160 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ medida com Photo Radiometer, (HD2102.2), e com aeração constante, vazão de ar 0,5 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ e liberação de CO_2 2% (± 1), utilizando bomba de compressão de ar.

Quando o intuito era avaliar a influência da luz (fotodegradação) foram realizados testes removendo a iluminação (Figura 2). Para o experimento com a espécie *Arthospira Platensis* a aeração não é necessária, portanto, o cultivo foi realizado em mesa incubadora (Incubadora Shaker- 1713, NOVA Instrument), com temperatura de 30°C e agitação de 100RPM (Figura 3).

Figura 2 - Montagem dos cultivos para espécies *Chlorella vulgaris*, *Tetrademus obliquus* e *Dunaliella tertiolecta*



Fonte: A autora (2025).

Figura 3 - Montagem do cultivo para espécie *Arthospira Platensis*

Fonte: A autora (2025).

4.8 COLETA

A cada dois dias foram coletadas alíquotas de 4 mL para realização das análises: quantificação do corante DB22, quantificação da biomassa algal e teste enzimático (para espécie *C. vulgaris*). Para o teste enzimático foram utilizadas amostras do início e final do experimento. A biomassa algal foi quantificada por leitura da densidade óptica em 685 nm (*C. vulgaris*), 680 nm (*D. tertiolecta*), 650 nm (*T. obliquus*) e 560 nm (*A. platensis*) (spectrophotometer HITACHI, U-2910, Chiyoda, Japão). A definição de quantidade de biomassa foi feita com base na curva de calibração da densidade ótica (OD) e número de células, uma unidade de OD₆₈₀ correspondeu a 7×10^6 células/mL. Além disso, uma unidade de OD₆₈₀ correspondeu a 0,23 g/L de peso de biomassa seca.

Para avaliação da morfologia das microalgas em microscópio óptico (Leica-DM E, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) foi utilizado parte do volume amostral da varredura espectrofotométrica.

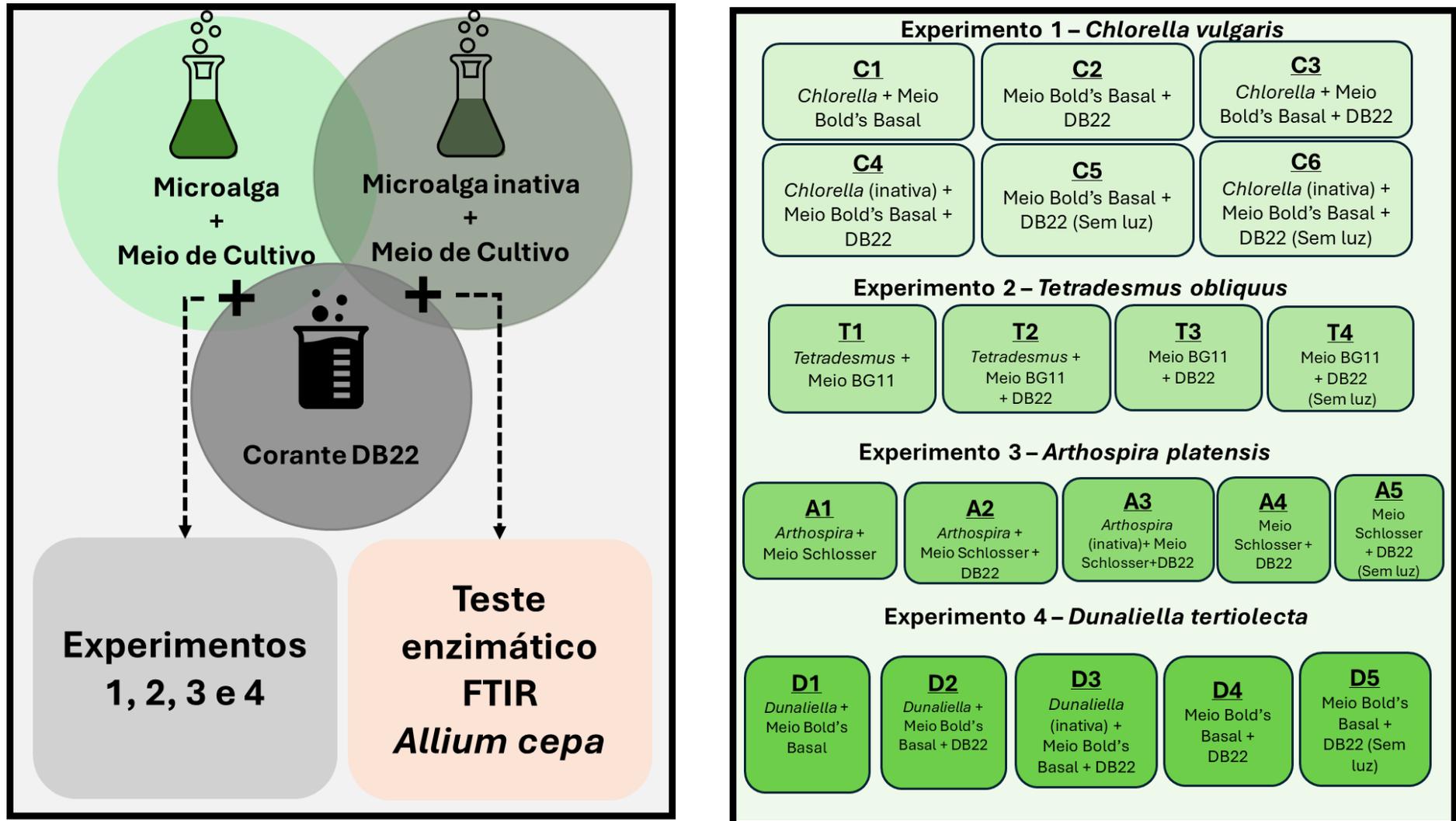
Para avaliar os grupos funcionais presentes no meio e para verificar a remoção do DB22 (para a espécie *C. vulgaris*), foi realizada a análise de Fourier Transform Infrared spectroscopy (FTIR - Perkin Elmer, Spectrum 400, Waltham, MA) na faixa de 400-4000 cm^{-1} , em pastilhas de KBr na razão 5:95, da biomassa final do cultivo.

Ao final do cultivo, as células foram centrifugadas, através de 3 lavagens sucessivas com água destilada para retirada do sal adsorvido às células, e foram submetidas à secagem com ventilação a 55 °C por 12 h (Pelizer *et al.*, 1999).

4.10 ETAPA EXPERIMENTAL

O desenho esquemático da figura 4 representa um fluxograma de panorama geral das etapas até os experimentos.

Figura 4 - Fluxograma experimental para a montagem dos cultivos



Fonte: A autora (2025).

4.10.1 Experimento 01 – *Chlorella vulgaris*

Para inoculação de cada condição determinada foi preparada uma solução padrão em Erlenmeyer de 2 L previamente autoclavado. Sendo distribuídos da seguinte forma: 615 mL de biomassa e 1,385 mL de meio Bold's basal (C1); 1,974 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (C2); 615 mL de biomassa, 1,359 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (C3); 400 mg de biomassa inativa, 1,359 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (C4); 1,974 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (sem iluminação) (C5); 400 mg de biomassa inativa, 1,974 mL de meio Bold's basal, e 26 mL de DB22 (sem iluminação) (C6). As concentrações finais obtidas, após a mistura dos componentes, foram de 200 mg L⁻¹ de biomassa, 200 mg de biomassa seca (inativada) e 65 mg L⁻¹ de DB22. Posteriormente, a solução de cada condição (C1, C2, C3, C4, C5 e C6) foi distribuída em Erlenmeyers de 1 L contendo 600 mL cada.

Na tabela 3 estão descritas as condições de análise. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Tabela 3 - Condições experimentais usadas durante o experimento 01

| | Microalga | | | Corante | | Luz | | Objetivo |
|----|-----------|-------|---------|---------|----------|---------|----------|--|
| | Ausente | Ativa | Inativa | Ausente | Presente | Ausente | Presente | |
| C1 | | x | | x | | | x | Avaliar crescimento da biomassa |
| C2 | x | | | | x | | x | Avaliar a fotodegradação |
| C3 | | x | | | x | | x | Avaliar crescimento da biomassa com a presença de DB22 |
| C4 | | | | | x | | x | Avaliar o efeito da adsorção em presença da luz |
| C5 | x | | | | x | x | | Avaliar o efeito da adsorção sem a presença da luz |
| C6 | | | x | | x | x | | Avaliar o efeito da adsorção |

Fonte: A autora (2025).

4.10.2 Experimento 02 – *Tetradismus obliquus*

Para inoculação de cada condição determinada foi preparada uma solução padrão em Erlenmeyer de 2 L previamente autoclavado. Sendo distribuídos da seguinte forma: 510 mL de biomassa e 1,490 mL de meio BG (T1); 510 mL de biomassa, 1,464 mL de meio BG-11 e 26 mL de DB22 (T2); 1,974 mL de meio BG-11 e 26 mL de DB22 (T3) e 1,974 mL de meio BG-11 e 26 mL de DB22 (sem iluminação) (T4). As concentrações finais obtidas, após a mistura dos componentes, foram de 200 mg L⁻¹ de biomassa, 200 mg de biomassa seca (inativada) e 65 mg L⁻¹ de DB22. Posteriormente, a solução de cada condição (T1, T2, T3 e T4) foi distribuída em Erlenmeyers de 1 L contendo 600 mL cada.

Na tabela 4 estão descritas as condições de análise. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Tabela 4 - Condições experimentais usadas durante o experimento 02

| | Microalga | | | Corante | | Luz | | Objetivo |
|----|-----------|-------|---------|---------|----------|---------|----------|--|
| | Ausente | Ativa | Inativa | Ausente | Presente | Ausente | Presente | |
| T1 | | x | | x | | | x | Avaliar crescimento da biomassa |
| T2 | | x | | | x | | x | Avaliar crescimento da biomassa com a presença de DB22 |
| T3 | x | | | | x | | x | Avaliar o efeito da adsorção em presença da luz |
| T4 | x | | | | x | x | | Avaliar o efeito da adsorção |

Fonte: A autora (2025).

4.10.3 Experimento 03 – *Arthrospira platensis*

Para inoculação de cada condição determinada foi preparada uma solução padrão em Erlenmeyer de 2 L previamente autoclavado. Sendo distribuídos da seguinte forma: 137 mL de biomassa e 1,862 mL de meio Schlösser (A1); 137 mL de biomassa, 1,837 mL de meio Schlösser e 26 mL de DB22 (A2); 400 mg de biomassa inativa, 1,837 mL de meio Schlösser e 26 mL de DB22 (A3); 1,974 de meio Schlösser e 26 mL de DB22 (A4) e 1,974 de meio Schlösser e 26 mL de DB22 (sem iluminação) (A5). As concentrações finais obtidas, após a

mistura dos componentes, foram de 200 mg L⁻¹ de biomassa, 200 mg de biomassa seca (inativada) e 65 mg L⁻¹ de DB22. Posteriormente, a solução de cada condição (A1, A2, A3, A4 e A5) foi distribuída em Erlenmeyers de 1 L contendo 600 mL cada.

Na tabela 5 estão descritas as condições de análise. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Tabela 5 - Condições experimentais usadas durante o experimento 03

| | Microalga | | | Corante | | Luz | | Objetivo |
|----|-----------|-------|---------|---------|----------|---------|----------|--|
| | Ausente | Ativa | Inativa | Ausente | Presente | Ausente | Presente | |
| A1 | | x | | x | | | x | Avaliar crescimento da biomassa |
| A2 | | x | | | x | | x | Avaliar crescimento da biomassa com a presença de DB22 |
| A3 | | | x | | x | | x | Avaliar a fotodegradação e adsorção |
| A4 | x | | | | x | | x | Avaliar a fotodegradação |
| A5 | x | | | | x | x | | Avaliar a degradação química do DB22 |

Fonte: A autora (2025).

4.10.4 Experimento 04 – *Dunaliella tertiolecta*

Para inoculação de cada condição determinada foi preparada uma solução padrão em Erlenmeyer de 2 L previamente autoclavado. Sendo distribuídos da seguinte forma: 252 mL de biomassa e 1,748 mL de meio Bold's basal (**D1**); 252 mL de biomassa, 1,722 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (**D2**); 400 mg de biomassa inativa, 1,722 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (**D3**); 1,974 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (**D4**) e 1,974 mL de meio Bold's basal e 26 mL de DB22 (sem iluminação) (**D5**). As concentrações finais obtidas, após a mistura dos componentes, foram de 200 mg L⁻¹ de biomassa, 200 mg de biomassa seca (inativada) e 65 mg L⁻¹ de DB22. Posteriormente, a solução de cada condição (D1, D2, D3, D4 e D5) foi distribuída em Erlenmeyers de 1 L contendo 600 mL cada.

Na tabela 6 estão descritas as condições de análise. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Tabela 6 - Condições experimentais usadas durante o experimento 04

| | Microalga | | | Corante | | Luz | | Objetivo |
|----|-----------|-------|---------|---------|----------|---------|----------|--|
| | Ausente | Ativa | Inativa | Ausente | Presente | Ausente | Presente | |
| D1 | | x | | x | | | x | Avaliar crescimento da biomassa |
| D2 | | x | | | x | | x | Avaliar crescimento da biomassa com a presença de DB22 |
| D3 | | | x | | x | | x | Avaliar a fotodegradação e adsorção |
| D4 | x | | | | x | | x | Avaliar a fotodegradação |
| D5 | x | | | | x | x | | Avaliar a degradação química do DB22 |

Fonte: A autora (2025).

4.9 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Para avaliar o subproduto da degradação, foi realizada a análise cromatográfica da anilina foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada ao detector de arranjo de diodos (DAD) modelo LC-20AT (Shimadzu, Japão) usando uma coluna de fase de reserva C18 (Lichrospher® RPC18 com 250 mm x 4,6 mm x 5 µm, Merck Life Science, Darmstadt, Alemanha). A fase móvel usada foi ácido acético 60% com trietilamina 5 mM e acetonitrila 40% com uma taxa de fluxo de 1 mL.min⁻¹ e um volume de injeção de 50 µL com um tempo de execução de 5,5 minutos.

O HPLC-DAD modelo LC-20AT (Shimadzu, Japão) usando uma coluna de fase de reserva C18 (Lichrospher® RPC18 com 250 mm x 4,6 mm x 5 µm, Merck Life Science, Darmstadt, Alemanha) foi utilizado para a análise de catecol, ácido benzoico e ácido 4-aminobenzoico. A fase móvel consistia em 30% de acetonitrila e 70% de fase aquosa com 0,03% de ácido fosfórico. A taxa de fluxo foi definida em 0,8 mL.min⁻¹, o volume de injeção foi de 50 µL e o tempo de execução foi de 9 minutos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

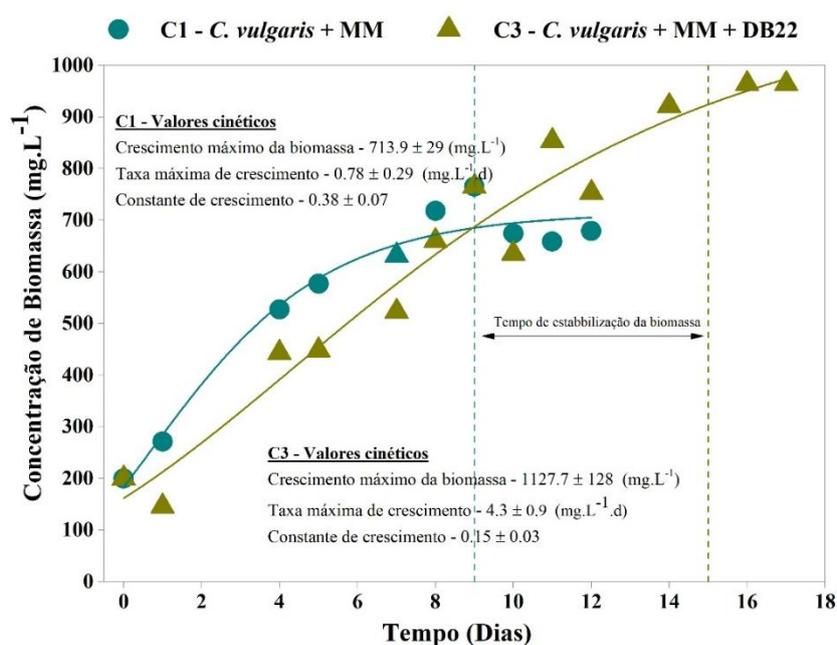
Nesta seção serão apresentados os resultados que se referem às etapas desenvolvidas durante a fase experimental com as quatro espécies de microalgas testadas (*Chlorella vulgaris*, *Tetrademus obliquus*, *Arthrospira platensis* e *Dunaliella tertiolecta*). As discussões dos resultados serão apresentadas de acordo com cada etapa dos experimentos 01, 02, 03 e 04.

