

# Tratamento anaeróbio de efluente têxtil: toxicidade a organismos metanogênicos

*Anaerobic textile wastewater treatment: toxicity to methanogenic organisms*

Carlos Pereira da Silva<sup>1\*</sup> , Savia Gavazza<sup>2</sup> , Sofia Pimentel Araújo<sup>2</sup> 

## RESUMO

## ABSTRACT

Testes de toxicidade anaeróbia foram realizados com corantes aromáticos azo (tetra-azo Direct Black 22 – DB22 e di-azo Direct Orange 4 – DO4) e antraquinônico (Reactive Blue 19 – RB19), com o objetivo de verificar a influência dos diferentes grupos químicos desses compostos na inibição da atividade metanogênica. Para o corante DB22, foram realizados dois testes com concentrações de corante de 0,03, 0,06, 0,09, 0,12 e 0,24 mmol·L<sup>-1</sup> (TTADB22) e 0,3, 0,6, 0,9, 1,2 e 2,4 mmol·L<sup>-1</sup> (TTADB22Adap, com lodo adaptado). Para os corantes DO4 (TTADO4) e RB19 (TTARB19), as concentrações utilizadas foram 0,5, 1, 2, 3, e 4 mmol·L<sup>-1</sup>. Os resultados indicaram que ambos os grupamentos químicos azo e antraquinônico podem ser inibidores da metanogênese. Cada corante resultou em um potencial tóxico diferente, dependendo da natureza do corante, das concentrações utilizadas e dos subprodutos gerados. O corante antraquinônico RB19 apresentou taxa de inibição da metanogênese duas vezes maior que o azocorante DO4, sugerindo maior tolerância dos microrganismos metanogênicos ao azocorante do que ao corante antraquinônico. Entre os azocorantes, as maiores taxas de inibição foram verificadas para o DB22 (48%), que possui maior número de grupos sulfônicos em sua estrutura que o DO4. Em geral, maiores percentuais de remoção de corante foram obtidos para menores concentrações de corante aplicadas.

Anaerobic toxicity tests were performed using aromatic azo dyes (tetra-azo Direct Black 22 – DB22 and diazo Direct Orange 4 – DO4) and an anthraquinone dye (Reactive Blue 19 – RB19), aiming to verify the influence of the different chemical groups of these dyes on the inhibition of methanogenic activity. For DB22 dye, two tests were performed with dye concentrations of 0.03; 0.06; 0.09; 0.12; and 0.24 mmol·L<sup>-1</sup> (TTADB22) and 0.3; 0.6; 0.9; 1.2; and 2.4 mmol·L<sup>-1</sup> (TTADB22Adap, with adapted sludge). For DO4 (TTADO4) and RB19 (TTARB19) dyes, the concentrations used were 0.5; 1.0; 2.0; 3.0; and 4.0 mmol·L<sup>-1</sup>. The results indicated that both azo and anthraquinone chemical groups may be inhibitors for methanogenesis. Each dye resulted in a different toxic potential, depending on the nature of the dye, the concentrations used, and the by-products generated. Anthraquinone dye RB19 showed an inhibition rate of methanogenesis twice as high as azo dye DO4, indicating greater tolerance of methanogenic microorganisms to azo dye than to anthraquinone dye. Among the azo dyes, the highest inhibition rates were verified for DB22 (48%), which has a greater number of sulfonic groups in its structure than DO4. In general, higher percentages of dye removal were obtained for lower dye concentrations.

**Palavras-chave:** azocorante; corante antraquinônico; teste de toxicidade anaeróbia.

**Keywords:** azo dye; anthraquinone dye; anaerobic toxicity test.

## INTRODUÇÃO

As pesquisas sobre descoloração e biorremediação de efluentes têxteis são importantes, em função dos danos ambientais gerados pelos produtos químicos utilizados na indústria têxtil. O efluente dessa indústria apresenta cor e toxicidade para arqueas metanogênicas, como resultado dos corantes empregados no processo de beneficiamento da matéria-prima do vestuário. Entre os vários tipos de corantes usados nesse beneficiamento, os corantes reativos representam uma cota de mercado crescente; abrangem atualmente cerca de 20-30% do total do mercado para corantes (DEĞERMENCI; AKYOL, 2020). Cerca de 30% dos corantes reativos aplicados chegam aos efluentes (PAJAJK;

DZIENISZEWSKA, 2020). Como resultado, os efluentes de tinturaria contêm tipicamente de 0,6 a 0,8 g·dm<sup>-3</sup> de corante (AHMAD *et al.*, 2015). Entre os corantes reativos, o cromóforo do tipo azo, caracterizado pela presença do grupo –N=N–, é o mais utilizado na indústria, correspondendo a 60-70% de todos os corantes têxteis produzidos mundialmente, seguido pelos antraquinônicos (RIAL; FERREIRA, 2021).

Em função do aumento crescente de estudos que indicam boa aplicabilidade da combinação de processo anaeróbio seguido de aeróbio para tratamento de efluentes têxteis reais e sintéticos (MENEZES *et al.*, 2019), é importante avaliar o impacto de diferentes concentrações de corantes e dos tipos de corante

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – Teresina (PI), Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco – Recife (PE), Brasil.

\*Autor correspondente: carlos@ifpi.edu.br

Conflitos de interesse: os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (409165/2021-2) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (APQ-0338-3.07/19 e APQ-0456-3.07/20).

Recebido: 23/12/2021 – Aceito: 20/09/2022 – Reg. ABES: 20210341

sobre a comunidade microbiana, especialmente os organismos metanogênicos. Os estudos sobre toxicidade dos corantes são, em geral, focados nos impactos da qualidade do efluente têxtil a ser lançado nos corpos hídricos e nos danos à saúde humana. Al-Tohamy *et al.* (2022) revisaram as várias formas de prejuízo que os corantes, sobretudo do tipo azo, podem gerar nos ambientes aquáticos a plantas, animais e microrganismos, no entanto ainda são escassos os estudos disponíveis acerca dos fatores que inibem a atividade dos microrganismos, sobretudo dos metanogênicos, envolvidos na etapa anaeróbia do tratamento biológico. Ogugbue e Oranusí (2005) verificaram que tamanho molecular, presença de impurezas e íons metálicos são fatores que podem tornar os corantes inibitórios para o processo de metanogênese. Entre os corantes azo e antraquinônico, os efeitos inibitórios do primeiro grupo é mais explorado.

O mecanismo mais comum para degradação de azocorantes envolve a redução e quebra da ligação azo (POPLI; PATEL, 2015), gerando aminas aromáticas que podem ser mais tóxicas que o corante original (FLORENCIO *et al.*, 2021). Além disso, a redução de azocorantes aumenta a demanda por doadores de elétrons, competindo, dessa forma, com a metanogênese. Menezes *et al.* (2019) e Carvalho *et al.* (2020) verificaram que efluentes tratados por meio de processos anaeróbios possuem maior toxicidade que efluentes tratados por processos aeróbios.

