



DEGRADAÇÃO DO CORANTE VERMELHO REATIVO 239 POR OZONIZAÇÃO
E AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS SUBPRODUTOS NO DESEMPENHO E
COMUNIDADE MICROBIANA DE SISTEMA MBBR

Natália Costa Dias

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientadores: Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti
João Paulo Bassin

Rio de Janeiro
Outubro de 2019

DEGRADAÇÃO DO CORANTE VERMELHO REATIVO 239 POR OZONIZAÇÃO
E AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS SUBPRODUTOS NO DESEMPENHO E
COMUNIDADE MICROBIANA DE SISTEMA MBBR

Natália Costa Dias

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Examinada por:

Profª. Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti, D. Sc.

Prof. João Paulo Bassin, D. Sc.

Prof. Tito Lívio Moitinho Alves, D. Sc.

Prof. Enrico Mendes Saggioro, D. Sc.

Prof. Luiz Alberto Teixeira, D. Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

OUTUBRO DE 2019

Dias, Natália Costa

Degradação do corante Vermelho Reativo 239 por ozonização e avaliação do efeito dos subprodutos no desempenho e comunidade microbiana de sistema MBBR/ Natália Costa Dias. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2019.

XVIII, 125p.; 29,7 cm.

Orientadores: Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

João Paulo Bassin

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2019.

Referências Bibliográficas: p. 108-120

1. Corante azo. 2. Ozonização. 3. MBBR. I. Dezotti, Márcia Walquíria de Carvalho *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

Agradecimentos

A Deus por me iluminar e dar forças ao longo da realização do doutorado.

Aos meus pais Marilda e Jerônimo pelos ensinamentos, amor e apoio incondicional.

Ao William (Ju) pelo companheirismo, paciência, parceria e apoio nos momentos de alegria e de tristeza.

Aos meus orientadores Márcia Dezotti e João Paulo Bassin por acreditar, incentivar, compartilhar conhecimento e amizade. Muito obrigada por todas as conversas, discussões, apoio moral e psicológico. Vocês foram fundamentais para que tudo corresse bem.

Ao Professor Victor Luis dos Santos Teixeira da Silva pela confiança, compreensão, conhecimento, alegria, conversas e por me deixar seguir em frente. Onde você estiver, espero que você esteja vendo que eu consegui.

Ao Professor Geraldo Lippel Sant'Anna Jr. por compartilhar conhecimento, disponibilidade e auxílio.

Às Professoras Daniele Bila e Juacyara Campos pela disponibilidade e conhecimento.

Aos professores Tito Moitinho Alves (LabBIO/PEQ) e Débora Azevedo (LADETEC/IQ), pelo auxílio indispensável neste projeto e pela experiência.

Ao Professor Frederico Kronemberger pelas colaborações nos seminários de acompanhamento.

Ao Jonathan Ramos pela amizade e auxílio nos ensaios, análises inúmeras e diversas.

À Mônica Yumi (LabBIO/PEQ), pela amizade, disponibilidade e auxílio.

À Eloise e Gisele do Laboratório de Engenharia Sanitária/UERJ e à Alyne (Labtare/EQ), pelo auxílio nos ensaios de toxicidade e extração das amostras.

Aos técnicos e alunos do LADETEC/IQ pela disponibilidade, auxílio e conhecimento nas análises de CG/MS e Orbitrap.

À todos os amigos e amigas do LABPOL. Muito obrigada por toda ajuda, conversas, discussões, apoio moral, almoços e festas. Vocês foram imprescindíveis na realização desse trabalho, muito obrigada por tudo!

As minhas queridas amigas Monica e Maria Carol, muito obrigada pelos reencontros, abraços e amizade.

Ao Sr. Alencar do setor de transporte da COPPE, pela disponibilidade e auxílio.

À Luciana Santos, Vera Cruz, Luan Lopes e Mary pela disponibilidade, atenção, conversas e auxílio.