5.1 EXPERIMENTO 01 - *Chlorella vulgaris*

5.1.1 Efeito do corante tetra azo DB22 no crescimento da microalga *C. vulgaris*

O crescimento da microalga com e sem a presença do DB22 (C3 e C1, respectivamente), indicam que a *C. vulgaris* foi capaz de se desenvolver em ambas as condições (Figura 5). Inicialmente, a produção de biomassa na condição C3 foi inferior à observada em C1. No entanto, após as primeiras 24 horas, ambas apresentaram taxas de crescimento semelhantes. Isso indica que a microalga conseguiu se adaptar e crescer satisfatoriamente mesmo na presença do DB22 em C3.

Figura 5 - Concentrações da biomassa para C1 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal) e para C3 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal e corante DB22), obtidos em 685 nm, durante o período de experimento



Fonte: A autora (2025).

Após a estabilização do crescimento, a condição contendo *C. vulgaris* no meio Bold's basal (C1) apresentou uma concentração de biomassa algal de 679,1 mg L⁻¹, mais que o triplo da concentração inicial (200 mg L⁻¹). Na presença do corante (C3), a concentração foi de 963,9 mg L⁻¹, quase cinco vezes a concentração inicial. No entanto, observou-se que a constante de crescimento foi menor para C3 (0,15 ± 0,03) em comparação com C1 (0,38 ± 0,07) (Figura 5).

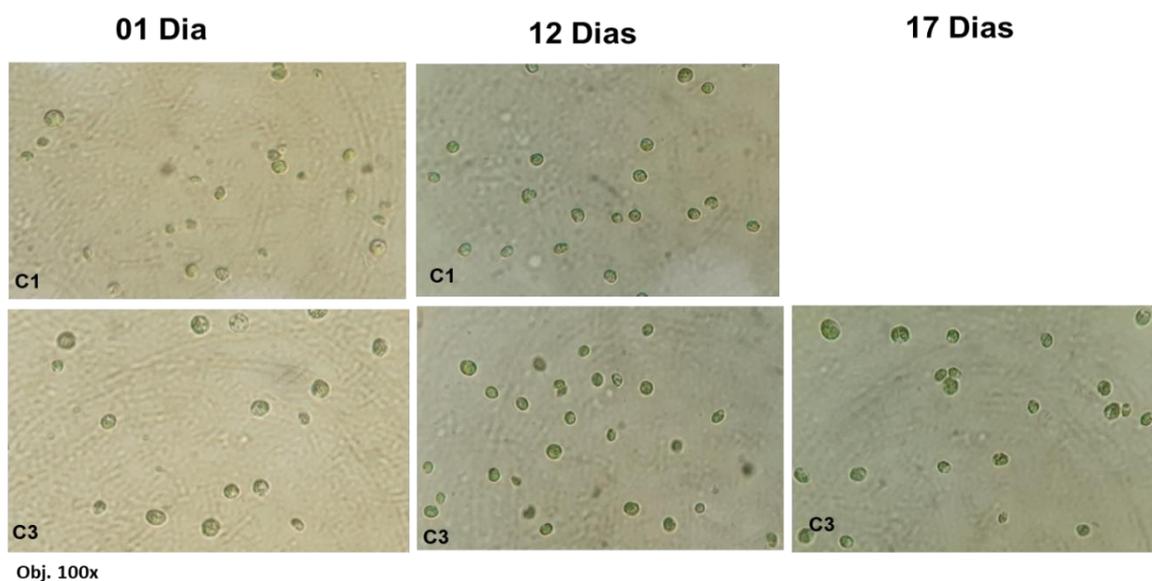
Para consolidar os resultados apresentados em relação a estabilização da biomassa, foi aplicado um modelo matemático, em que a concentração de biomassa é calculada. As equações do modelo Gompertz para C1 e C3 correspondem às equações (1) e (2), respectivamente.

$$\text{Concentração de biomassa (mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 714,0 \cdot e^{(-e^{(-0,385 \cdot (100 - 4,738)})})} \quad (1)$$

$$\text{Concentração de biomassa (mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 1127,7 \cdot e^{(-e^{(-0,195 \cdot (100 - 4,373)})})} \quad (2)$$

Isso indica que o crescimento da biomassa de microalgas foi possivelmente estimulado na presença do corante azo. Além do crescimento, a morfologia celular também foi avaliada, não foram observadas alterações morfológicas significativas em *C. vulgaris*, como mudança de formato ou tamanho celular (Figura 6), diferentemente do relatado por Sinha *et al.*, (2016), que, ao estudar o crescimento de *Chlorella* na presença do corante Direct Red 31, observou uma alteração nas células de redondas para elípticas.

Figura 6 - Imagens de microscopia óptica apresentando as características morfológicas da *Chlorella vulgaris* nos dias 1, 12 e 17 em C1 (*C. vulgaris* e Meio Bold's basal) e em C3 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal e corante DB22)



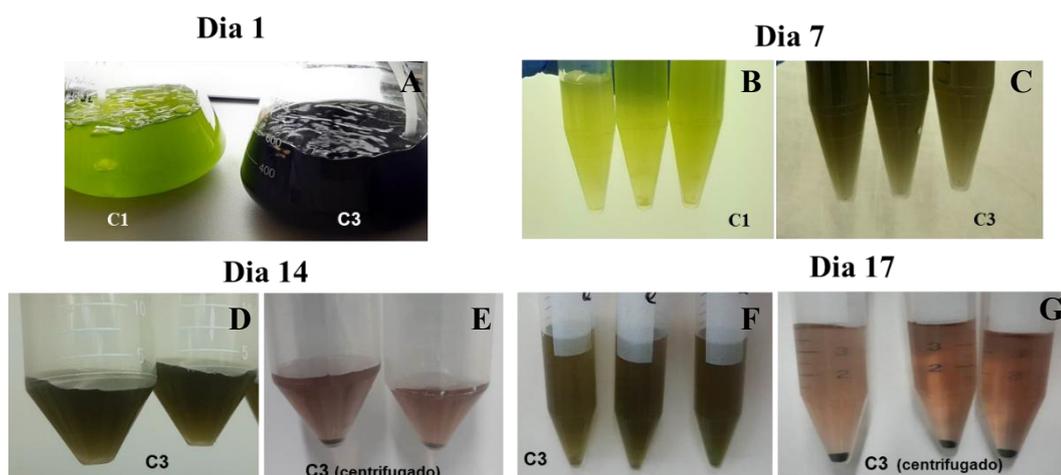
Em sistemas de cultivo fechado não é recomendável manter o cultivo após três dias de estagnação do crescimento (F. Javed *et al.*, 2022). No caso do sistema C1, foi observada estagnação constante a partir do décimo segundo dia. Por esse motivo, o monitoramento dessa condição foi encerrado no 12º dia (Figura 5).

Em estudos como o de F. Javed *et al.* (2022) com a microalga *Chlorella vulgaris*, também foi possível observar o crescimento inicial acelerado, passando por uma fase de estagnação e uma diminuição em torno de 11-12 dias, corroborando com os resultados no presente estudo.

Além do DB22, outros corantes azo também foram estudados em sistemas de microalgas, como por Dellamatrice *et al.* (2017); Behl *et al.* (2019) e El-Sheekh *et al.* (2018) que observaram a descoloração do corante Indigo (91,2%), Direct Red 31(32,74%) e Orange 2RL (49,16%) com as microalgas *Phormidium sp.*, *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella sp.*, respectivamente.

Durante o experimento, foi possível visualizar a alteração na coloração do meio na condição C3, que mudou de preta no início do experimento para verde escuro no sétimo dia, terminando com uma coloração alaranjada no dia 17. A mudança de cor foi avaliada e registrada fotograficamente (Figura 7). Nesse processo, a ligação dupla de nitrogênio do grupo cromóforo azo é quebrada pela ação da enzima azorredutase, diminuindo a coloração preta e levando à formação de aminas aromáticas.

Figura 7 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1, 7, 14 e 17. (C1 (*C. vulgaris* e meio Bold's basal) e C3 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal e corante DB22))



Fonte: a Autora (2025).

A contínua aeração do meio pode proporcionar condições para que ocorra a reação de auto-oxidação das aminas aromáticas, recompondo alguns azo-dímeros e possivelmente

formando novos compostos, que, neste experimento, exibiam coloração alaranjada. O processo de auto-oxidação foi reportado por Menezes *et al.* (2019) e Carvalho *et al.* (2020) quando aminas aromáticas são expostas ao oxigênio molecular.

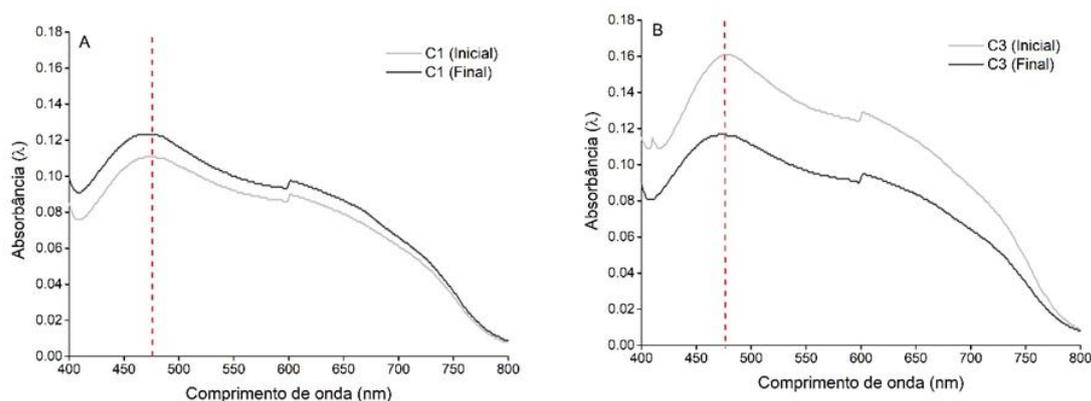
5.1.2 Avaliação da atividade enzimática

O teste de atividade enzimática foi realizado com a finalidade de confirmar a presença de enzimas nas células das microalgas (Figura 8).

A produção enzimática foi avaliada pela redução do valor da absorbância no comprimento de onda de máxima absorção de luz do corante (475 nm). Em C3, houve uma redução de 27% ao comparar os valores iniciais e finais, o que indica a ocorrência de atividade enzimática.

A absorbância observada em C1 pode ser desconsiderada, visto que, a condição avaliada continha apenas microalgas e meio de cultivo. De forma semelhante, Sinhá *et al.* (2016) e Zamora *et al.* (2015) utilizaram o gênero *Chlorella* e apontaram maior ocorrência de azoredutases na presença dos corantes Direct RED-31 e Vermelho Congo, respectivamente.

Figura 8 - Espectro de varredura na região UV-Vis obtido para o teste enzimático (A) C1 (*C. vulgaris* e meio Bold's basal), (B) C3 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal e corante DB22). Absorbância em 475 nm.



Fonte: A autora (2025).

Considerando o que é reportado na literatura, na ausência de corantes, as azoredutases não são detectadas ou estão em baixas concentrações. Pesquisas indicam que o aumento na produção de enzimas é um indicador de biodegradação de corantes. As microalgas ativam

enzimas quando necessário para seu devido crescimento e nutrição (Russel *et al.*, 2022; Duval *et al.*, 2023). Por outro lado, na ausência de corantes não houve detecção nenhuma ou baixa presença de azoredutases.

Um dos mecanismos de remoção dos corantes por microalgas consiste na ação enzimática que pode acontecer extracelularmente. Além da alta resistência da parede celular das microalgas o tamanho e a complexidade molecular oriundas do número de ligações azo do corante azo DB22 são fatores que provavelmente dificultaram a absorção do corante para o meio intracelular, o que facilita a adaptação da microalga ao corante durante seu crescimento (Baudelet *et al.*, 2017).

No presente estudo, foi observado que as azoredutases foram induzidas na condição adversa para as microalgas (C3), indicando que a *Chlorella vulgaris* pode ser um agente biológico capaz de realizar tratamento para remoção do DB22. A degradação de azo corantes está diretamente ligada à presença de enzimas azoredutoras que quebram a moléculas do corante e geram compostos intermediários.

Para determinação da produção de enzimas pelas microalgas, foi realizado a análise de espectroscopia de infravermelho com transformação de Fourier (FTIR, *Fourier transform infrared*) que é uma importante ferramenta para avaliar os grupos funcionais presentes no meio e para verificar a degradação do DB22 com possível formação de subprodutos. Os dados de FTIR foram obtidos da biomassa final nos fotoreatores C1 e C3 (Figura 9).

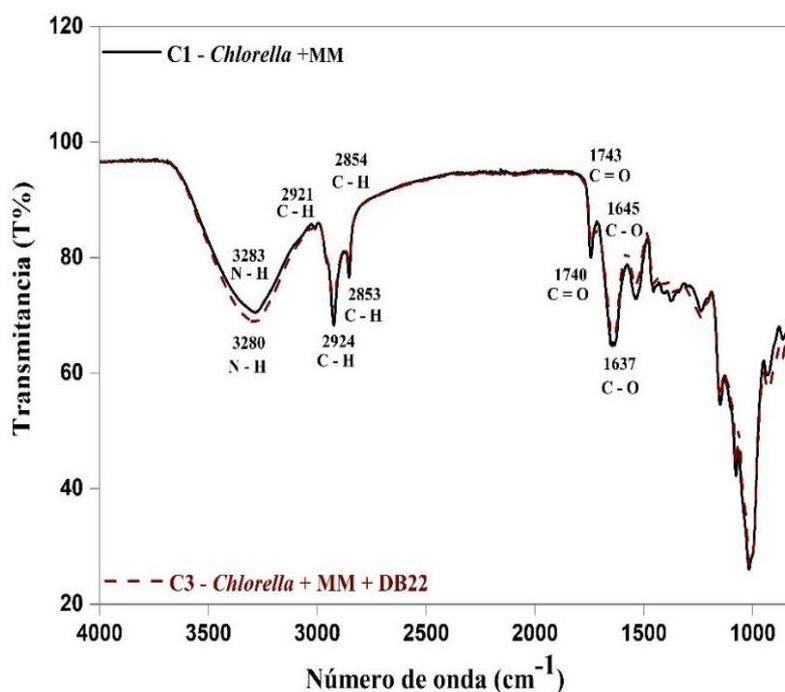
O teste de FTIR realizado com a biomassa colhida no final do experimento valida os resultados obtido pelo teste enzimático, uma vez que, as bandas de grupos funcionais como o N-H, grupo indicativo da presença de aminas aromáticas, foram detectadas na faixa 3500-3000 cm^{-1} (Figura 9). Faixas de absorbância no infravermelho indicam possíveis grupos funcionais (N-H) existentes na biomassa microalgal. Para aminas aromáticas primárias ou secundárias a banda de estiramento é de 1500-1000 cm^{-1} (Rosa *et al.*, 2018; Soto-Ramírez *et al.*, 2021).