Com relação aos corantes antraquinônicos, Santos *et al.* (2005a) obtiveram maiores taxas de remoção desse tipo de corante em condições termofílicas (55°C) que em condições mesofílicas (30°C). Além disso, os autores concluíram que o corante Reactive Blue 19 é tóxico para microrganismos metanogênicos, enquanto os microrganismos formadores de propionato, butirato e etanol não foram afetados pela toxicidade do corante. Tavares *et al.* (2019) obtiveram valores de remoção acima de 90% para os azocorantes Reactive Blue 220 e Reactive Black 5 e de 77% para o corante antraquinônico Reactive Blue 19.

O corante Direct Black 22 é bastante utilizado na indústria têxtil (FERRAZ JR. *et al.*, 2011), possui alto peso molecular (1.083,97 g·mol<sup>-1</sup>) e estrutura complexa com potencial liberação de aminas aromáticas e grupos sulfônicos, fatores que conferem recalcitrância ao composto. O corante Direct Orange 4, ao ser degradado, forma benzidina, um composto cancerígeno para humanos que leva apenas algumas horas para entrar no corpo pelo intestino e pulmões (VAMAN RAO, 2005). O corante Reactive Blue 19, além de ser um dos corantes mais utilizados na indústria têxtil, é precursor da produção de corantes poliméricos (JAWAD *et al.*, 2020), possui grupos reativos em sua estrutura que dificultam sua degradação e é bioacumulável em animais (NGUYEN *et al.*, 2021).

Diante do exposto, o presente trabalho foi planejado para avaliar a influência de corantes com diferentes estruturas moleculares sobre a atividade de microrganismos metanogênicos, a fim de ampliar o entendimento sobre a etapa anaeróbia do tratamento biológico desse tipo de efluente. Testes de toxicidade anaeróbia (TTA) foram realizados para medir os efeitos adversos dos azocorantes Direct Black 22 e Direct Orange 4 e do corante antraquinônico Reactive Blue 19 sobre microrganismos produtores de metano.

## METODOLOGIA

### Configuração dos sistemas de teste de toxicidade anaeróbia

A atividade dos microrganismos metanogênicos quando expostos a diferentes concentrações de três corantes da indústria têxtil foi avaliada em quatro testes

(TTADB22, TTADB22Adap, TTADO4 e TTARB19), tendo o teor de metano sido medido por meio da aplicação do método de deslocamento de líquido (Figura 1) em função da pressão do biogás produzido nos reatores (AQUINO *et al.*, 2007).

Nesse sistema, a liberação de gases produzidos pela atividade dos microrganismos na garrafa reator desloca a solução 3% (m/v) de hidróxido de sódio (NaOH, Merck, pureza 97%) contida na garrafa superior do sistema. Essa solução tem a capacidade de reagir com o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) contido no biogás, de forma que o volume de líquido deslocado e coletado no recipiente de plástico inferior corresponda ao volume do biogás metano (CH<sub>4</sub>). O volume deslocado foi pesado diariamente, e a massa obtida foi convertida ao volume de metano produzido utilizando os dados da densidade da solução de hidróxido na temperatura em que os testes foram realizados. A massa, correspondente ao volume da solução de hidróxido de sódio deslocada, foi medida diariamente.

Para cada um dos testes, foram usados reatores de 1 L, operados em batelada, com 80% do seu volume preenchidos por licor misto composto de solução de nutrientes (meio basal), solução de substrato, alcalinidade, lodo de inóculo anaeróbio e corantes do tipo azo ou antraquinônicos. O licor misto possuía a seguinte composição de nutrientes (mg·L<sup>-1</sup>): NH<sub>4</sub>Cl (44,80), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (40,32), MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (16), CaCl<sub>2</sub> (1,12), NaHCO<sub>3</sub> (64), extrato de leveduras (16), FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (0,32), ZnCl<sub>2</sub> (0,008), MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (0,08), NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0,0227), NaSeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O (0,02624), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (0,008), CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (0,0061), CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0,32), AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (0,0144), (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O (0,008), EDTA (0,16), e HCl 36% (1,6·10<sup>-4</sup> mL·L<sup>-1</sup>) (FLORENCIO *et al.*, 1993). Como substrato, foi utilizada uma mistura de acetato, propionato e butirato na proporção de 1:1:1 g·L<sup>-1</sup> (AQUINO *et al.*, 2007), cuja concentração foi de 2 g O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup> em termos de demanda química de oxigênio (DQO). A alcalinidade foi adicionada ao licor misto após a adição do substrato, utilizando bicarbonato de sódio em pó (NaHCO<sub>3</sub>, Merck, pureza 99%) na proporção de 1 g NaHCO<sub>3</sub> por grama de DQO.

O lodo utilizado como inóculo nos testes foi proveniente de reator UASB empregado para tratamento de efluente de uma cervejaria. O lodo foi elutriado (WANG *et al.*, 2007) e, em seguida, deixado na temperatura de inoculação (30 ± 1°C) por 24 horas. A concentração final nos reatores foi de 3 g SSV·L<sup>-1</sup>. Com relação aos corantes, foram usados três corantes comerciais, com pureza de 50% (MENEZES *et al.*, 2019), amplamente utilizados na indústria têxtil, sendo dois do tipo azo — Direct Black 22 (DB22) (C.I. 35435; CAS 6473-13-8) e Direct Orange 4 (DO4) (C.I. 22920; CAS 3626-38-8) — e um do tipo antraquinônico — Reactive Blue 19 (RB19) (C.I. 61200; CAS 2580-78-1) (Figura 2). Os corantes foram doados por algumas indústrias têxteis parceiras. As concentrações

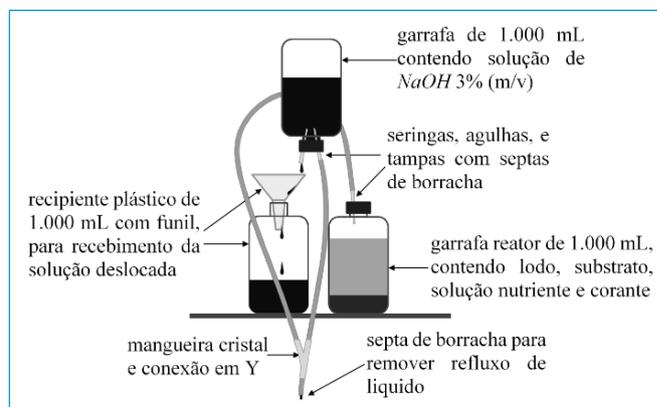


Figura 1 - Aparato utilizado para realização dos testes de toxicidade anaeróbia.

utilizadas no presente estudo referem-se às massas de corante já corrigidas com base em suas purezas. Os corantes foram aplicados após processo de solubilização, que consistiu no aumento do pH da solução para 11 com NaOH (20%, m/v), seguido por 1 hora de aquecimento a 80°C, e, depois do resfriamento, na diminuição do pH para 7 com HCl (2 mol·L<sup>-1</sup>) (SANTOS *et al.*, 2005b).