À CAPES e ao CNPq, pelo financiamento desse trabalho.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

DEGRADAÇÃO DO CORANTE VERMELHO REATIVO 239 POR OZONIZAÇÃO
E AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS SUBPRODUTOS NO DESEMPENHO E
COMUNIDADE MICROBIANA DE SISTEMA MBBR

Natália Costa Dias

Outubro/2019

Orientadores: Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

João Paulo Bassin

Programa: Engenharia Química

Neste trabalho foi avaliada a associação dos processos de ozonização e biológico para a degradação do corante vermelho reativo 239 (VR 239) e de seus subprodutos. A ozonização foi realizada em batelada com 50 mg/L de VR 239, 20 mg/L de ozônio e em pH 7. A degradação dos produtos da ozonização do VR 239 foi realizada em modo contínuo em um único reator de leito móvel com biofilme (MBBR) e em dois MBBRs em série. A remoção total da cor foi obtida após 12 min de ozonização. As remoções de DQO (62%) e COT (35%) e o crescente consumo de ozônio indicaram a mineralização incompleta do VR 239. A ausência de toxicidade, usando *Vibrio fischeri*, do corante foi obtida após 4 min de ozonização. Os produtos da ozonização do VR 239 identificados foram anilina, fenol, catecol e 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-ol. Na degradação dos produtos da ozonização em um único MBBR houve a adaptação das bactérias heterotróficas ao efluente ozonizado. A remoção de amônio (40%) demonstrou a inibição da nitrificação pelos produtos da ozonização do VR 239. Quando a degradação foi realizada em dois MBBRs em série, a remoção de amônio (40%) indicou que a mudança de um para dois reatores em série não propiciou melhorias na nitrificação. Testes com meio sintético, sem corante, comprovaram que as bactérias oxidadoras de amônio foram inibidas pelo composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-ol, que passou incólume pelo sistema MBBR. A associação dos processos de ozonização e biológico mostrou ser eficiente na remoção do VR 239, contudo, o MBBR se mostrou frágil na presença de compostos triazínicos, que é tóxico e inibidor para as

bactérias nitrificantes, conforme confirmado por análises da estrutura da comunidade microbiana por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA de amostras do biofilme dos reatores biológicos.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

DEGRADATION OF REACTIVE RED DYE 239 BY OZONATION AND
EVALUATION OF THE EFFECT OF BY-PRODUCTS ON PERFORMANCE AND
MICROBIAN COMMUNITY OF THE MBBR SYSTEM

Natália Costa Dias

October/2019

Advisors: Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

João Paulo Bassin

Department: Chemical Engineering

This study evaluated the association of the ozonation and biological processes for the degradation of reactive red 239 (RR 239) azo dye and its by-products. Ozonation tests were performed in batch with 50 mg/L the azo dye, 20 mg/L the ozone and at pH 7. The degradation of the RR 239 ozonation products was performed continuously in a single biofilm moving bed reactor (MBBR) and two MBBRs in series. Complete color removal was achieved after 12 min of ozonation. COD (62%) and DOC (35%) removals and increasing ozone consumption indicated incomplete mineralization of RR 239. Absence of dye toxicity using *Vibrio fischeri* was obtained after 4 min of ozonation. The RR 239 ozonation products identified were aniline, phenol, catechol and 4-amino-6-chloro-1,3,5-triazine-ol. The degradation of ozonation by-products by a single MBBR led to the adaptation of heterotrophic bacteria to the ozonated effluent. Ammonium removal (40%) demonstrated the inhibition of nitrification by ozonation by-products. When degradation was performed by two MBBRs in series, the low ammonium removal (40%) revealed that the change from a single to two reactors did not improve nitrification. Tests with dye-free synthetic medium confirmed that the AOB were inhibited by the compound 4-amino-6-chloro-1,3,5-triazin-ol, not metabolized by the MBBR system. The association of ozonation and biological processes was efficient in removing RR 239, however, MBBR was fragile in the presence of triazine compounds,

which is toxic and inhibitory to nitrifiers, as confirmed by microbial community structure analysis through the 16S rRNA gene sequencing of biofilm samples.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. EFLUENTE DA INDÚSTRIA TÊXTIL	4
3.1.1. Indústria Têxtil	4
3.1.2. Geração e Características do Efluente da Indústria Têxtil	4
3.1.3. Corantes	8
3.2. PROCESSOS PARA O TRATAMENTO DE EFLUENTES	15
3.2.1. Processos Oxidativos Avançados	15
3.2.2. Processos Biológicos	28
3.2.3. Associação de Processos Oxidativos e Biológicos	45
4. MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1. EFLUENTE SINTÉTICO	47
4.2. PROCESSOS DE TRATAMENTO PARA A DEGRADAÇÃO DO VR 239 E METABOLIZAÇÃO DE SEUS SUBPRODUTOS	48
4.2.1. Ozonização	51
4.2.2. Reator de Leito Móvel com Biofilme (MBBR)	52
4.3. CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE SINTÉTICO	55
4.3.1. Remoção de cor e espectro de absorção	55
4.3.2. Toxicidade	56
4.3.3. Identificação dos intermediários	57
4.3.4. Extração de DNA e sequenciamento do gene 16S rRNA	58
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1. OZONIZAÇÃO	60
5.1.1. Remoção de Cor	60
5.1.2. Remoção de Carbono e Nitrogênio	64
5.1.3. Toxicidade	67
5.1.4. Identificação dos Produtos Intermediários da Ozonização	68
5.2. REATOR DE LEITO MÓVEL COM BIOFILME – FASE 1	70
5.2.1. Remoção de Matéria Orgânica	71