O aparecimento de vibrações N-H na condição C3 ocorreu na banda de estiramento 3280 cm^{-1} e para C1 foi 3283 cm^{-1} , indicando que a condição C3 promoveu a remoção do corante DB22, gerando grupos N-H como subproduto de degradação, como pode ser verificado na Figura 8 (Baudelet *et al.*, 2017; Mahendra Kumar *et al.*, 2018; Rosa *et al.*, 2018).

Os testes de FTIR foram realizados com a biomassa final visando validar os resultados obtidos pelo teste enzimático, uma vez que as microalgas indicam a presença enzimas potencialmente azo redutoras. Para que ocorra a remoção é necessário obrigatoriamente que

grupos funcionais estejam presentes (N-H, C-H), estes, são indicadores por meio da quebra da molécula do corante azo, o que corrobora com o presente estudo, no qual a biomassa da *Chlorella vulgaris* apresentou enzimas e células capazes de gerar subprodutos de degradação do corante DB22 (Figura 8 e Figura 9).

Figura 9 - FTIR da biomassa após 17 dias de experimento. C1 (*C. vulgaris* e meio Bold's basal) e C3 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal e corante DB22)



Fonte: A autora (2025).

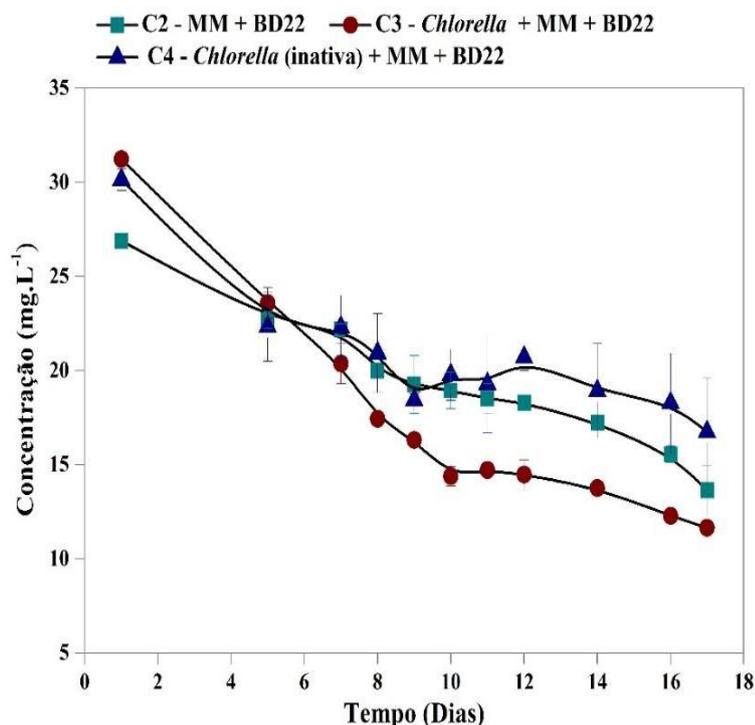
5.1.3 Remoção do corante tetra azo DB22 (*Chlorella vulgaris*)

A avaliação da remoção biológica do corante foi realizada na condição C3 (*C. vulgaris*, meio basal Bold, DB22 adicionado). Além disso, para avaliar a contribuição da remoção físico-química por fotodegradação e adsorção, foram realizados testes com o corante no meio basal Bold sem a presença de microalgas (C2) e na presença de microalgas inativadas (C4).

Na presença do DB22 e de microalgas vivas ativas (C3), a remoção do DB22 foi de $62,6 \pm 1,46\%$. No entanto, essa remoção pode ser atribuída à combinação dos processos de fotodegradação (remoção devido à reação química causada pela exposição à luz), degradação

enzimática, degradação química e adsorção na biomassa. Os processos de fotodegradação, degradação química e adsorção juntos contribuíram para uma remoção de $49,4 \pm 6,4\%$ (Figura 10), conforme observado em C4 (*C. vulgaris* inativa, com luz). C2 (sem *C. vulgaris*, com luz) mostrou que a remoção correspondente à fotodegradação e degradação química na ausência de *C. vulgaris* foi de $47,7 \pm 7,2\%$. Isso também indica que a contribuição da adsorção na biomassa de microalgas foi pequena, apenas $1,7 \pm 1,3\%$. Portanto, a remoção enzimática em C3 foi responsável por $13,2 \pm 6,5\%$ do total de $62,6 \pm 1,46\%$ de remoção do DB22. Embora o experimento C3 tenha mostrado uma eficiência de remoção maior que C2 e C4, não houve diferença significativa entre as médias desse experimento no nível de $p < 0,05$ usando o teste ANOVA. No entanto, observou-se que a presença de microalgas ativas diminuiu a concentração de DB22 no meio.

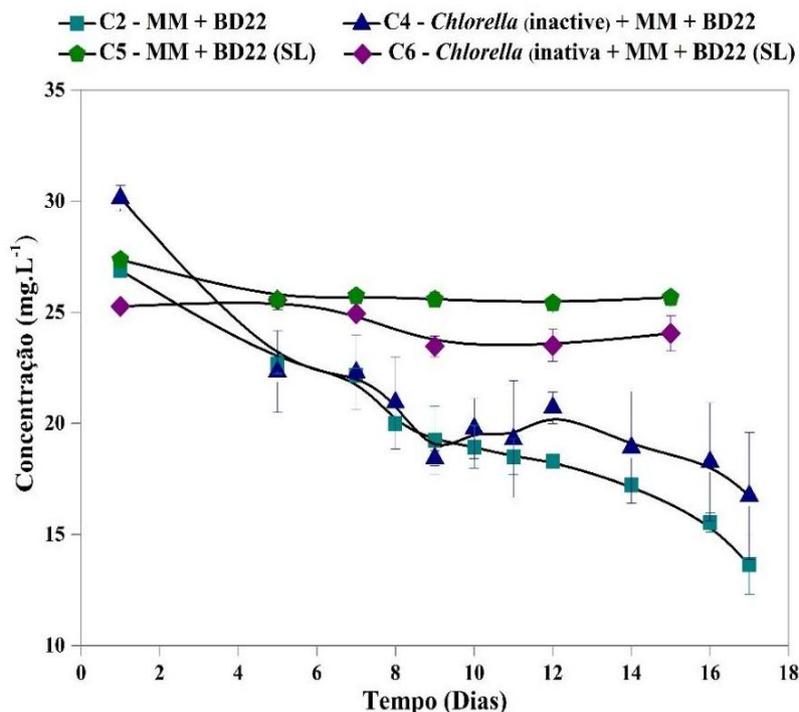
Figura 10 – Concentração em 475 nm em C2 (Meio Bold's basal e corante DB22); C3 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal e corante DB22) e C4 (*C. vulgaris* (Inativa), meio Bold's basal e corante DB22) durante o período de experimento.



Fonte: A autora (2025).

Para investigar a contribuição majoritária da exposição à luz na remoção do DB22, foram realizados testes na ausência de luz (C5 e C6). Os resultados obtidos são apresentados na Figura 12.

Figura 11 - Concentração em 475 nm em C2 (Corante DB22 e meio Bold's basal); C4 (*C. vulgaris* (Inativa), meio Bold's basal e corante DB22); C5 (Corante DB22, meio Bold's basal (sem iluminação)) e C6 (*C. vulgaris* (Inativa), meio Bold's basal (sem iluminação)) durante o período de experimento.



Fonte: A autora (2025).

Os testes realizados sem luz (C5 e C6) apresentaram uma remoção baixa do DB22 ($4,1 \pm 3,9\%$ e $4,3 \pm 1,5\%$, respectivamente). Testes como os realizados nas condições C2, C5 e C6 não foram relatados anteriormente na literatura, o que torna este estudo promissor para elucidar a remoção de corantes azo em sistemas de cultivo fechado de microalgas. Esses dados mostram que, diferentemente da atividade biológica relatada em estudos similares, a remoção do corante azo neste estudo derivou predominantemente da fotodegradação. O teste ANOVA entre as condições C2, C4, C5 e C6 mostrou diferenças significativas com $p < 0,05$ para os experimentos sob influência da luz, demonstrando que o DB22 sofre processos de fotodegradação neste estudo.

Corantes azo podem sofrer fotodegradação direta e indireta. Em reações fotoquímicas diretas, o mecanismo mais provável neste estudo, as moléculas do corante absorvem luz e são

excitadas para um estado energizado, levando a reações intra ou intermoleculares (Jaiswal *et al.*, 2022).

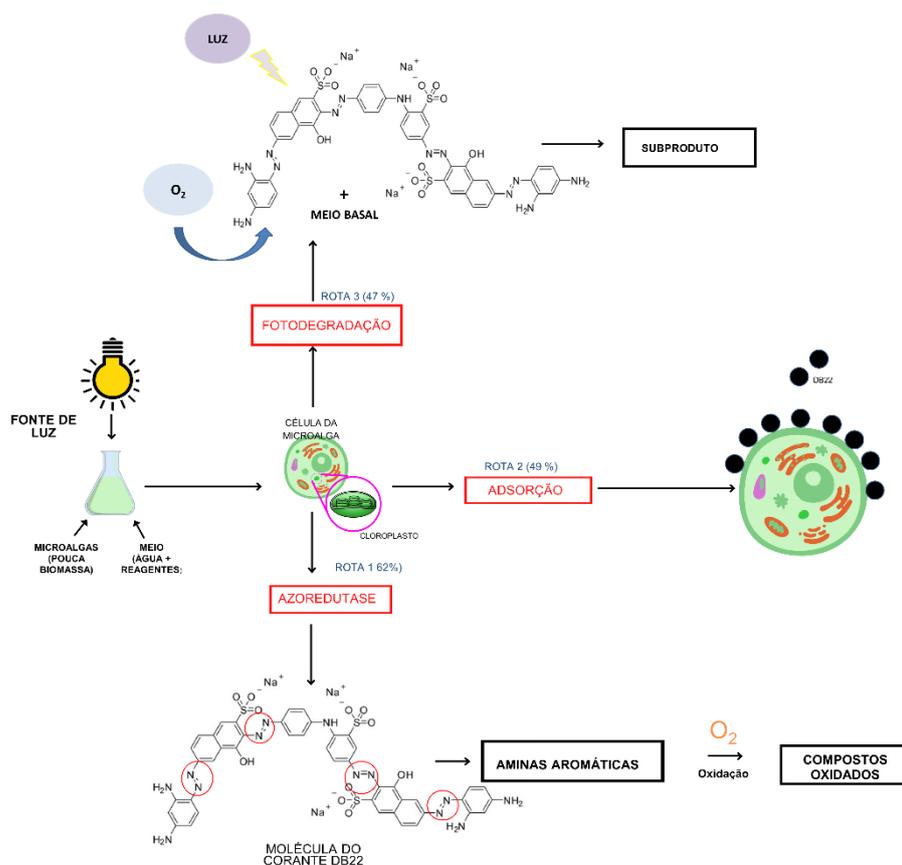
As reações físico-químicas responsáveis pela remoção do corante não levaram à formação de aminas aromáticas, pois nenhum aumento foi detectado na absorbância na faixa de comprimento de onda correspondente às aminas aromáticas na varredura UV-Vis (200–350 nm) (Pinheiro *et al.*, 2004). Testes cromatográficos foram realizados para determinar aminas como anilina e ácido sulfanílico, além de ácido benzoico e catecol, compostos intermediários da degradação de corantes azo, e nenhum dos compostos foi detectado. (Sun *et al.*, 2015; Arora, 2015).

Aminas aromáticas são produzidas como compostos intermediários da degradação anaeróbia de corantes azo e são conhecidas por apresentarem toxicidade igual ou superior à dos corantes azo, além de muitas destas aminas serem cancerígenas (Dellamatrice *et al.*, 2017; Pinheiro *et al.*, 2004; Puvaneswari *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2007; Tu *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023).

Desta forma, pode-se inferir que a remoção do corante DB22 neste experimento ocorreu por meio de três possíveis rotas: enzimática (biológica – $13,2 \pm 6,5$ %), adsorção ($1,7 \pm 1,3$ %) e fotodegradação ($43,46 \pm 6,4$ %), como pode ser visualizado na Figura 11.

A fotodegradação teve papel preponderante na remoção do DB22, considerando que uma das prováveis rotas de remoção do corante ocorreu por via química, buscou-se confirmar a ocorrência de fotocatalise nos sistemas por meio de testes sem a presença de luz (C5 e C6). Os resultados obtidos são apresentados na Figura 12.

Figura 12 - Rotas de degradação do DB22 na presença da microalga *C. vulgaris*.



Fonte: A autora (2025).

Os resultados obtidos na condição C4, com DB22 e microalga inativa, na presença de luz, indicaram percentual total de remoção de corante de 49,4%, demonstrando que houve remoção de corante na ausência de biomassa ativa, correspondendo, portanto, à soma da remoção por adsorção na biomassa, fotodegradação e degradação química. Considerando que a remoção por fotodegradação foi de $49,4 \pm 6,4\%$, a contribuição real da adsorção (biomassa + fotoreator) foi apenas de $1,7 \pm 9,6\%$ (Figura 10).

A interação da luz com o oxigênio tornou possível a ocorrência da fotodegradação com os componentes do meio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl , Na_2EDTA , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, MoNO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). A reação química da fotodegradação na presença da luz. (El-Sheekh *et al.* 2018; Jaiswal *et al.*, 2022; Pena *et al.*, 2020; Santhanam *et al.*, 2017; Vu Nu *et al.*, 2022).

A utilização da luz nas condições observadas foi o fator preponderante para degradação do corante, visto que a fotodegradação resulta do contato do adsorvato e o adsorvente. O processo de fotodegradação ocorreu pela adsorção do corante pelo ativador (luz) (JAISWAL *et al.* 2022). Sem a presença da luz o corante permanece em mistura estável, não ocorrendo nenhuma reação relevante, tanto para o início (dia 0) quanto para o fim do experimento (dias 17 e 15).

5.1.4 Avaliação da Toxicidade

A avaliação da toxicidade de processos de degradação envolvendo corantes têxteis foi importante para consolidar sua eficiência, uma vez que, os compostos intermediários da degradação de corantes podem ser mais tóxicos do que o próprio corante (Ali *et al.*, 2020; Al-Tohamy *et al.*, 2022; Katheresan *et al.*, 2018; Oyeniran *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2020). No presente estudo, foi realizado teste com o bioindicador *A. cepa*, visando avaliar a toxicidade e a citogenotoxicidade do DB22 e dos subprodutos gerados no processo de degradação.

Nenhuma amostra diferiu estatisticamente do controle negativo (índice germinativo/IG: 72,0±9,89%; crescimento médio das raízes/CMR: 0,65±0,16 cm), com variações de 59–73,5% (IG) e 0,57–0,65 cm (CMR), indicando ausência de toxicidade (Tabela 7).