Quatro testes de toxicidade anaeróbia foram realizados, com reatores em triplicata — dois ocorreram com os corantes DO4 (TTADO4) e RB19 (TTARB19) individualmente, nas concentrações 0,5, 1, 2, 3, e 4 mmol·L<sup>-1</sup>, e os outros dois testes com o DB22, nas concentrações 0,03, 0,06, 0,09, 0,12 e 0,24 mmol·L<sup>-1</sup> (TTADB221) e 0,3, 0,6, 0,9, 1,2 e 2,4 mmol·L<sup>-1</sup> (TTADB22Adap). TTADB22Adap foi realizado para avaliar o comportamento dos reatores ao serem submetidos a maiores concentrações de corante utilizando um lodo já adaptado. Para isso, ao final do teste TTADB22, o mesmo lodo foi novamente elutriado e submetido ao teste de concentrações mais altas (TTADB22Adap). Como condição controle, utilizou-se um frasco extra para cada teste com as mesmas características dos demais reatores, porém sem adição de corante. Os reatores foram mantidos a 30 ± 1°C.

## Análises

No início e no fim de cada teste, os seguintes parâmetros foram analisados segundo o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005): DQO filtrada (5220D), utilizando espectrofotômetro (Spectroquant Pharo300, Merck), pH e alcalinidade total e parcial (2320B). Para comparar a remoção de cor de corantes azo e antraquinônicos, a medida de cor foi obtida apenas para os corantes DO4 e RB19, por possuírem

pesos moleculares mais próximos, 716,57 e 626,54 g·mol<sup>-1</sup>, respectivamente. A determinação foi realizada pela absorvância de luz no comprimento de onda de máxima absorvância, pico característico de cada corante: DO4 em 490 nm e RB19 em 592 nm.

## Determinação da maior produção diária de metano e concentração inibitória média

A atividade metanogênica máxima e a toxicidade anaeróbia foram determinadas e avaliadas por intermédio de modelos de regressão não linear sigmoide (forma de S), para TTADB22, TTADO4 e TTARB19, e exponencial, para TTADB22Adap. As funções sigmoideais descrevem adequadamente produções cumulativas de metano (SILVA; BISCARO; PASSOS, 2010), fase *lag* e fase exponencial. Já as funções exponenciais apresentam melhor correlação com produções acumuladas de metano para o inóculos já adaptados (sem fase *lag*), apenas fase exponencial (RAHMAN, 2011). As funções sigmoide e exponencial utilizadas são representadas pelas Equações 1 e 2, respectivamente.

$$Y = A2 + \frac{A1-A2}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^p} \quad (1)$$

$$Y = a - b \cdot c^x \quad (2)$$

Em que:

Y: volumes acumulados de metano (mL);

x: tempo (em dias);

A1, A2, p, a, b e c: parâmetros de ajuste.

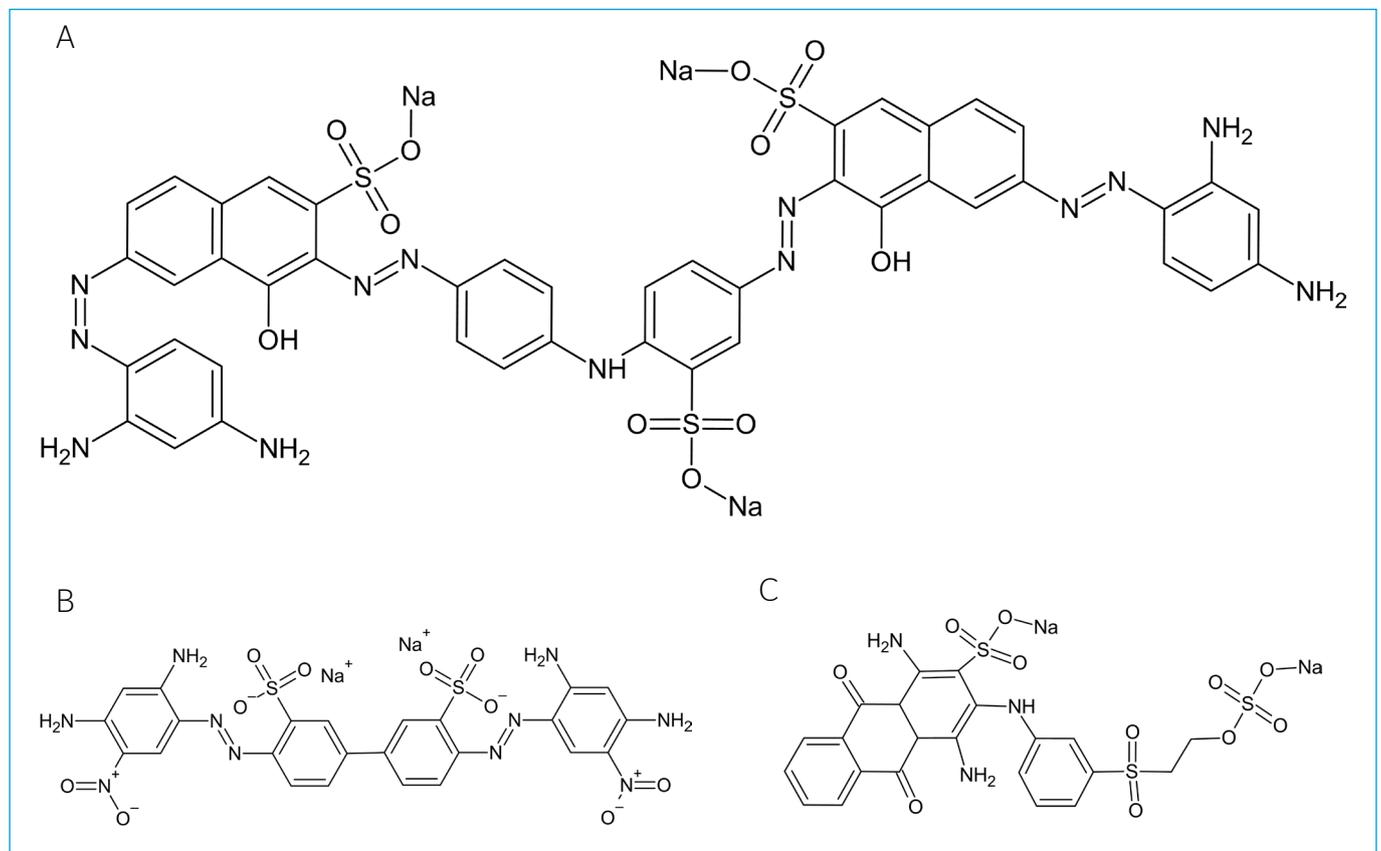


Figura 2 - Estrutura química dos azocorantes (A) Direct Black 22 e (B) Direct Orange 4 e do corante antraquinônico (C) Reactive Blue 19.