Tabela 7 - Ensaio com sistema-teste *Allium cepa* após 72 h de exposição das sementes a amostras de tratamentos de biodegradação do corante DB22, utilizando *Chlorella vulgaris*, avaliando dados de índice de germinação (IG), comprimento médio das raízes (CMR), índice mitótico (IM) e índice de alteração cromossômica (IAC)

| Tratamento | IG (%) | CMR (cm) | IM (%) | IAC (%) |
|------------|-----------|-----------|-------------|------------|
| CN | 72,0±9,89 | 0,65±0,16 | 16,14±4,62 | 2,12±0,66 |
| TRI | - | - | - | 7,18±4,17* |
| C1 | 73,5±14,3 | 0,62±0,10 | 19,26±8,77 | 2,78±1,09 |
| C2 | 59,0±6,63 | 0,57±0,21 | 19,48±4,10 | 2,82±0,89 |
| C3(i) | 79,0±1,1 | 0,60±0,19 | 25,12±4,72* | 3,56±1,50* |
| C3(f) | 67,5±8,29 | 0,65±0,17 | 27,32±3,83* | 2,56±0,95 |

Nota: CN (Controle negativo), C1 (*C. vulgaris* e meio Bold's basal), C2 (Corante DB22 e meio Bold's basal) e C3 (*C. vulgaris*, meio Bold's basal e corante DB22). * representam diferença significativa em relação a CN de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: A autora (2025).

Por outro lado, em relação à análise da citotoxicidade, constatou-se um estímulo significativo do índice mitótico (IM) para as amostras de C3 tanto para inicial C3(i) (25,1%) quanto final, C3(f) (27,3%), demonstrando ação citotóxica do tipo desordenada na divisão das células quando comparada ao CN (16,1%). Nas amostras com *C. vulgaris* na presença do corante, C3(i) e C3(f), os resultados de IM indicam que a citotoxicidade não foi reduzida do

meio, mesmo após 62,6% de remoção do corante. Essa relação sugere que o corante não é o único fator responsável, uma vez que em C2 não foi observada diferença em relação ao CN. A interação entre a microalga, o corante e o próprio processo de tratamento que envolve oxigênio e luz, podem ter refletido neste resultado. Mathur *et al.* (2007); Zhang *et al.* (2019) e Domingues *et al.* (2020) observaram em seus estudos, utilizando os sistema teste *A. cepa*, que efluentes têxteis após tratamentos ainda podem apresentar citotoxicidade.

Na análise da genotoxicidade, por sua vez, medida por meio do índice de alterações cromossômicas (IAC), tanto o controle positivo TRI (7,18%) quanto C3(i) (3,56%) apresentaram diferenças significativas em comparação ao CN (2,12%), enquanto C1, C2 e C3(f) foram semelhantes estatisticamente em relação ao CN, apresentando IAC de 2,78%, 2,82% e 2,56%, respectivamente (Tabela 7).

A concentração inicial do corante azo DB22 no meio (65 mg. L⁻¹) pode explicar a genotoxicidade em C3(i). Pode ter sido induzida alterações do material genético nuclear das células meristemáticas de *A. cepa*, diferente do observado em C3(f), na qual não se observou a ação genotóxica, provavelmente pela redução da concentração do corante no meio. Resultados semelhantes foram reportados na literatura, na qual se encontrou aumento significativo na frequência de alterações cromossômicas em efluentes têxteis sem tratamento, quando comparados ao controle negativo (Caritá, Marin-Morales 2008; Domingues *et al.*, 2020).

O presente estudo demonstrou o potencial da condição C3 (*C. vulgaris*, DB22 e meio de cultivo) em remover o DB22, em sistemas de cultivo fechado. A microalga *C. vulgaris* possui capacidade de adaptação e crescimento fácil na presença do corante tetra azo Direct Black-22 (DB22). A toxidade neste experimento não se mostrou um fator preponderante para o crescimento da *C. vulgaris*. Ainda que o corante DB22 não tenha induzido toxicidade, cito e genotoxicidade foram observadas na presença do corante quando na concentração inicial elevada (C3(i)).

5.2 EXPERIMENTO 02 – *Tetradismus obliquus*

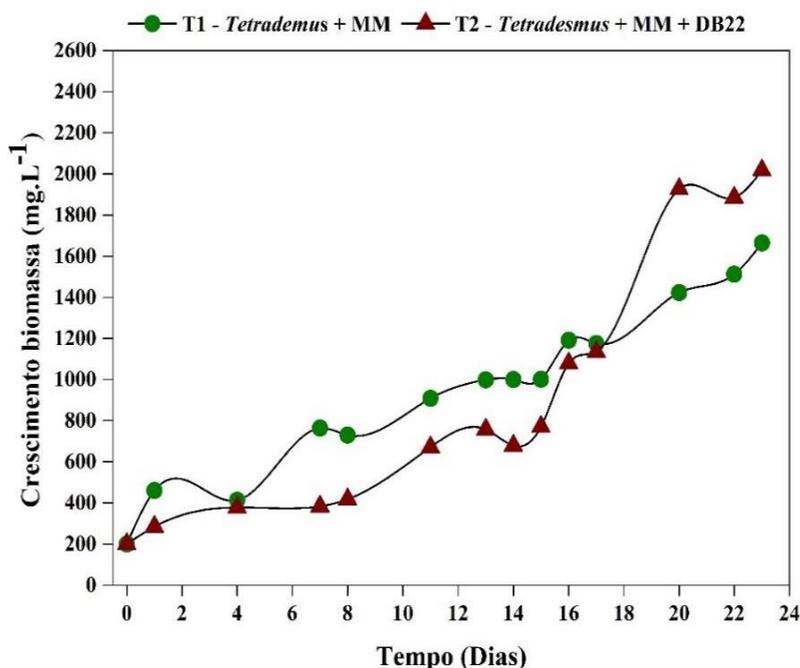
5.2.1 Efeito do corante tetra azo DB22 no crescimento da microalga *Tetradismus obliquus*

A Figura 13 apresenta a variação da biomassa de *T. obliquus* ao longo dos 23 dias de cultivo. Durante esse período, observou-se crescimento tanto na ausência do corante DB22, em

T1 (*T. obliquus* no meio BG-11), quanto na presença do corante, em T2 (*T. obliquus* no meio BG-11 com DB22). Como é comum em cultivos de microalgas, a biomassa em T1 e T2 passou por uma fase de adaptação.

Por volta do 10º dia, atingiu aproximadamente 800 mg L⁻¹, quadruplicando a concentração inicial de 200 mg L⁻¹ (Figura 13). Após o período de adaptação a biomassa continuou a aumentar, apresentando em T1 concentração final de biomassa 1600 mg L⁻¹ e T2 de 2000 mg L⁻¹. Assim como no experimento 01 (*C. vulgaris*), os testes com a microalga *T. obliquus* obtiveram maior produção de biomassa quando o crescimento ocorreu na presença do corante.

Figura 13 – Taxa de crescimento da biomassa em T1 (*T. obliquus*, meio BG-11) e para T2 (*T. obliquus*, meio BG-11 e corante DB22), obtidos em 650 nm, durante o período de experimento



Fonte: A autora (2025).

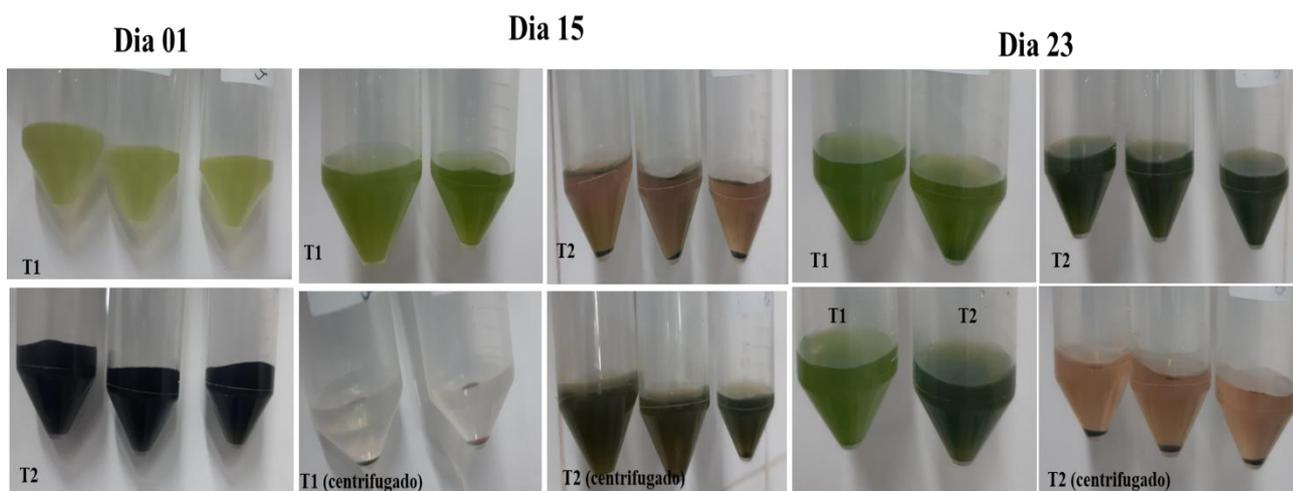
A partir do 16º dia, a biomassa cresceu de forma significativa em ambas as condições, com T2 superando T1. O aumento mais acentuado em T2 pode ser associado à ação enzimática que ocorre extracelularmente, atuando principalmente na assimilação de nutrientes e na regulação do metabolismo celular. Enzimas como nitrato redutase, fosfatase e urease são produzidas pelas próprias microalgas e participam da conversão de nutrientes inorgânicos (como nitrato, fosfato e ureia) em formas assimiláveis, facilitando o seu aproveitamento para a biossíntese celular e, conseqüentemente, promovendo o crescimento algal (Yadav *et al.*, 2020), de forma semelhante ao ocorrido no experimento 1.

O crescimento estabilizou próximo aos dias finais, com T2 alcançando aproximadamente 2000 mgL^{-1} e T1, 1600 mgL^{-1} . O diferencial de 400 mg L^{-1} reforça que o corante contribuiu para maior produção de biomassa.

No dia 1, T2 apresentou coloração preta intensa (DB22), enquanto no dia 23, a solução tornou-se verde-escura (devido à biomassa algal). Além disso, observou-se coloração sugestiva de processos de auto-oxidação em T2 após centrifugação (Figura 14), fenômeno também verificado nos Experimentos 1 e 3 (Figuras 7 e 19).

A mudança de coloração observada neste estudo pode estar associada ao processo de degradação do corante. Inicialmente, a ligação do cromóforo azo pode ter sido quebrada por ação de enzimas azoreductases, diminuindo a coloração preta, levando à formação de aminas aromáticas. O meio então tende à coloração verde escuro em função do crescimento da biomassa algal (Ameen et al., 2021).

Figura 14 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1 e 23. T1 (*T. obliquus*, meio BG-11) e T2 (*T. obliquus*, meio BG-11 e corante DB22)



Fonte: A autora (2025).

A aeração contínua do meio favoreceu a auto-oxidação das aminas aromáticas, recompondo azo-dímeros e gerando compostos alaranjados. A coloração alaranjada observada em T2 após centrifugação (Figura 14) sugere auto-oxidação das aminas aromáticas, conforme reportado por (Menezes et al., 2019). Esse processo pode regenerar azo-dímeros, explicando a tonalidade distinta em relação ao controle (T1).

5.2.2 Avaliação da análise de FTIR

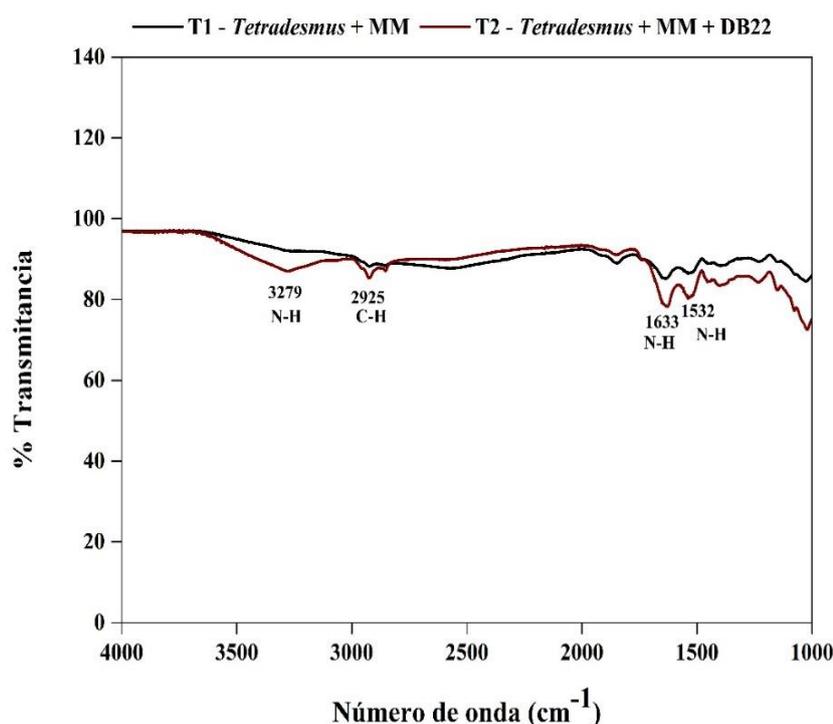
A avaliação da atividade enzimática da biomassa é essencial para compreender os mecanismos de degradação do DB22 pelas microalgas. Para que a ação enzimática ocorra, é necessário que grupos funcionais estejam presentes e se associem, promovendo a degradação do corante (C. Russel *et al.*, 2022).

Na ausência de corantes, a atividade enzimática é reduzida ou não detectável. O aumento na produção enzimática é relatado na literatura como um indicador da biodegradação de corantes. As microalgas ativam enzimas quando necessário para seu devido crescimento e nutrição (C. Russel *et al.* 2022; Duval *et al.* 2023).

Nas condições T1 e T2 a análise por FTIR foi realizada para identificação de bandas de estiramento de grupos funcionais como N-H (Figura 15). Em T1 não foram observadas bandas de grupos funcionais, enquanto em T2 foram observadas bandas correspondentes a vibrações de estiramento largo de N-H de 3279 cm^{-1} e vibrações em 2925 cm^{-1} correspondente ao grupo C-H (Figura 15).

As vibrações correspondentes ao grupo N-H também podem ser sobre bandas de dobramento na faixa $1610\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ (Baudelet *et al.*, 2017; Mahedra kumar *et al.*, 2018). No presente estudo as vibrações foram de $1633\text{-}1532\text{ cm}^{-1}$ (Figura 15).

Figura 15 - FTIR da biomassa após 23 dias de experimento. T1 (*T. obliquus*, meio BG-11) e T2 (*T. obliquus*, meio BG-11 e corante DB22)



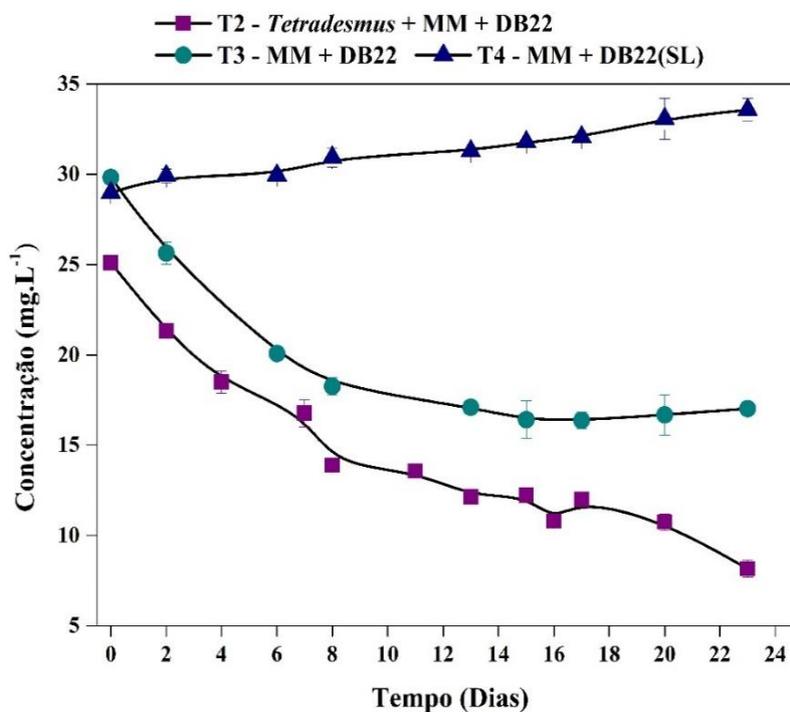
Fonte: A autora (2025).