Para determinação da concentração inibitória média (CI50) foram utilizados dados de percentual de inibição *versus* concentração de corante. Os valores de concentração de corante correspondentes ao percentual de inibição de 50% foram obtidos. Com o objetivo de verificar a semelhança entre os conjuntos de dados das produções acumuladas de metano obtidas para cada um dos corantes, foi realizada a análise estatística utilizando o teste de análise de variância (Anova) fator único ao nível de significância de 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Demanda química de oxigênio

A Figura 3 traz as eficiências de remoção de DQO dos quatro testes de atividade metanogênica realizados neste estudo para as diferentes concentrações de corantes analisadas, incluindo os resultados obtidos dos reatores controle, em que não há adição de corantes.

Para os testes realizados com o corante DB22, os valores médios de remoção de DQO variaram entre 70,4 e 75,3% em TTADB22 (Figura 3A) e 92,2 e

99,5% em TTADB22Adap (Figura 3B). Apesar de maiores concentrações de corante adicionadas em TTADB22Adap, a adaptação da comunidade microbiana constituinte do lodo utilizado resultou em maiores percentuais de remoção de DQO em TTADB22Adap em relação a TTADB22.

Em TTADO4 (Figura 3C) e TTARB19 (Figura 3D), as remoções variaram de 82,1 a 90,8% e de 23 a 99,8%, respectivamente. Em TTARB19 foram obtidos altos valores de remoção para as concentrações iniciais de corante, ocorrendo uma queda brusca do percentual de remoção entre as concentrações de 1 e 2 mmol·L<sup>-1</sup>. Isso indica que essa faixa de concentração do corante antraquinônico RB19 foi responsável por inibir a remoção de DQO em 70,6%.

Na Tabela 1, são mostrados os valores médios de alcalinidade total (AT) e parcial (AP) obtidos durante os testes.

Observa-se que, em geral, houve aumento da alcalinidade do meio do início para o fim dos experimentos. O aumento da alcalinidade pode caracterizar a decomposição da matéria orgânica presente com liberação e dissolução do CO<sub>2</sub> no meio. Além disso, a produção de aminas aromáticas, subprodutos da degradação anaeróbia dos corantes (PANDEY; SINGH; IYENGAR, 2007),

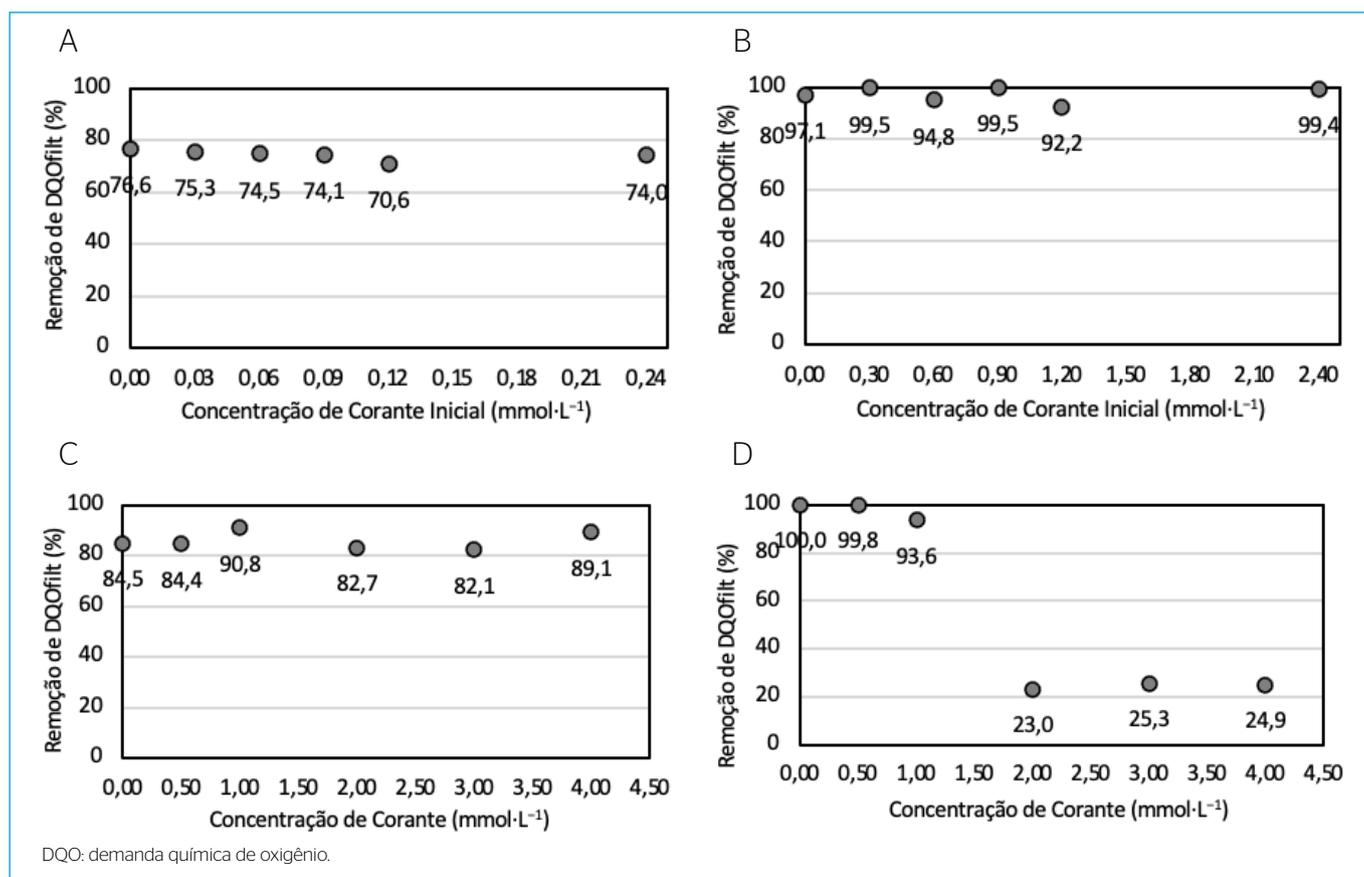


Figura 3 - Eficiência de remoção de DQO observada em (A) TTADB22, (B) TTADB22Adap, (C) TTADO4 e (D) TTARB19.

Tabela 1 - Valores médios de alcalinidade parcial (AP) e total (AT), obtidos no início e no fim dos testes realizados.

Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> ·L <sup>-1</sup> )	TTADB22		TTADB22Adap		TTADO4		TTARB19	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
AP	1.260 (± 77)	1.973 (± 58)	1.392 (± 34)	1.634 (± 73)	1.483 (± 106)	1.864 (± 69)	1.149 (± 125)	1.745 (± 44)
AT	1.868 (± 31)	2.262 (± 52)	1.913 (± 79)	1.953 (± 56)	2.133 (± 124)	2.651 (± 77)	2.007 (± 75)	2.414 (± 97)

pode contribuir para essas variações, uma vez que aminas são bases de Lewis que possuem pares de elétrons não ligantes nos átomos de nitrogênio e enxofre. Os valores de pH variaram entre 7,1 e 7,4, no início, e 6,9 e 7,1, ao final dos quatro testes.

### Cálculo da atividade metanogênica específica máxima e percentual de inibição

A Figura 4 apresenta os gráficos de produção acumulada de metano para os quatro testes e seus respectivos controles. Os pontos indicam os dados experimentais, e as linhas, os dados ajustados da produção acumulada de metano. Pelos gráficos, pode-se observar que o aumento da concentração dos corantes foi mais inibitório da atividade metanogênica para o corante RB19. Em TTARB19 (Figura 4D), houve diminuição da produção de biogás com o aumento da concentração do corante, de 0 até 2 mmol·L<sup>-1</sup>. Além disso, ainda considerando o corante antraquinônico, os reatores com concentrações de 2, 3 e 4 mmol·L<sup>-1</sup> apresentaram resultados similares de produção acumulada de metano, sugerindo que a partir de 2 mmol·L<sup>-1</sup> os sistemas atingiram a máxima inibição para esse corante.

Quando aplicada a análise estatística Anova fator único ao conjunto de dados, os resultados obtidos com os azocorantes DB22 (TTADB22 e TTADB22Adap) e DO4 indicaram que a produção de metano não foi influenciada pelas concentrações aplicadas desses corantes (Figuras 4A, 4B e 4C). Os valores de  $F < F_{\text{crítico}}$  e  $p > 0,05$  para

TTADB22 (Figura 4A) foram  $F = 0,26$ ,  $F_{\text{crítico}} = 2,25$ , e  $p = 0,94$ ; para TTADB22Adap (Figura 4B) foram  $F = 1,76$ ,  $F_{\text{crítico}} = 2,28$ , e  $p = 0,12$ ; e para TTADO4 (Figura 4C),  $F = 0,06$ ,  $F_{\text{crítico}} = 2,32$ , e  $p = 1,00$ . No entanto, no caso do corante antraquinônico RB19 (Figura 4D), os valores foram  $F = 9,60$ ,  $F_{\text{crítico}} = 2,30$ , e  $p = 1,34 \cdot 10^{-7}$ , revelando haver diferença significativa entre os valores obtidos em TTARB19.

Apesar da semelhança estatística entre os dados obtidos para os testes realizados com os azocorantes DB22 e DO4, a atividade metanogênica máxima é obtida pela reta tangente ao ponto de maior inclinação da produção acumulada de metano, podendo ter pouca influência dos demais pontos da curva. Desse modo, para verificar a influência das diferentes concentrações dos corantes nos resultados obtidos, foram feitos os devidos ajustes estatísticos.

Pela derivação dos ajustes, foram obtidos os valores de atividade metanogênica máxima (AME), os percentuais de inibição, a correlação entre a concentração de corante e seu efeito inibitório, a taxa de produção diária de metano e a concentração de inibição de 50% da atividade AME - CI50. O modelo de ajuste aplicado para cada teste e os resultados mencionados para cada concentração de corante testada são apresentados na Tabela 2.

Observa-se que em TTADB22 não há proporcionalidade entre as concentrações de corante e a taxa diária de produção de metano. Os valores obtidos para os percentuais de inibição não possibilitaram o cálculo da CI50, indicando que não houve inibição para as concentrações utilizadas.

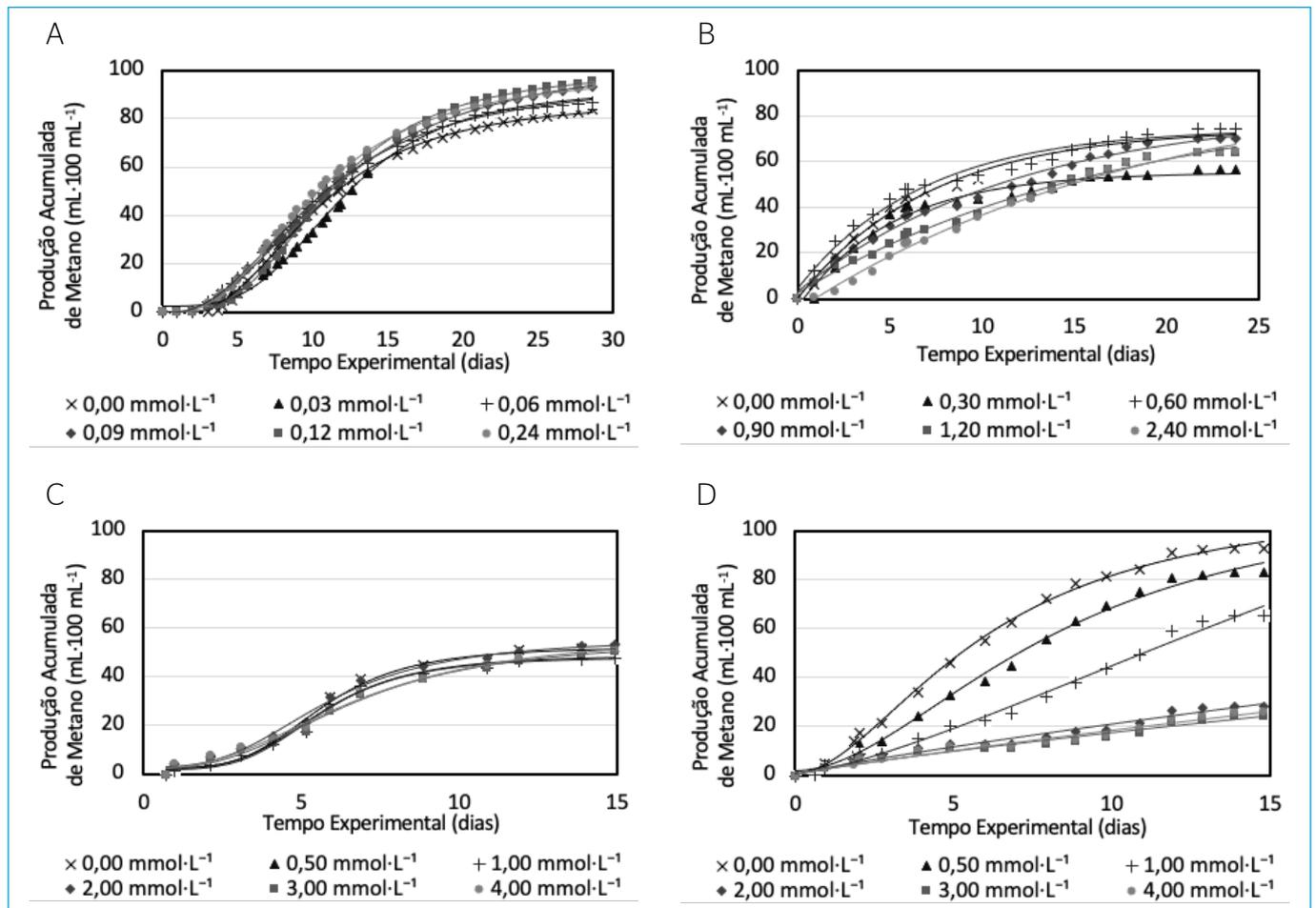


Figura 4 - Produções acumuladas de metano para cada 100 mL de volume do reator: para (A) TTADB22, (B) TTADB22Adap, (C) TTADO4 e (D) TTARB19.

Para obtenção da concentração inibitória, nesse caso, aumentou-se a concentração de corante, pois as diferenças entre a produção máxima acumulada para o controle (sem corante) e maior concentração de DB22 aplicada ainda foram pequenas.

A AME, os percentuais de inibição e a CI50 foram calculados com concentrações de corante DB22 10 vezes maiores (TTADB22Adap). Para TTADB22Adap, o valor de CI50 encontrado foi de 2 mmol·L<sup>-1</sup>. Em TTADO4, como não foi atingido 50% de inibição para as concentrações em estudo, o valor de CI50 foi obtido por extrapolação (5,25 mmol·L<sup>-1</sup>). Os valores inibitórios para metanogênese observados neste estudo foram maiores do que o valor de 0,4 mmol·L<sup>-1</sup> para o azo Reactive Black 8 reportado por Manu e Chaudhari (2002). No entanto, além de não ser o mesmo corante reportado, o efluente sintético utilizado pelos autores diverge do efluente tratado na presente pesquisa no que tange à salinidade constituinte do efluente no estudo citado (0,15 g·L<sup>-1</sup>), também inibitória de atividades biológicas.

O ajuste aplicado aos dados obtidos no teste com o corante antraquinônico RB19 e o CI50 de 1,81 mmol·L<sup>-1</sup> calculado confirma que houve inibição da atividade metanogênica em TTARB19. Para o mesmo corante antraquinônico, Lee e Pavlostathis (2004) observaram inibição tanto da metanogênese

quanto da acidogênese em função do aumento da concentração do RB19 em concentrações próximas de 0,5 mmol·L<sup>-1</sup>.

A curva de produção acumulada de metano para os testes com corante antraquinônico RB19 (TTARB19) apresentou cinética de produção acumulada de metano mais lenta quando comparada à curva de produção de metano para os testes com o azocorante DO4 (TTADO4) nas maiores concentrações (Figura 4 e Tabela 2). Além disso, o corante antraquinônico apresentou maior potencial de inibição do que o azocorante — CI50 de 1,81 mmol·L<sup>-1</sup> para RB19, valor três vezes menor do que o de 5,25 mmol·L<sup>-1</sup> obtido para o DO4, e inibição máxima, em 4 mmol·L<sup>-1</sup>, de 74% para RB19, valor duas vezes maior que o de 36% verificado para o DO4.

Os corantes reativos como o RB19, em geral, apresentam boa solubilidade em água e alta toxicidade. A presença de grupos sulfonados nos dois corantes (DO4 e RB19) aumenta a afinidade com o meio aquoso (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009). No caso do corante antraquinônico, seu maior peso molecular e a maior quantidade de grupos sulfonados conferem a esse composto maior solubilidade em relação ao azocorante DO4. Assim, o efeito das interações deste primeiro com o meio aquoso e o sistema celular dos microrganismos não pode ser descartado. Outro aspecto

**Tabela 2** - Valores de concentração de corantes, AME, percentuais de inibição de AME, coeficiente de correlação entre concentração e percentual de inibição, taxa diária de produção de metano e valor de CI50.

Teste (ajuste)	Concentração (mmol·L <sup>-1</sup> )	AME (g O <sub>2</sub> ·gSSV <sup>-1</sup> ·dia <sup>-1</sup> )	Inibição (%)	r <sup>2</sup>	V <sub>máx</sub> CH <sub>4</sub> (mL·dia <sup>-1</sup> )	CI50 (mmol·L <sup>-1</sup> )
TTADB22 (sigmoïdal)	0 (controle)	57,49	0	0,0079	66,99	não determinado
	0,03	59,93	0		69,83	
	0,06	56,19	2,26		65,47	
	0,09	55,04	4,27		64,13	
	0,12	65,35	0		76,15	
	0,24	61,91	0		72,14	
TTADB22Adap (exponencial)	0 (controle)	8,72	0	0,6601	10,16	2,01
	0,30	9,57	0		11,15	
	0,60	8,68	0,43		10,12	
	0,90	5,53	36,62		6,44	
	1,20	4,16	52,30		4,85	
	2,40	4,52	48,16		5,27	
TTADO4 (sigmoïdal)	0 (controle)	52,35	0	0,9576	9,43	5,25
	0,50	48,17	7,97		8,67	
	1	49,00	6,39		8,82	
	2	42,75	18,32		7,70	
	3	34,95	33,24		6,29	
	4	33,58	35,85		6,05	
TTARB19 (sigmoïdal)	0 (controle)	66,88	0	0,7429	11,67	1,81
	0,50	49,27	26,33		8,60	
	1	29,76	55,50		5,19	
	2	21,43	67,96		3,74	
	3	19,64	70,64		3,43	
	4	17,39	73,99		3,04	

AME: atividade metanogênica específica; CI50: concentração inibitória média.

relevante a respeito da degradação do corante antraquinônico RB19 é que um dos seus possíveis subprodutos é o dihidroantraceno, um hidrocarbeto aromático policíclico. Essa classe de compostos é conhecida pelo seu potencial tóxico (SAHOO *et al.*, 2020). Panswad e Luangdilok (2000) também reportaram baixas taxas de degradação para corantes antraquinônicos em relação a azocorantes.

O maior potencial inibidor verificado para o corante RB19 condiz com a maior variação observada de remoção de DQO para esse corante (Figura 3). As menores remoções foram obtidas para concentrações acima da CI50 (1,81/Tabela 2), sendo igual a 23% para a concentração de 2 mmol·L<sup>-1</sup> (Figura 3) e 94% para a concentração de 1 mmol·L<sup>-1</sup>.

### Remoção de cor

Para verificar a relação entre a concentração de corante adicionado e o seu percentual de remoção, foi feita a leitura de absorbância no comprimento de onda de máxima absorção para os corantes DO4 e RB19, no início e no fim dos testes. Os dados de remoção de cor obtidos são mostrados na Figura 5.