5.2.3 Remoção do corante tetra azo DB22 (*Tetrademus obliquus*)

Para avaliar a remoção do DB22 durante o crescimento da microalga *T. Obliquus*, a eficiência de remoção foi analisada nas condições T2 (Biomassa + Meio + DB22), T3 (DB22 + Meio) e T4 (DB22 + Meio, sem luz) conforme Figura 16.

Na presença do DB22 e microalgas vivas ativas (T2), a remoção de DB22 foi de $67,2 \pm 2,1$ %. Apresentando, nesta condição, a melhor remoção que foi atribuída à combinação dos processos de biodegradação e fotodegradação (remoção devido a fotodegradação e ação da microalga viva ativa). Nas condições T3 e T4, em que foram avaliados os processos de fotodegradação (com presença e ausência de luz), contribuíram com $47,2 \pm 1,5\%$ e $0,0\%$ respectivamente (Figura 16).

Figura 16 - Concentração em 475 nm em T2 (*T. obliquus*, meio BG-11 e corante DB22), T3 (meio BG-11 e corante DB22) e T4 (meio BG-11 e corante DB22 – sem luz) durante o período de experimento



Fonte: A autora (2025).

Observou-se que T2 apresentou a maior eficiência ($67,2 \pm 2,1\%$), indicando que a combinação de biomassa, meio e luz foi determinante para a remoção do corante. Já a diferença entre T2 e T3 destaca o papel ativo da biomassa na remoção do corante, além de processos abióticos.

A ausência de remoção em T4 (0,0%) enfatiza a importância da luz, possivelmente pela sua contribuição em processos fotocatalíticos ou na ativação metabólica da biomassa. A remoção eficiente do corante em condições de luz indica uma combinação de processos metabólicos e fotocatalíticos (Vu Nu *et al.*, 2022; Khan *et al.* 2013; El-Sheekh *et al.*, 2018).

A fotodegradação que correspondeu a $47,2 \pm 1,5\%$ demonstraram que a fotodegradação pode alcançar eficiência na remoção de corantes (Huang *et al.*, 2022; El-Kalliny *et al.*, 2021). Por sua vez a degradação enzimática apresentou uma taxa de 20%, no entanto, em sistemas não otimizados ou com baixa densidade microbiana, os valores podem ficar em torno de 20%, como observado em estudos com sistemas de tratamento integrados (El-Shafei *et al.*, 2024; Khan *et al.*, 2022).

Enquanto que, a degradação química demonstrou-se pouco eficaz para a degradação de corantes azo. A estabilidade estrutural do grupo azo ($-N=N-$) dificulta sua quebra apenas com agentes químicos comuns, resultando, em muitos casos, em eficiências próximas de zero (Mousa *et al.*, 2021). Assim, embora métodos químicos ainda sejam utilizados como tratamento preliminar ou auxiliar, seu desempenho limitado evidencia a necessidade de integração com processos mais avançados, como a fotocatalise ou o uso de consórcios microbianos com capacidade enzimática elevada.

5.3 EXPERIMENTO 03 – *Arthrospira platensis*

O experimento a seguir verifica a capacidade de atuação da microalga *A. platensis* em relação ao seu crescimento e desenvolvimento com a presença do corante DB22 e suas reações químicas e biológicas.

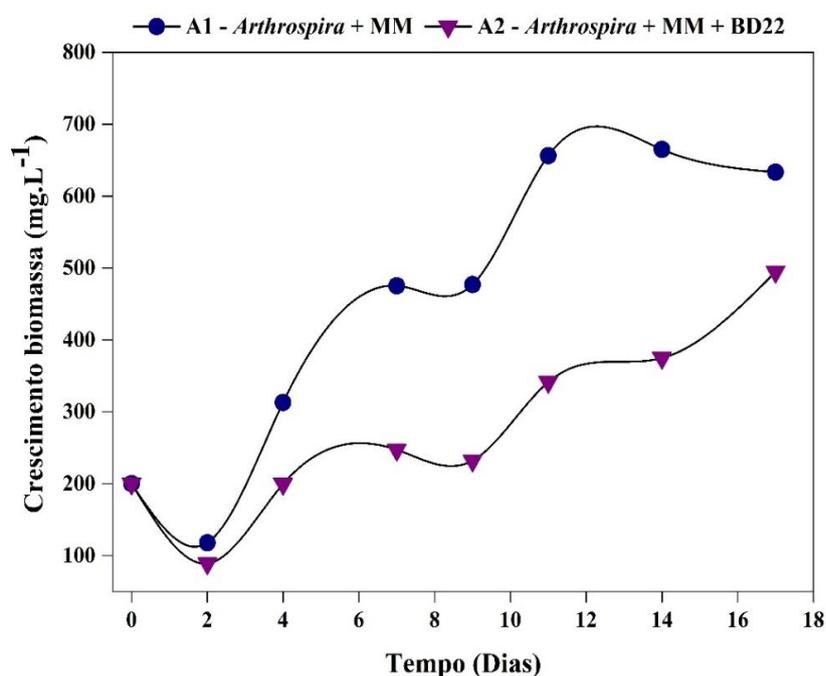
5.3.1 Efeito do corante tetra azo DB22 no crescimento da microalga Arthrospira platenses

A Figura 17 apresenta o crescimento da biomassa durante os 17 dias de experimento. Durante esse período, foram realizados dois ensaios: um sem exposição ao DB22, em A1 (*A. platensis* no meio Schlösser), e outro na presença do corante, em A2 (*A. platensis* no meio Schlösser com DB22).

Nos primeiros dias, as células apresentaram desenvolvimento lento (fase lag), seguido por um crescimento reduzido e perda celular entre o segundo e terceiro dia (Figura 17), possivelmente devido à adaptação metabólica, independentemente da presença do corante. A partir do quarto dia, a biomassa entrou em fase exponencial, estabilizando-se posteriormente (fase estacionária).

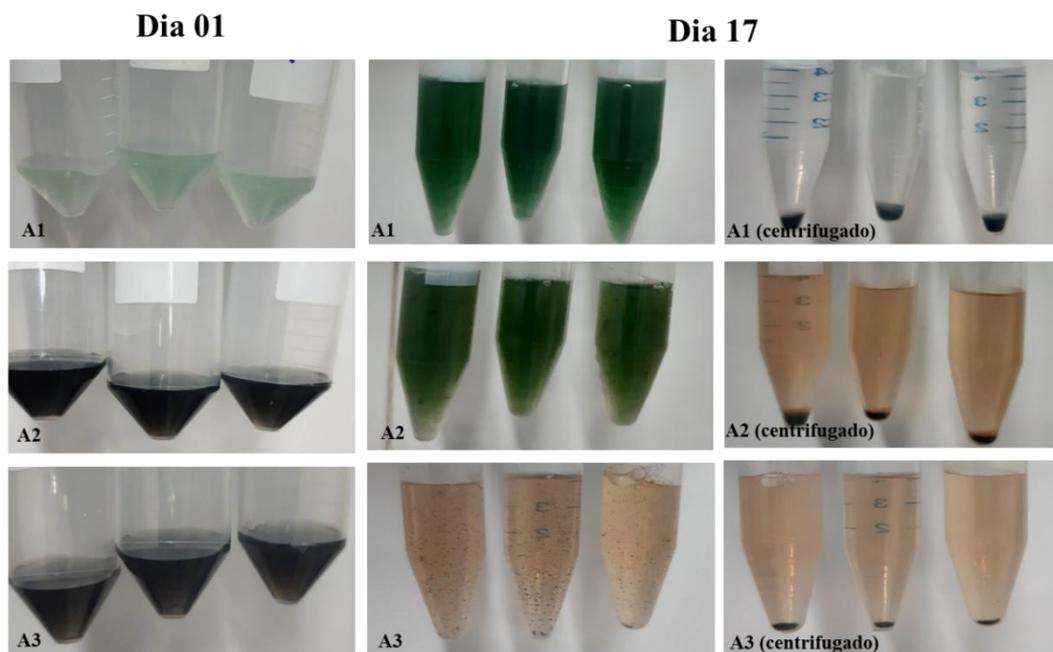
Durante o experimento a produção da biomassa aumentou de 200 mg L⁻¹ para aproximadamente 500 mg L⁻¹ em A2. Enquanto em A1 a biomassa foi de 200 mg L⁻¹ inicial para aproximadamente 650 mg L⁻¹. Apesar de apresentar maior crescimento da biomassa em A1, o que era esperado, em A2 o crescimento pode ser considerado satisfatório, visto que a microalga conseguiu se adaptar e crescer em condições de estresse para seu devido crescimento.

Figura 17 - Concentrações da biomassa para A1 (*A. platensis*, meio Schlösser) e para A2 (*A. platensis*, meio Schlösser e corante DB22), obtidos em 560 nm, durante o período de experimento



Fonte: A autora (2025).

Figura 19 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1 e 17. A1 (*A. platensis*, meio Schlösser), (*A. platensis*, meio Schlösser e corante DB22) e A3 (*A. platensis* (inativa), meio Schlösser e corante DB22)



Fonte: A autora (2025).

5.3.2 Remoção do corante tetra azo DB22 (*Arthrospira platensis*)

Para avaliar a remoção do corante no experimento 3, foi observada a redução da concentração do DB22 durante os 17 dias de experimento (Figura 20). A remoção foi de $66,2 \pm 4,3\%$ em A2 (*A. platensis* no meio Schlösser e corante DB22), $76,0 \pm 1,8\%$ em A3 (*A. platensis* (inativa) no meio Schlösser e corante DB22), $65,1 \pm 0,8\%$ em A4 (meio Schlösser e corante DB22) e $13,1 \pm 0,3\%$ em A5 (meio Schlösser e corante DB22, sem luz).

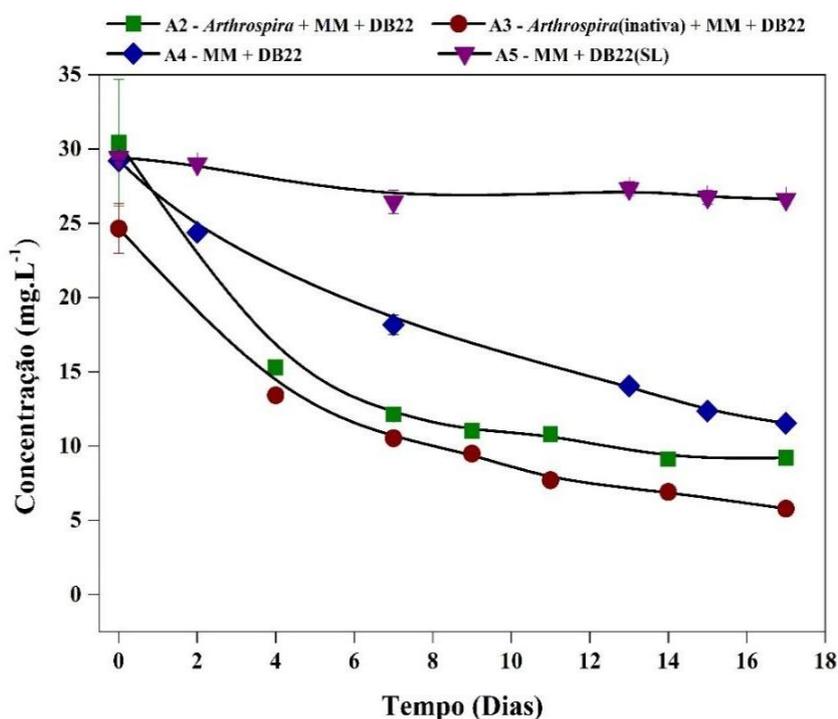
A remoção do DB22 começou a ser observada a partir do 4º dia, pois as células das microalgas estavam em fase de adaptação, tanto em A2 quanto em A3, conforme mostrado na Figura 20. Já para A4 e A5 os processos de remoção se deram pela capacidade de adaptação da microalga ao corante com o meio, na presença e na ausência de luz.

Na Figura 19, a descoloração visual do corante pode ser observada ao comparar o crescimento da biomassa entre o dia 01 e o dia 17. Em A2 e A3 (Meio, DB33 e *A. platensis* (inativa)), a cor inicial do corante foi substituída pela tonalidade da microalga no 17º dia.

Ainda na figura 19 é possível observar que ocorreu um possível auto-oxidação em A2 e A3 após centrifugação. Infere-se que ao atingir a degradação do corante o sobrenadante

adquire coloração avermelhada que possivelmente está associada a compostos intermediários, que advém do processo de degradação (Amorim *et al.*, 2020). Esta mesma observação ocorreu nos experimentos 1 e 2 (Figura 7 e 14).

Figura 20 - Concentração em 475 nm em A2 (*A. platensis*, meio Schlösser e corante DB22); A3 (*A. platensis* (inativa), meio Schlösser e corante DB22); A4 (meio Schlösser e corante DB22) e A5 (meio Schlösser e corante DB22 – sem luz) durante o período de experimento



Fonte: A autora (2025).

As possíveis rotas de degradação do DB22 (enzimática, adsorção e fotodegradação) que já foram apontadas durante os experimentos desse trabalho, também se mostraram evidentes no experimento 3. Na presença do corante e da luz a remoção do corante é evidente em porcentagens de 76%.

A remoção correspondente à adsorção (A3) foi de $10,9 \pm 0,8\%$, possivelmente decorrente da combinação dos processos de fotodegradação (remoção devido à adsorção, fotodegradação e degradação química) e adsorção.

A remoção correspondente à degradação química (meio Schlösser e corante DB22) foi de $65,1 \pm 0,8\%$. Já nos testes sem iluminação (A5), a remoção foi de $13,1 \pm 0,3\%$, que pode ser atribuído a degradação química (Vu Nu *et al.*, 2022).

Quando comparado com os experimentos 1, 2 e 4, o desempenho da microalga *A. platenses* na degradação do corante DB22 apresentou maior eficiência na degradação. Entretanto a auto-oxidação foi fortemente evidenciada, com o corante passando da cor preta para avermelhada, assim como observado no Experimento 1. Esse fenômeno pode ser atribuído à fotodegradação, que ocorre por meio de uma reação química (Vu Nu *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2013; Acuner E. *et al.*, 2004; El-Sheekh *et al.*, 2018).

Além disso, observou-se que a eficiência de remoção da cor por via biológica foi de $66,2 \pm 4,3\%$, o que é considerado uma boa contribuição, visto que todos os processos ocorrem de forma simultânea em todas as condições expostas no presente estudo.