Com relação à remoção de cor nos testes realizados com o corante DO4, embora este tenha apresentado o menor potencial inibidor da metanogênese, a diferença entre os percentuais de remoção da maior concentração (4 mmol·L<sup>-1</sup>) e da menor concentração (0,5 mmol·L<sup>-1</sup>) foi de 30%. A menor quantidade de grupos sulfônicos na estrutura do composto (Figuras 2A e 2B) permite maiores valores de atividade metanogênica máxima, quando comparado com o corante DB22 em concentrações semelhantes (Tabela 2). Os grupos sulfônicos presentes na estrutura do corante podem ser liberados no meio na forma de íons sulfato e gerar competição entre as bactérias redutoras de sulfato e as arqueias metanogênicas (OMIL *et al.*, 1998). Além disso, a concentração de aminas aromáticas, tóxicas à metanogênese, geradas como subprodutos de degradação aumenta à medida que aumenta a concentração de corante. Grupos ligados a anéis aromáticos de azocorantes podem gerar maior ou menor reatividade da estrutura. Grupos nitro (-NO<sub>2</sub>) deixam o composto menos reativo, e essa pode ser uma possível causa para maior resistência desse corante em maiores concentrações (Figura 2B).

O aumento da concentração inicial do corante antraquinônico RB19 teve menor impacto sobre a eficiência de remoção de cor do que o observado para o corante DO4. O corante RB19 possui estrutura química mais estável do que os azocorantes. Desse modo, são termodinamicamente mais estáveis e difíceis de degradar quando submetidos às mesmas condições. Por consequência, verifica-se constância nas eficiências de remoção a partir de 2 mmol·L<sup>-1</sup>. Para esse corante, a diferença entre os percentuais de remoção entre a maior concentração (4 mmol·L<sup>-1</sup>) e a menor concentração (0,5 mmol·L<sup>-1</sup>) foi de 13%.

## CONCLUSÕES

O potencial inibidor dos corantes azo e antraquinônico estudados está diretamente ligado às estruturas desses compostos. Foram obtidos valores de CI50 de 5,25, 2 e 1,81 mmol·L<sup>-1</sup> para os corantes DO4, DB22 e RB19, respectivamente, indicando maior potencial inibidor do corante antraquinônico comparado aos demais. É provável que a maior solubilidade desse composto o torne mais inibidor, porém mais estudos são necessários para comprovar essa hipótese. Com relação aos azocorantes, o maior potencial inibidor da metanogênese verificado para DB22 pode estar relacionado à natureza e à maior quantidade de aminas aromáticas produzidas por mmol de corante degradado em relação ao corante DO4.

Em geral, observou-se maior eficiência de remoção de cor para as menores concentrações iniciais de corante. Grupos sulfônicos presentes na estrutura dos compostos influenciam na remoção de corante. Maior influência do aumento da concentração nos percentuais de remoção de cor foi verificada para o azocorante DO4, ao ser comparado com o RB19. A relativa estabilidade estrutural do corante antraquinônico RB19 conferiu diminuição na remoção de DQO de 70,6% quando a concentração do corante ultrapassou o valor de 1,81 mmol·L<sup>-1</sup>.

## CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Silva, C.P.: Investigação, Metodologia, Escrita — Primeira Redação, Escrita — Revisão e Edição. Gavazza, S.: Metodologia, Recursos, Supervisão, Escrita — Revisão e Edição. Araújo, S.P.: Escrita – Revisão e Edição.

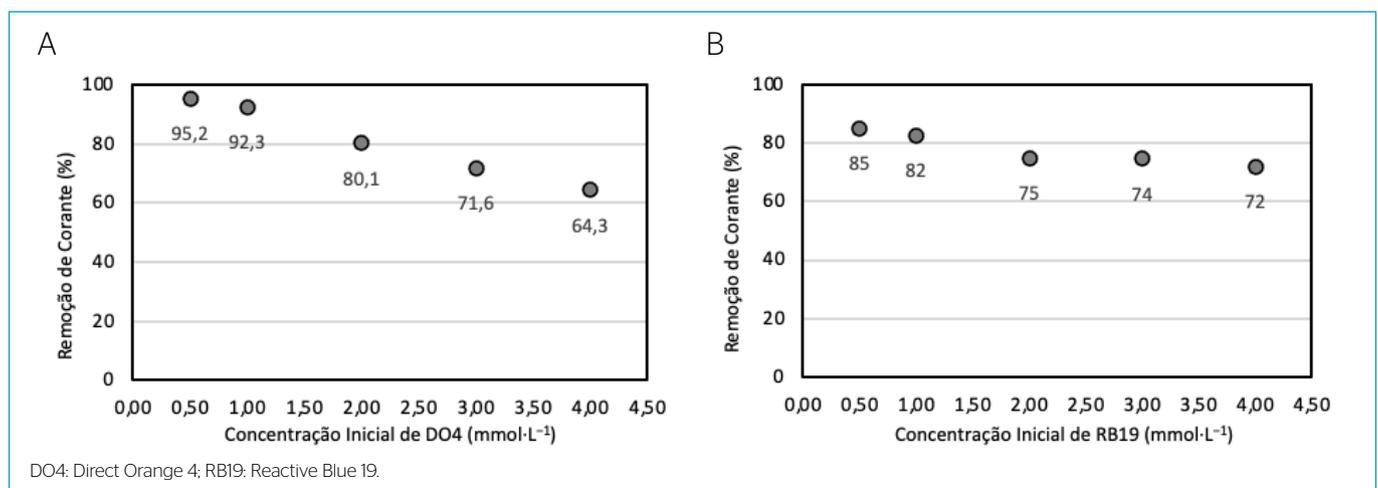


Figura 5 - Eficiência de remoção de corante observada em (A) TTADO4 e (B) TTARB19.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.; ASGHAR, A.; ABDUL RAMAN, A.A.; WAN DAUD, W.M.A. Enhancement of treatment efficiency of recalcitrant wastewater containing textile dyes using a newly developed iron zeolite socony mobil-5 heterogeneous catalyst. *PLoS One*, v. 10, n. 10, e0141348, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141348>
- AL-TOHAMY, R.; ALI, S.S.; LI, F.; OKASHA, K.M.; MAHMOUD, Y.A.G.; ELSAMAHY, T.; JIAO, H.; FU, Y.; SUN, J. 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, 113160, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113160>
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21. ed. Washington, DC.: American Public Health Association, 2005.
- AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A.L.; FORESTI, E.; FLORÊNCIO, M.D.L.; MONTEGGIA, L.O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 12, n. 2, p. 192-201, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010>
- CARVALHO, J.R.S.; AMARAL, F.M.; FLORENCIO, L.; KATO, M.T.; DELFORNO, T.P.; GAVAZZA, S. Microaerated UASB reactor treating textile wastewater: The core microbiome and removal of azo dye Direct Black 22. *Chemosphere*, v. 242, 125157, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125157>
- DEĞERMENCI, N.; AKYOL, K. Decolorization of the reactive blue 19 from aqueous solutions with the fenton oxidation process and modeling with deep neural networks. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 231, n. 2, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-4402-8>
- FERRAZ JR., A.D.N.; KATO, M.T.; FLORENCIO, L.; GAVAZZA, S. Textile effluent treatment in a UASB reactor followed by submerged aerated biofiltration. *Water Science and Technology*, v. 64, n. 8, p. 1581-1589, 2011. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.674>
- FLORENCIO, L.; JENIČEK, P.; FIELD, J.A.; LETTINGA, G. Effect of cobalt on the anaerobic degradation of methanol. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, v. 75, n. 5, p. 368-374, 1993. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(93\)90136-V](https://doi.org/10.1016/0922-338X(93)90136-V)
- FLORÊNCIO, T.D.M.; GODOI, L.A.G.D.; ROCHA, V.C.; OLIVEIRA, J.M.S.; MOTTERAN, F.; GAVAZZA, S.; VICENTINE, K.F.D.; DIMIANOVIC, M.H.R.Z. Anaerobic structured-bed reactor for azo dye decolorization in the presence of sulfate ions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v. 96, n. 6, p. 1700-1708, 2021. <https://doi.org/10.1002/jctb.6695>
- FOOD INGREDIENTS BRASIL. Dossiê corantes. *Revista-Fi*, v. 9, p. 40-59, 2009.
- JAWAD, A.H.; ABDULHAMEED, A.S.; MALEK, N.N.A.; ALOTHMAN, Z.A. Statistical optimization and modeling for color removal and COD reduction of reactive blue 19 dye by mesoporous chitosan-epichlorohydrin/kaolin clay composite. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 164, p. 4218-4230, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.201>
- LEE, Y.H.; PAVLOSTATHIS, S.G. Decolorization and toxicity of reactive anthraquinone textile dyes under methanogenic conditions. *Water Research*, v. 38, n. 7, p. 1838-1852, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.12.028>
- MANU, B.; CHAUDHARI, S. Anaerobic decolorisation of simulated textile wastewater containing azo dyes. *Bioresource Technology*, v. 82, n. 3, p. 225-231, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00190-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00190-0)
- MENEZES, O.; BRITO, R.; HALLWASS, F.; FLORÊNCIO, L.; KATO, M.T.; GAVAZZA, S. 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. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.04.020>
- NGUYEN, T.B.V.; NGUYEN-BICH, N.; VU, N.D.; HO PHUONG, H.; NGUYEN THI, H. Degradation of reactive blue 19 (RB19) by a green process based on peroxy-monocarbonate oxidation system. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 2021, 6696600, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6696600>
- OGUGBUE, C.; ORANUSI, N. Inhibitory effect of azo dyes on ammonia-N oxidation by Nitrosomonas. *African Journal of Applied Zoology and Environmental Biology*, v. 7, p. 61-67, 2005. <https://doi.org/10.4314/ajazeb.v7i1.41149>
- OMIL, F.; LENS, P.; VISSER, A.; HULSHOFF POL, L.W.; LETTINGA, G. Long-term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 57, n. 6, p. 676-685, 1998. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19980320\)57:6<676::AID-BIT5%3E3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19980320)57:6<676::AID-BIT5%3E3.0.CO;2-I)
- PAJAĞ, M.; DZIENISZEWSKA, A. Evaluation of the metallurgical dust sorbent efficacy in reactive blue 19 dye removal from aqueous solutions and textile wastewater. *Environmental Engineering Science*, v. 37, n. 7, p. 509-518, 2020. <https://doi.org/10.1089/ees.2019.0410>
- PANDEY, A.; SINGH, P.; IYENGAR, L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 59, n. 2, p. 73-84, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.08.006>
- PANSWAD, T.; LUANGDILOK, W. Decolorization of reactive dyes with different molecular structures under different environmental conditions. *Water Research*, v. 34, n. 17, p. 4177-4184, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00200-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00200-1)
- POPLI, S.; PATEL, U.D. Destruction of azo dyes by anaerobic-aerobic sequential biological treatment: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 12, n. 1, p. 405-420, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13762-014-0499-x>
- RAHMAN, M. Application of alternative food-preservation technologies to enhanced food safety and stability. *International Journal of Food Properties*, v. 14, n. 6, p. 1400-1401, 2011. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.604906>
- RIAL, J.B.; FERREIRA, M.L. Challenges of dye removal treatments based on IONzymes: Beyond heterogeneous Fenton. *Journal of Water Process Engineering*, v. 41, 102065, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102065>
- SAHOO, M.B.; RAVI KUMAR, V.V.B.; BANIK, K.B.; BORAH, P. Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs): Structures, Synthesis and their Biological Profile. *Current Organic Synthesis*, v. 17, n. 8, p. 625-640, 2020. <https://doi.org/10.2174/1570179417666200713182441>

SANTOS, A.B.; BISSCHOPS, I.A.E.; CERVANTES, F.J.; VAN LIER, J.B. The transformation and toxicity of anthraquinone dyes during thermophilic (55°C) and mesophilic (30°C) anaerobic treatments. *Journal of Biotechnology*, v. 115, n. 4, p. 345-353, 2005a. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.09.007>

SANTOS, A.B.; TRAVERSE, J.; CERVANTES, F.J.; VAN LIER, J.B. Enhancing the electron transfer capacity and subsequent color removal in bioreactors by applying thermophilic anaerobic treatment and redox mediators. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 89, n. 1, p. 42-52, 2005b. <https://doi.org/10.1002/bit.20308>

SILVA, H.F.; BISCARO, A.D.F.V.; PASSOS, J.R.D.S. Funções sigmoidais aplicadas na determinação da atividade metanogênica específica - AME. *Revista Brasileira de Biometria*, v. 28, n. 1, p. 141-190, 2010.

TAVARES, M.F.; AVELINO, K.V.; ARAUJO, N.L.; MARIM, R.A.; LINDE, G.A.; COLAUTO, N.B.; VALLE, J.S. Decolorization of azo and anthraquinone dyes by crude laccase produced by *Lentinus crinitus* in solid state cultivation. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 51, n. 1, p. 99-106, 2019. <https://doi.org/10.1007%2Fs42770-019-00189-w>

VAMAN RAO, C. Benzidine. In: WEXLER, P. (org.). *Encyclopedia of toxicology*. 2. ed. Nova York: Elsevier, 2005. p. 255-257.

WANG, L.K.; CHANG, S.-Y.; HUNG, Y.-T.; CHEN, J.P. Elutriation and polymer conditioning. In: WANG, L.K.; SHAMMAS, N.K.; HUNG, Y.T. (org.). *Biosolids treatment processes*. Totowa: Humana Press, 2007. p. 389-402.