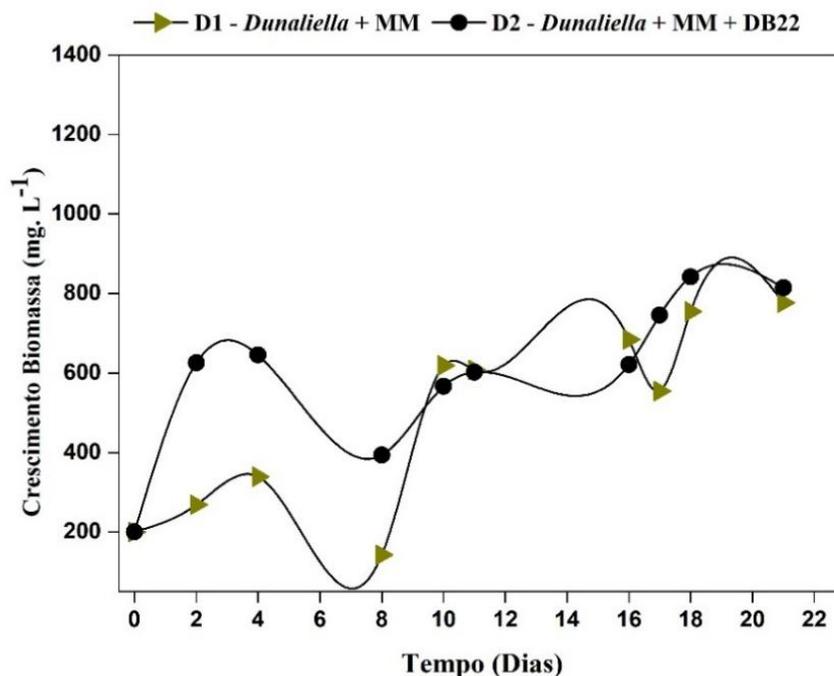
5.4 EXPERIMENTO 04 – *Dunaliella tertiolecta*

5.4.1 Efeito do corante tetra azo DB22 no crescimento da microalga *Dunaliella tertiolecta*

O cultivo foi realizado em duas condições distintas: microalga e meio de cultivo (D1) e microalga, meio de cultivo e DB22 (D2) (Figura 21). Os resultados mostram um comportamento atípico no crescimento da *D. tertiolecta*, com o rendimento da biomassa não seguindo o padrão observado nos experimentos anteriores. Esse fato pode ser atribuído às condições de alta salinidade e ao estresse imposto à cepa.

Durante todo o experimento as cepas cresceram de forma irregular apresentando baixas e altas concentrações em dias alternados. Esse comportamento foi confirmado tanto para o acompanhamento do crescimento por espectrofotometria (680 nm) quanto para contagem de células em microscópio.

Figura 21 - Concentrações da biomassa para D1 (*D. tertiolecta*, meio Bold's basal) e para D2 (*D. tertiolecta*, meio Bold's basal e corante DB22), obtidos em 680 nm, durante o período de experimento



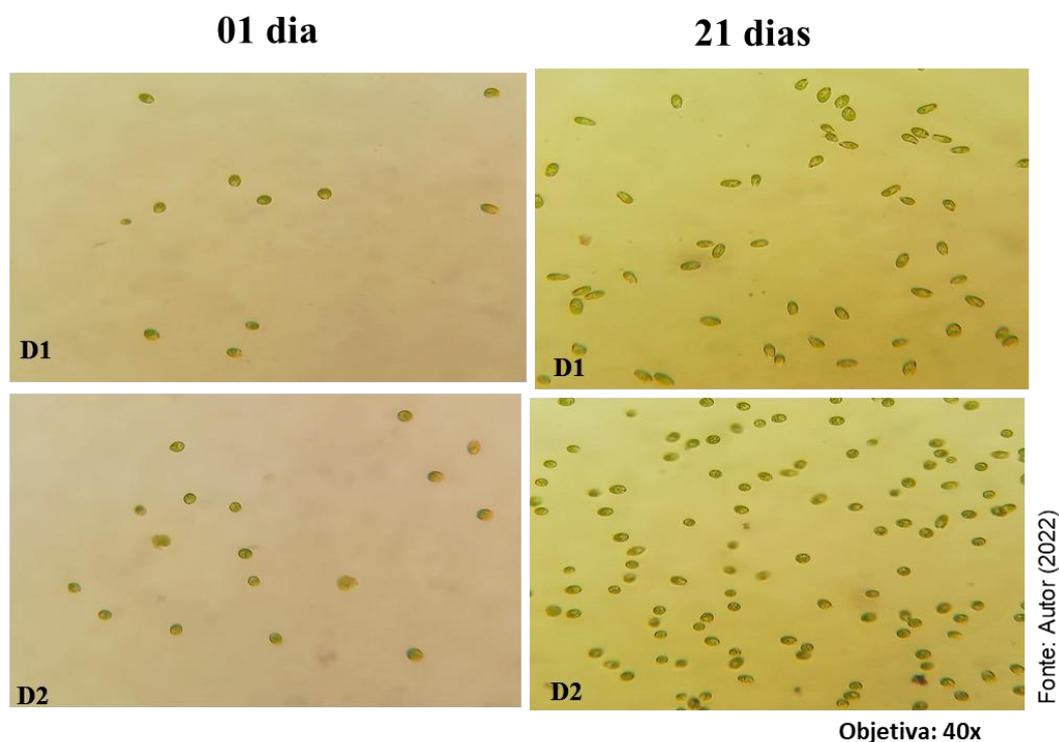
Fonte: A autora (2025).

Devido à instabilidade da biomassa, o experimento foi interrompido no 22º dia de amostragem, o que não interfere no objetivo esperado. A microalga *D. tertiolecta* demonstrou capacidade de sobrevivência e crescimento em presença de DB22, com aumento de biomassa de 200 mg L⁻¹ para 1200 mg L⁻¹ (D2). Enquanto em D1 a biomassa foi de 200 mg L⁻¹ inicial para aproximadamente 800 mg L⁻¹.

O crescimento em DB22 foi superior ao observado nos experimentos 1, 2, e reforça a capacidade de crescimento desse gênero em ambientes extremos. Células do gênero *Dunaliella* têm parede celular delimitada por uma membrana fina e elástica que permite uma adaptação morfológica mais eficiente, se adaptando às variações de pressão osmótica do meio externo (Barbosa *et al.*, 2023).

A produtividade da biomassa da *D. tertiolecta nas condições D2* (presença do corante DB22) e D1 (ausência do corante DB22) evidencia a capacidade que a espécie tem de se desenvolver em ambas as condições (Figura 22).

Figura 22 - Imagens de microscopia óptica apresentando as características morfológicas da *D. tertiolecta* nos dias 1 e 21 em D1 (*D. tertiolecta* e Meio Bold's basal) e em D2 (*D. tertiolecta*, meio Bold's basal e corante DB22)



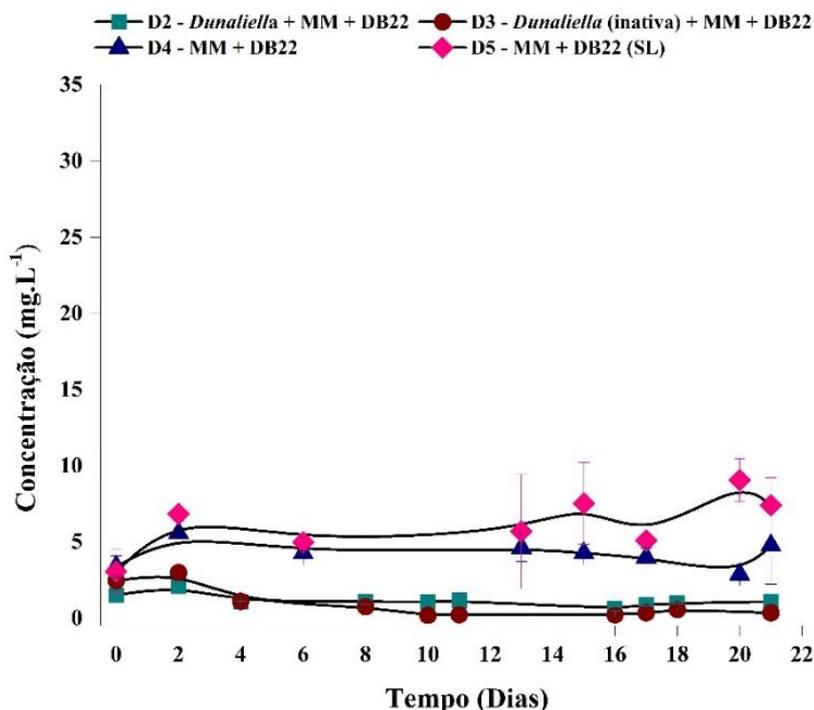
Fonte: A autora (2025).

Em cultivos convencionais, a biomassa estabiliza após três dias, o que não ocorreu com a *D. tertiolecta*. Isso pode ser atribuído a forma de crescimento em que foi submetida (condições de altas salinidades) o que comprometeu a verificação do crescimento, seja via espectrofotômetro ou por contagem em microscópio. Assim, não foi possível identificar a fase de estagnação, usualmente reportada em outros estudos (Javed *et al.*, 2022) e no Experimento 1 desta tese.

5.4.2 Remoção do corante tetra azo DB22 (*Dunaliella tertiolecta*)

A avaliação da remoção biológica do corante foi realizada na condição D2 (*D. tertiolecta*, meio Bold's basal e corante DB22). Para avaliar a contribuição da fotodegradação e da adsorção, foram realizados testes com o corante em meio Bold's Basal, sem a presença da microalga (D4) e com a presença da microalga inativada (D3). Além disso, para avaliar a fotodegradação, utilizou-se a condição sem luz (D5) (Figura 23).

Figura 23 - Concentração em 475 nm em D2 (*D. tertiolecta*, meio Bold's basal e corante DB22); D3 (*D. tertiolecta* (Inativa), meio Bold's basal e corante DB22); D4 (meio Bold's basal e corante DB22) e D5 (meio Bold's basal e corante DB22 – sem luz) durante o período



Fonte: A autora (2025).

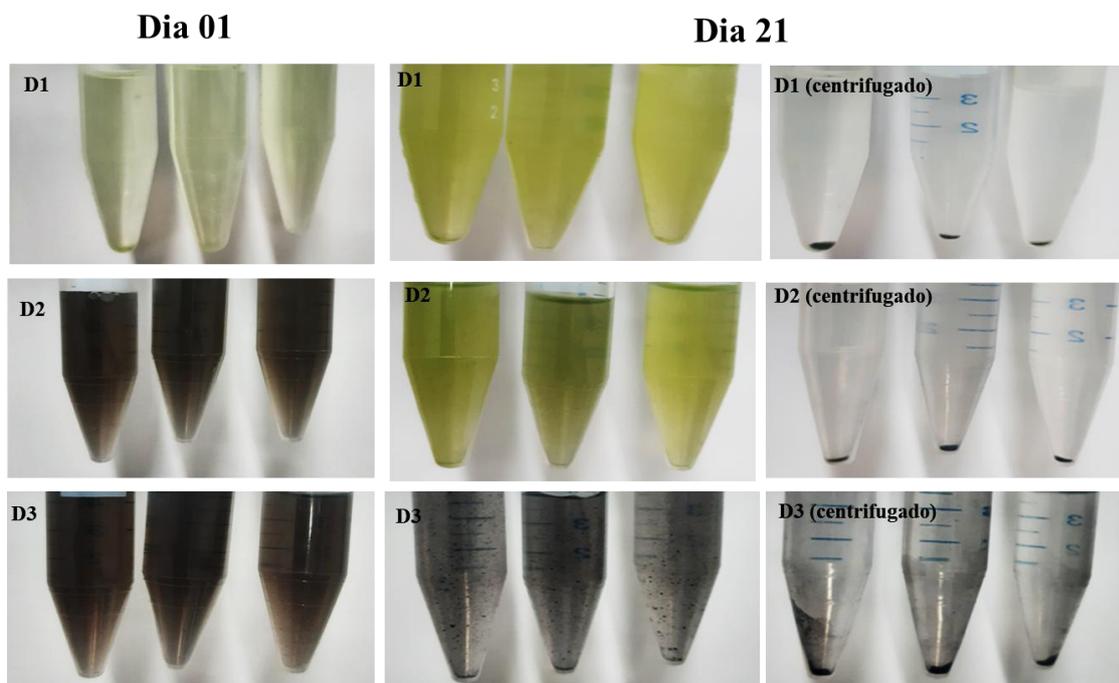
Contrariamente aos experimentos anteriores (1, 2 e 3), na presença do DB22 e microalgas vivas ativas (D2), a remoção de DB22 foi de $56,0 \pm 1,0$ %. Entretanto a parte da remoção que foi atribuída à combinação dos processos de fotodegradação (remoção devido a reação química da luz) e adsorção (D3) foi de $80,2 \pm 0,3$ %. A remoção correspondente a fotodegradação (D4 e D5) (meio Bold's basal e corante azo DB22 com e sem presença de luz) foi de 100,0 %, para ambos.

Sendo assim, quando nas condições em que houve ausência de microalgas (D4 e D5) a reação entre o corante e o meio foi imediata e resultou na completa remoção de cor desde o dia zero, sugerindo um processo de coagulação/sedimentação.

Quando ocorreu adição de microalgas (D2 e D3) verificou-se que em D2 (*D. tertiolecta*, meio Bold's basal e corante DB22) a microalga foi resistente a presença do corante desde o dia zero, apresentando crescimento de biomassa (Figura 24) até o dia final. Na condição D3, que teve como objetivo avaliar a adsorção do corante a biomassa, observou-se visualmente a adsorção do corante. No entanto, ao comparar as condições D2 e D3 no dia final é visivelmente

perceptível a redução da quantidade de material particulado formado na presença de microalgas vivas, podendo ser um indicativo de biodegradação do corante DB22.

Figura 24 - Demonstração da descoloração do corante DB22 nos dias 1 e 21. D1 (*D. tertiolecta* e meio Bold's basal); D2 (*D. tertiolecta*, meio Bold's basal e corante DB22) e D3 (*D. tertiolecta* (inativa), meio Bold's basal e corante DB22)



Fonte: A autora (2025).

A provável explicação para o fenômeno que ocorreu no experimento 4, se dá por uma remoção química imediata já no dia 0, fato observado quando é feita a centrifugação (Figura 23 e 24). Desta forma, esse processo pode ser explicado por uma competição entre íons do sal e as moléculas do soluto pela água, forçando o soluto a se separar da solução aquosa. Esse processo é chamado de salting-out, que é uma técnica de separação em que a adição de sais inorgânicos reduz a solubilidade de compostos orgânicos na água, promovendo sua precipitação ou cristalização.

Outro ponto para se observar é que, mesmo que o corante tenha passado pela hidrólise é possível que ao misturar com o meio altamente salino, tenha revertido a solubilidade do DB22 e dessa forma interferiu na degradação.

Quando o corante entra em contato com o meio ocorre uma forma de “coagulação” do DB22 e esta coagulação ocorre devido às concentrações elevadas dos cátions e ânions que neutraliza o corante formando um material particulado. O meio Bold adaptado possui sais em

concentrações descritas na metodologia (Tabela 2) assim como é conhecido que a água do mar possui concentrações de cátions e ânions que possivelmente reagiram com o corante em um processo físico-químico de coagulação, resultando na formação de material particulado (Figura 24).

A separação eficiente de corantes reativos em meio aquoso tem sido um desafio recorrente em processos de tratamento de efluentes industriais, especialmente devido à estabilidade estrutural desses compostos. Estudos recentes demonstram que a cristalização por salting-out é uma alternativa promissora, com elevada eficiência na recuperação de corantes como o Reactive Blue 49 (tipo antraquinona) e o Reactive Black 8 (tipo azo). Cho et al. (2009) desenvolveram um processo otimizado baseado na adição de sais inorgânicos que induzem a precipitação seletiva dos corantes, com rendimentos que chegaram a 70% e 90% para os corantes mencionados, respectivamente, sob condições específicas de temperatura, concentração salina e agitação.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação à capacidade de crescimento da microalga na presença do corante, os experimentos indicarem que todas as espécies de microalgas (*Arthrospira platensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorella vulgaris* e *Tetradesmus obliquus*) tiveram desenvolvimento satisfatório na presença do corante tetra azo *Direct Black 22* com capacidade de adaptação e alta taxa de crescimento. Também não foram observadas alterações morfológicas nas células das microalgas durante os experimentos. Entretanto, em relação à microalga *Dunaliella tertiolecta*, o crescimento da biomassa não teve relação direta com a degradação do corante.

Em relação à remoção/biodegradação para avaliar a eficiência do tratamento com as microalgas, foi possível inferir que o desempenho das espécies variou conforme as condições de meio e luminosidade. Para a espécie *Chlorella vulgaris*, a adsorção (C4) de $49,4 \pm 6,4$ % está associada a processos de reação química e fotocatalítica. Enquanto a fotodegradação (C2) de $47,7 \pm 7,2$ % foi atribuída a interação da luz com o meio de cultivo utilizado.

Para a espécie *Tetradesmus obliquus*, a parte correspondente à fotodegradação foi de $42,7\% \pm 1,5\%$ (T3), a biodegradação foi de $67,1 \pm 2,1\%$ (T2). Para a espécie *Arthrospira platensis* a representação da biodegradação foi de $66,2 \pm 4,3\%$ (A2) enquanto a fotodegradação foi de $52,0 \pm 1,8\%$ (A3) e a adsorção foi $10,9 \pm 0,8\%$ (A4). Para a espécie *Dunaliella tertiolecta*, a remoção por via da biodegradação foi de $56,0 \pm 1,0$ % (D2) e a remoção preponderante foi devido ao processo imediato de coagulação (químico) que foi de 100,0 % (D4 e D5).

Testes como os realizados nas condições propostas, neste estudo, não foram reportados na literatura; portanto, não foi encontrado nenhum relato da ocorrência dessa condição (Meio e DB22). Isso confere caráter inovador aos resultados, abrindo perspectivas para estudos mais aprofundados sobre os mecanismos de remoção do DB22.

Os resultados evidenciam a necessidade de avaliar de forma integrada os processos simultâneos de biodegradação, fotodegradação, degradação química e adsorção, uma vez que esses mecanismos podem apresentar interações sinérgicas ou antagônicas.

O presente estudo trouxe avanços para os processos de biorremediação com corantes azo, com testes enzimáticos e fotocatalíticos. Embora a literatura ainda não reporte a importância da fotodegradação em sistemas com microalgas, este estudo demonstrou sua relevância para a biorremediação de corantes azo, combinando testes enzimáticos e fotocatalíticos.

A toxicidade que foi avaliada no experimento 1 não se mostrou um fator preponderante para o crescimento da *C. vulgaris*. Ainda que o corante DB22 não tenha induzido toxicidade, cito e genotoxicidade foram observadas na presença do corante quando na concentração inicial elevada (C3(i)).

De forma geral, o desenvolvimento de todas as espécies em relação ao corante contribuiu para elucidar os conhecimentos desse tipo de tratamento do DB22, visto que, o corante em questão tem difícil degradação por processos biológicos. As microalgas foram resistentes a presença do corante de forma a levantar a possibilidade de estudos mais aprofundados.

REFERÊNCIAS

ABIT. São Paulo: ABIT, 2025. Disponível em: <http://www.abit.org.br/Home.aspx>. Acesso em 21 fev. 2025.

AGUIAR, G. J. A. *et al.* Use of life cycle assessment as a tool to evaluate the environmental impacts of textile effluents: a systematic review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 1, p. 1, 2023.

AHMAD, A. *et al.* Recent advances in new generation dye removal technologies: novel search for approaches to reprocess wastewater. **RSC advances**, v. 5, n. 39, p. 30801-30818, 2015.

ALABI, O. *et al.* Application of wet-torrefied microalgal biochar for adsorption of methylene blue and congo red from aqueous solutions. **International Journal of Phytoremediation**, 2024.

AL-TOHAMY, R. *et al.* A critical review on the treatment of dye-containing wastewater: Ecotoxicological and health concerns of textile dyes and possible remediation approaches for environmental safety. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 231, p. 113160, 2022.

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

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. **Water Science and Technology**, v. 76, n. 12, p. 3319-3327, 2017.

AMEEN, F. *et al.* Degradation of synthetic azo dyes of textile effluents by fungal biosorbents: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 28(2), 1433-1440, 2021.

AMIN, H. *et al.* Treatment of textile waste water using H₂O₂/UV system. **Physicochemical Problems of Mineral Processing**, v. 42, p. 17-28, 2008.

AMORIM, S. M. *et al.* Influence of redox mediators and electron donors on the anaerobic removal of color and chemical oxygen demand from textile effluent. **Clean-Soil, Air, Water**, v. 41, n. 9, p. 928-933, 2013.

AMORIM, N. D. O. *et al.* Direct Red 83 textile dye degradation using photoperoxidation and photo-Fenton: kinetic studies, toxicity and neural networks modeling. **Ciência e Natura**, 42, e41, 2020.

ARAÚJO, G. S. *et al.* Nutrient removal by *Arthrospira platensis* cyanobacteria in cassava processing wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101826, 2021.

ARAÚJO, S. *et al.* Biological treatment of real textile wastewater containing sulphate, salinity, and surfactant through an anaerobic-aerobic system. **Water Science and Technology**, v. 1, p. 1, 2022.

- ARORA, P. K. Bacterial degradation of monocyclic aromatic amines. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 820, 2015.
- ASAD, S. *et al.* Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. **Bioresource technology**, v. 98, n. 11, p. 2082-2088, 2007.
- ASGHAR, A.; RAMAN, A. A. A.; DAUD, W. M. A. W. Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: a review. **Journal of cleaner production**, v. 87, p. 826-838, 2015.
- ASSIS NETO, D. Q. *et al.* Potencial biorremediador da microalga *Chlorella vulgaris* BEIJERINCK em meio composto por águas residuárias. **Águas Subterrâneas**, v. 35, n. 3, 2021.
- AYELE, A. *et al.* Phycoremediation of synthetic dyes: an effective and eco-friendly algal technology for the dye abatement. **Journal of Chemistry**, v. 2021, n. 1, p. 9923643, 2021.
- BAETA, B. E. L. *et al.* Evaluation of soluble microbial products and aromatic amines accumulation during a combined anaerobic/aerobic treatment of a model azo dye. **Chemical engineering journal**, v. 259, p. 936-944, 2015.
- BARBOSA, M. *et al.* The microalga *Dunaliella* and its applications: a review. **Applied Phycology**, v. 4, n. 1, p. 99-120, 2023.
- BAROUKH, C. *et al.* Dynamic flux balance analysis of the metabolism of microalgae under a diurnal light cycle. **IFAC-PapersOnLine**, v. 49, n. 7, p. 791-796, 2016.
- BAUDELET, P.H. *et al.* A new insight into cell walls of Chlorophyta. **Algal Research**, v. 25, p. 333-371, 2017.
- BEHL, K. *et al.* One-time cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in aqueous dye solution supplemented with biochar for microalgal growth, dye decolorization and lipid production. **Chemical Engineering Journal**, v. 364, p. 552-561, 2019b.
- BEHL, K. *et al.* Performance evaluation of isolated electrogenic microalga coupled with graphene oxide for decolorization of textile dye wastewater and subsequent lipid production. **Chemical Engineering Journal**, v. 375, p. 121950, 2019a.
- BHATIA, S. C.; DEVRAJ, S. **Pollution control in textile industry**. WPI publishing, 2017.
- BHATNAGAR, A.; KUMAR, E.; SILLANPÄÄ, M. Fluoride removal from water by adsorption—a review. **Chemical engineering journal**, v. 171, n. 3, p. 811-840, 2011.
- BISCHOFF, H. W. Phycological studies. IV. Some Algae from Enchanted Rock and Related Algal Species. **Univ. Texas Publ.**, v. 6318, p. 95, 1963.
- BONYADI, S.; AZIZI, M.; ZAMANI, M. Biosorption of Malachite Green Dye over *Spirulina platensis* Biomass Using Box–Behnken Design Optimization. **Applied Water Science**, 12(167), 2022.

CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 19, p. 360-369, 2013.

CARDOSO, N. F. *et al.* Comparison of *Spirulina platensis* microalgae and commercial activated carbon as adsorbents for the removal of Reactive Red 120 dye from aqueous effluents. **Journal of hazardous materials**, v. 241, p. 146-153, 2012.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722-725, 2008.

CARMEN, Z.; DANIELA, S. **Organic pollutants ten years after the Stockholm convention-environmental and analytical update**. Rijeka: IntechOpen, 2012.

CARVALHO, J. R. S. *et al.* Microaerated UASB reactor treating textile wastewater: the core microbiome and removal of azo dye Direct Black 22. **Chemosphere**, v. 242, p. 125157, 2019.

CARVALHO, M. G. P. *et al.* The influence of sulphate on the treatment of azo dye-containing wastewater in an anaerobic-microaerobic compartmentalized fixed-bed bioreactor. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 1, p. 1, 2021.

CHEN, B.Y. *et al.* Revealing interactive toxicity of aromatic amines to azo dye decolorizer *Aeromonas hydrophila*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, n. 1, p. 187-194, 2009.

CHEN, W.; ZHANG, Y.; LI, X. Activated biomass of *Chlorella vulgaris* for adsorption of Acid Red 1: Adsorption isotherms and kinetic studies. **Bioresource Technology**, 320, 124317, 2021. CHENGALROYEN, M. D.; DABBS, E. R. The microbial degradation of azo dyes: minireview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, p. 389-399, 2013.

CHO, J. *et al.* Optimization of salting-out crystallization for an efficient in situ separation of synthetic anthraquinone-and azo-type reactive dyes. **Separation and purification technology**, v. 68, n. 2, p. 138-144, 2009.

CHO, S. *et al.* Microalgae cultivation for bioenergy production using wastewaters from a municipal WWTP as nutritional sources. **Bioresource technology**, v. 131, p. 515-520, 2013.

COSTA, W. K. O. C. *et al.* Preparation of activated carbon from sugarcane bagasse and removal of color and organic matter from real textile wastewater. **Water Air and Soil Pollution**, v. 232, p. 357, 2021.

DELLAMATRICE, P. M. *et al.* Degradation of textile dyes by cyanobacteria. **brazilian journal of microbiology**, v. 48, p. 25-31, 2017.

DOLATABADI, S.; HOSSEINI, S. A. Wastewater treatment using *Spirulina platensis*. **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**, v. 6, n. 4, p. 1239-1246, 2016.

DOMINGUES, G.; DÜSMAN, E.; VICENTINI, V. E. P. Cytotoxicity of Crude and Treated Liquid Effluents from Textile Industry Dyeing Using Bioindicator *Allium cepa* L. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, p. 1-10, 2020.

- DRAGONE, G. Challenges and opportunities to increase economic feasibility and sustainability of mixotrophic cultivation of green microalgae of the genus *Chlorella*. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 160, p. 112284, 2022.
- DUVAL, J. F. L. *et al.* New insights into the effects of growth phase and enzymatic treatment on the cell-wall properties of *Chlorella vulgaris* microalgae. **Algal Research**, v. 69, p. 102955, 2023.
- EL-KASSAS, H. Y.; MOHAMED, L. A. Bioremediation of the textile waste effluent by *Chlorella vulgaris*. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 40, n. 3, p. 301-308, 2014.
- EL-SHEEKH, M. M.; ABOU-EL-SOUOD, G. W.; EL ASRAG, H. A. Biodegradation of some dyes by the cyanobacteria species *Pseudoanabaena* sp. and *Microcystis aeruginosa* Kützing. **Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology)**, v. 13, n. 2, 2017.
- EL-SHEEKH, M. M.; ABOU-EL-SOUOD, G. W.; EL ASRAG, H. A. Biodegradation of some dyes by the green Alga *Chlorella vulgaris* and the Cyanobacterium *Aphanocapsa elachista*. **Egyptian Journal of Botany**, v. 58, n. 3, p. 311-320, 2018.
- FAZAL, T. *et al.* Integrating bioremediation of textile wastewater with biodiesel production using microalgae (*Chlorella vulgaris*). **Chemosphere**, v. 281, p. 130758, 2021.
- FERRAZ JR, A. D. N. *et al.* Textile effluent treatment in a UASB reactor followed by submerged aerated biofiltration. **Water Science and Technology**, v. 64, n. 8, p. 1581-1589, 2011.
- FERREIRA, J. T. *et al.* Evaluating the removal of the tetra-azo dye direct black-22 in *Chlorella vulgaris* closed-cultivation systems. **Environmental Technology**, v. 1, p. 1-9, 2024.
- FLORENCIO, T. M. *et al.* Anaerobic structured-bed reactor for azo dye decolourisation in the presence of sulphate ions. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 1, p. 1, 2021.
- FURTADO, A. L. F. F. *et al.* Morphological and molecular characterization of cyanobacteria from a Brazilian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. **Hydrobiologia**, v. 627, p. 195-209, 2009.
- GAVAZZA, S.; GUZMAN, J. J. L.; ANGENENT, L. T. Electrolysis within anaerobic bioreactors stimulates breakdown of toxic products from azo dye treatment. **Biodegradation**, v. 26, p. 151-160, 2015.
- GENTIL, R. C.; TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L. Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e aspectos sanitários de um lago urbano eutrófico em São Paulo, SP. **Hoehnea**, v. 35, p. 265-280, 2008.
- GENTSCHEVA, G. *et al.* Application of *Arthrospira platensis* for medicinal purposes and the food industry: a review of the literature. **Life**, v. 13, n. 3, p. 845, 2023.

GRIVALSKÝ, T. *et al.* Bioactivity assessment, micropollutant and nutrient removal ability of *Tetrademus obliquus* cultivated outdoors in centrate from urban wastewater. **Journal of Applied Phycology**, v. 34, n. 6, p. 2955-2970, 2022.

HALABURGI, V.; KAREGOUDAR, T.. Oxidative degradation of Amaranth dye by a new genus *Kerstesia* sp. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 34, n. 6, p. 265-271, 2016.

HE, F.; HU, W.; LI, Y. Biodegradation mechanisms and kinetics of azo dye 4BS by a microbial consortium. **Chemosphere**, v. 57, n. 4, p. 293-301, 2004.

HERNÁNDEZ-ZAMORA, M. *et al.* Bioremoval of the azo dye Congo Red by the microalga *Chlorella vulgaris*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 10811-10823, 2015.

HOM-DIAZ, A. *et al.* Insights into removal of antibiotics by selected microalgae (*Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella sorokiniana*, *Dunaliella tertiolecta* and *Pseudokirchneriella subcapitata*). **Algal Research**, v. 61, p. 102560, 2022.

HUANG, G. H. *et al.* Biodiesel production by microalgal biotechnology. *In: Renewable Energy*. Routledge, 2018. p. Vol3_378-Vol3_395.

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

IBGE. **Censo Demográfico**. Rio de Janeiro: IBGE, 2016. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/dtbs/pernambuco/rioformoso.pdf>. Acesso em: 24 out. 2022.

JADHAV, I. *et al.* Microorganism-based treatment of azo dyes. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 188, 2016.

JAISWAL, A. *et al.* Enhanced photodegradation of azo dye by Ag₂O/SnO₂@g-C₃N₄ nanocomposite. **Materials Chemistry and Physics**, v. 281, p. 125884, 2022.

JAVED, F. *et al.* Real textile industrial wastewater treatment and biodiesel production using microalgae. **Biomass and Bioenergy**, v. 165, p. 106559, 2022.

JOSHNI, T. C.; SUBRAMANIAM, K. Enzymatic degradation of azo dyes-a review. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 1, n. 6, p. 1250-1260, 2011.

KANT, R. Textile dyeing industry an environmental hazard. **Nat Sci**, 2011.

KATHERESAN, V.; KANSEDO, J.; LAU, S. Y. Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. **Journal of environmental chemical engineering**, v. 6, n. 4, p. 4676-4697, 2018.

KHALAF, M. A. Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, p. 6631-6634, 2008.

- KHAN, W. U. *et al.* A critical review of hazardous waste generation from textile industries and associated ecological impacts. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 100, n. 1, p. 100829, 2023.
- KOMÁREK, J.; ELSTER, J.; KOMÁREK, O. Diversity of the cyanobacterial microflora of the northern part of James Ross Island, NW Weddell Sea, Antarctica. **Polar Biology**, v. 31, p. 853-865, 2008.
- KÖRBAHTI, B. K.; TANYOLAÇ, A. Electrochemical treatment of simulated textile wastewater with industrial components and Levafix Blue CA reactive dye: Optimization through response surface methodology. **Journal of hazardous Materials**, v. 151, n. 2-3, p. 422-431, 2008.
- KUMAR, A. N.; REDDY, C. N.; MOHAN, S. V. Biomineralization of azo dye bearing wastewater in periodic discontinuous batch reactor: Effect of microaerophilic conditions on treatment efficiency. **Bioresource Technology**, v. 188, p. 56-64, 2015.
- KUMAR, M.; SINGH, A. K.; SIKANDAR, M. Study of sorption and desorption of Cd (II) from aqueous solution using isolated green algae *Chlorella vulgaris*. **Applied Water Science**, v. 8, n. 8, p. 225, 2018.
- KURADE, M. B. *et al.* Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. **Algal research**, v. 20, p. 126-134, 2016.
- LAU, W. J.; ISMAIL, A. F. Polymeric nanofiltration membranes for textile dye wastewater treatment: preparation, performance evaluation, transport modelling, and fouling control—a review. **Desalination**, v. 245, n. 1-3, p. 321-348, 2009.
- LEBRON, Y. A. R. *et al.* Remediation of methylene blue from aqueous solution by *Chlorella pyrenoidosa* and *Spirulina maxima* biosorption: equilibrium, kinetics, thermodynamics and optimization studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 5, p. 6680-6690, 2018.
- LEBRON, Y. A. R.; MOREIRA, V. R.; SANTOS, L. V. S. Studies on dye biosorption enhancement by chemically modified *Fucus vesiculosus*, *Spirulina maxima* and *Chlorella pyrenoidosa* algae. **Journal of Cleaner Production**, v. 240, p. 118197, 2019.
- LEKSHMI, B. *et al.* Studies on reduction of inorganic pollutants from wastewater by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus abundans*. **Alexandria Engineering Journal**, v. 54, n. 4, p. 1291-1296, 2015.
- LI, F. *et al.* Cultivation of *Chlorella vulgaris* in membrane-treated industrial distillery wastewater: growth and wastewater treatment. **Frontiers in Environmental Science**, v. 9, p. 770633, 2021.
- LIANG, J. *et al.* An integrated permanganate and ozone process for the treatment of textile dyeing wastewater: Efficiency and mechanism. **Journal of cleaner production**, v. 204, p. 12-19, 2018.

- LIM, S. L.; CHU, W. L.; PHANG, S. M. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. **Bioresource technology**, v. 101, n. 19, p. 7314-7322, 2010.
- LIU, X. *et al.* Toxic effects of fludioxonil on the growth, photosynthetic activity, oxidative stress, cell morphology, apoptosis, and metabolism of *Chlorella vulgaris*. **Science of the total environment**, v. 838, p. 156069, 2022.
- LOWREY, J.; BROOKS, M. S.; MCGINN, P. J. Heterotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production in agricultural wastewaters and associated challenges—a critical review. **Journal of applied phycology**, v. 27, p. 1485-1498, 2015.
- MAHALAKSHMI, S.; LAKSHMI, D.; MENAGA, U. Biodegradation of different concentration of dye (Congo red dye) by using green and blue green algae. **Int J Environ Res**, v. 9, n. 2, p. 735-744, 2015.
- MATA, A. M. T.; PINHEIRO, H. M.; LOURENÇO, N. D. Effect of sequencing batch cycle strategy on the treatment of a simulated textile wastewater with aerobic granular sludge. **Biochemical Engineering Journal**, v. 104, p. 106-114, 2015.
- MATHUR, N. *et al.* Mutagenicity evaluation of industrial sludge from common effluent treatment plant. **Chemosphere**, v. 67, n. 6, p. 1229-1235, 2007.
- MENEZES, M. *et al.* Update of the Brazilian floristic list of Algae and Cyanobacteria. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1047-1062, 2015.
- 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**, v. 146, p. 369-378, 2019.
- MOREIRA, V. R. *et al.* Biosorption of copper ions from aqueous solution using *Chlorella pyrenoidosa*: Optimization, equilibrium and kinetics studies. **Microchemical Journal**, v. 145, p. 119-129, 2019.
- MOURA, Y. A. S. *et al.* Pigments production, growth kinetics, and bioenergetic patterns in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) in response to different culture media. **Energies**, v. 13, n. 20, p. 5347, 2020.
- NADARAJAH, N.; IRVING, T.; ALLEN, D. G. Growth and adhesion of microalgae: development of a microalgal bioreactor utilizing wastewater. Toronto: University of Toronto, 2017.
- NU, T. T. V. *et al.* Green synthesis of microalgae-based carbon dots for decoration of TiO₂ nanoparticles in enhancement of organic dye photodegradation. **Environmental research**, v. 206, p. 112631, 2022.
- OLIVA-MARTÍNEZ, M. G.; GODÍNEZ-ORTEGA, J. L.; ZUÑIGA-RAMOS, C. A. Biodiversity of inland water phytoplankton in Mexico. **Revista mexicana de biodiversidad**, v. 85, p. S54-S61, 2014.

- OLIVEIRA, C.Y. B. *et al.* A multidisciplinary review of *Tetrademus obliquus*: a microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 3, p. 1594-1618, 2021.
- OYEBAMIJI, O. O. *et al.* Green microalgae cultured in textile wastewater for biomass generation and biodegradation of heavy metals and chromogenic substances. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, p. 100247, 2019.
- OYENIRAN, D. O.; SOGBANMU, T. O.; ADESALU, T. A. Antibiotics, algal evaluations and subacute effects of abattoir wastewater on liver function enzymes, genetic and haematologic biomarkers in the freshwater fish, *Clarias gariepinus*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 212, p. 111982, 2021.
- PAPADOPOULOS, K. P. *et al.* Cultivation of *Arthrospira platensis* in brewery wastewater. **Water**, v. 14, n. 10, p. 1547, 2022.
- PATHAK, V. V. *et al.* Experimental and kinetic studies for phycoremediation and dye removal by *Chlorella pyrenoidosa* from textile wastewater. **Journal of environmental management**, v. 163, p. 270-277, 2015.
- PELIZER, L. H. *et al.* Padronização do método de secagem da biomassa de *Spirulina platensis*. **Revista de Farmácia e Química**, v. 32, n. 1, p. 37-40, 1999.
- PENA, A. C. C. *et al.* Influence of period light on cultivation of microalgae consortium for the treatment of tannery wastewaters from leather finishing stage. **Journal of cleaner production**, v. 263, p. 121618, 2020.
- PERNAMBUCO (Estado). SECTI. Pernambuco: SECTI, 2020. Disponível em: <http://www.secti.pe.gov.br/2015/12/16/setores-produtivos-de-18-municipios-do-estado-serao-beneficiados-com-us-177-milhoes/>. Acesso em: 9 nov. 2022.
- PHAM, D. T. *et al.* Algal community analysis in a waste stabilisation pond. **Ecological engineering**, v. 73, p. 302-306, 2014.
- PINHEIRO, H. M.; TOURAUD, E.; THOMAS, O. Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. **Dyes and pigments**, v. 61, n. 2, p. 121-139, 2004.
- PRIGIONE, V. *et al.* Decolourisation and detoxification of textile effluents by fungal biosorption. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 2911-2920, 2008.
- PUVANESWARI, N.; MUTHUKRISHNAN, J.; GUNASEKARAN, P. Toxicity Assessment and Microbial Degradation of Azo Dyes. **Indian Journal Experimental Biology**, v. 44, p. 618-626, 2006.
- RAHEEM, A. *et al.* A review on sustainable microalgae based biofuel and bioenergy production: Recent developments. **Journal of cleaner production**, v. 181, p. 42-59, 2018.

- RAMDHONY, K. *et al.* A polyphasic approach in the identification and biochemical characterization of *Dunaliella tertiolecta* with biodiesel potential from a saltern in Mauritius. **PeerJ**, v. 12, p. e18325, 2024.
- RAMOS, G. J. P. *et al.* Monoraphidium and Ankistrodesmus (Chlorophyceae, Chlorophyta) from Pantanal dos Marimbus, Chapada Diamantina, Bahia State, Brazil. **Hoehnea**, v. 39, p. 421-434, 2012.
- RAUF, M. A.; ASHRAF, S. S. Radiation induced degradation of dyes—an overview. **Journal of hazardous materials**, v. 166, n. 1, p. 6-16, 2009.
- ROSA, A. L. D. *et al.* Biosorption of rhodamine B dye from dyeing stones effluents using the green microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. **Journal of cleaner Production**, v. 198, p. 1302-1310, 2018.
- RUSSELL, C.; RODRIGUEZ, C.; YASEEN, M. Microalgae for lipid production: Cultivation, extraction & detection. **Algal Research**, v. 66, p. 102765, 2022.
- SAFI, C. *et al.* Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 35, p. 265-278, 2014.
- SANDHYA, S. Biodegradation of azo dyes under anaerobic condition: role of azoreductase. **Biodegradation of azo dyes**, p. 39-57, 2010.
- SANTHANAM, M. *et al.* Combined electrochemical, sunlight-induced oxidation and biological process for the treatment of chloride containing textile effluent. **Chemosphere**, v. 186, p. 1026-1032, 2017.
- SANTOS, A. B. *et al.* Effect of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic (30 C) and thermophilic (55 C) treatments for decolourisation of textile wastewaters. **Chemosphere**, v. 55, n. 9, p. 1149-1157, 2004.
- SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J. B. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. **Bioresource technology**, v. 98, n. 12, p. 2369-2385, 2007.
- SANTOS, M. J. O.; SOUZA, C. O.; MARCELINO, H. R. Blue technology for a sustainable pharmaceutical industry: Microalgae for bioremediation and pharmaceutical production. **Algal Research**, v. 69, p. 102931, 2023.
- SARATALE, R. G. *et al.* Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review. **Journal of the Taiwan institute of Chemical Engineers**, v. 42, n. 1, p. 138-157, 2011.
- SAVIN, I. I.; BUTNARU, R. Wastewater characteristics in textile finishing mills. **Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)**, v. 7, n. 6, 2008.
- SILVA, C. P.; GAVAZZA, S.; ARAÚJO, S. P. Tratamento anaeróbio de efluente têxtil: toxicidade a organismos metanogênicos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 27, p. 1229-

1237, 2022.

SILVA JÚNIOR, L. P. *et al.* Overview of Biological Technologies for Azo Dye Removal. In: **Biological Approaches in Dye-Containing Wastewater: Volume 1**. Singapore: Springer Singapore, 2022. p. 1-38.

SINHA, S. *et al.* Self-sustainable *Chlorella pyrenoidosa* strain NCIM 2738 based photobioreactor for removal of Direct Red-31 dye along with other industrial pollutants to improve the water-quality. **Journal of Hazardous Materials**, v. 306, p. 386-394, 2016.

SOTO-RAMÍREZ, R. *et al.* Effect of growth conditions on cell wall composition and cadmium adsorption in *Chlorella vulgaris*: A new approach to biosorption research. **Journal of Hazardous Materials**, v. 411, p. 125059, 2021.

SRINIVASAN, S. *et al.* Application of docking and active site analysis for enzyme linked biodegradation of textile dyes. **Environmental Pollution**, v. 248, p. 599-608, 2019.

STANIER, R. Y. *et al.* Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). **Bacteriological reviews**, v. 35, n. 2, p. 171-205, 1971.

SUDHA, M. *et al.* Microbial degradation of azo dyes: a review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 2, p. 670-690, 2014.

SUN, W. *et al.* Identification of anaerobic aniline-degrading bacteria at a contaminated industrial site. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 18, p. 11079-11088, 2015.

THANGSIRI, S. *et al.* Bioactive compounds and in vitro biological properties of *Arthrospira platensis* and *Athrospira maxima*: a comparative study. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 23786, 2024.

TKACZYK, A.; MITROWSKA, K.; POSYNIAK, A. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. **Science of the total environment**, v. 717, p. 137222, 2020.

TU, J. *et al.* Protective effect of β -cyclodextrin to microorganisms during anaerobic degradation of azo dyes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 170, p. 105401, 2022.

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

WAN, M. *et al.* The effect of mixotrophy on microalgal growth, lipid content, and expression levels of three pathway genes in *Chlorella sorokiniana*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 91, p. 835-844, 2011.

WANG, G. Y. *et al.* Enhanced anaerobic degradation of azo dyes by biofilms supported by novel functionalized carriers. **Bioresource Technology**, v. 378, p. 129013, 2023.

WANG, X. *et al.* Removing organic matters from reverse osmosis concentrate using advanced oxidation-biological activated carbon process combined with Fe³⁺/humus-reducing bacteria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 203, p. 110945, 2020.

WIJETUNGA, S.; LI, X. F.; JIAN, C. Effect of organic load on decolourization of textile wastewater containing acid dyes in upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 177, n. 1-3, p. 792-798, 2010.

YADAV, G.; DASH, S. K.; SEN, R. A biorefinery for valorization of industrial waste-water and flue gas by microalgae for waste mitigation, carbon-dioxide sequestration and algal biomass production. **Science of the total environment**, v. 688, p. 129-135, 2019.

YADAV, G.; CHHIPA, H.; MOHAN, M. K. Role of enzymes in microalgae: A review. **Journal of Environmental Biology**, 41(3), 491–498.

YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. Shallow pond systems planted with *Lemna minor* treating azo dyes. **Ecological engineering**, v. 94, p. 295-305, 2016.

YURTSEVER, A.; CALIMLIOGLU, B.; SAHINKAYA, E. Impact of SRT on the efficiency and microbial community of sequential anaerobic and aerobic membrane bioreactors for the treatment of textile industry wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 314, p. 378-387, 2017.

ZABŁOCKA-GODLEWSKA, E.; PRZYSTAŚ, W.; GRABIŃSKA-SOTA, E. Possibilities of obtaining from highly polluted environments: new bacterial strains with a significant decolorization potential of different synthetic dyes. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 229, p. 1-13, 2018.

ZHA, J., ZHOU, L.; LI, Y. Adsorption performance of biochar derived from *Chlorella vulgaris* for dye removal from aqueous solutions. **Environmental Research**, 213, 113725, 2022.

ZHANG, L. *et al.* Lipid accumulation and biodiesel quality of *Chlorella pyrenoidosa* under oxidative stress induced by nutrient regimes. **Renewable Energy**, v. 143, p. 1782-1790, 2019.