5.2.2. Remoção de Nitrogênio.....	74
5.2.3. Concentração de Sólidos Suspensos e Aderidos.....	79
5.2.4. Identificação dos Intermediários formados na ozonização do VR 239 no efluente após o MBBR.....	81
5.3. REATORES DE LEITO MÓVEL COM BIOFILME EM SÉRIE – FASE 2.....	82
5.3.1 Remoção de Matéria Orgânica.....	83
5.3.2 Remoção de Nitrogênio.....	85
5.3.3 Concentração de Sólidos Suspensos e Aderidos.....	88
5.3.4 Identificação dos Intermediários formados na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelos MBBRs em série.....	92
5.4. ANÁLISE DA COMUNIDADE MICROBIANA DO MBBR NAS FASES 1 e 2.....	93
5.4.1 Análise dos Perfis Bacterianos das Fases 1 e 2.....	96
6. CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES.....	105
REFERÊNCIAS.....	108
APÊNDICE A.....	121
A.1. Curvas cinéticas de remoção de cor do VR 239 por ozônio.....	121
A.2. Espectros de massas do anel triazínico identificado.....	122

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas do processamento de tecidos	5
Figura 2 – Corantes naturais: a) Alizarina, b) Índigo, c) Púrpura	9
Figura 3 – Estrutura de corante ácido: corante ácido Violeta.....	10
Figura 4 – Processo de redução do corante à cuba com ditionito de sódio	10
Figura 5 – Hidrólise do corante Vermelho de Lonamina KA	11
Figura 6 – Exemplo de corante direto: corante Vermelho Congo.....	11
Figura 7 – Estrutura de corante pré-metalizado cromo/corante 1:1 por meio do grupo amino como ligante	12
Figura 8 – Estruturas químicas de corantes monoazo, diazo e triazo.....	13
Figura 9 – Geração de ozônio por descarga elétrica (Corona)	18
Figura 10 – Mecanismos de reação do ozônio	18
Figura 11 – Reação de ciclo adição do ozônio	19
Figura 12 – Reação eletrofílica entre ozônio e um composto aromático	20
Figura 13 – Mecanismo de reação indireta do ozônio.....	21
Figura 14 – Solubilidade do ozônio e do oxigênio em função da temperatura	21
Figura 15 – Mecanismo de degradação proposto do corante vermelho reativo 195 por ozônio. A: via de degradação 1; B: via de degradação 2.....	24
Figura 16 – Mecanismo de degradação proposto do corante vermelho reativo X-3B por ozônio/ultrassom.....	25
Figura 17 – Biomedia K1 usado no MBBR	29
Figura 18 – Diagrama do MBBR aeróbio (a) e anaeróbio (b).....	30
Figura 19 – Processos de formação do biofilme.....	30
Figura 20 – Representação esquemática dos processos envolvidos no transporte de degradação em biofilmes	31
Figura 21 – Representação simplificada da degradação de matéria orgânica aeróbia ...	32
Figura 22 – Etapas da degradação de matéria orgânica aeróbia.....	33
Figura 23 – Equilíbrio químico da amônia em função do pH	34
Figura 24 – Conversão de compostos nitrogenados em processo biológico aeróbio	35
Figura 25 – Relação entre as concentrações de amônia livre (NH ₃) e ácido nitroso (HNO ₂) na inibição das bactérias nitrificantes. Zona 1 = inibição da nitrosação e	

nitratação por NH_3 ; Zona 2 = inibição da nitratação por NH_3 ; Zona 3 = completa nitrificação; Zona 4 = inibição da nitratação por HNO_2	37
Figura 26 – Mecanismos de degradação biológica do corante azo	41
Figura 27 – Mecanismo de degradação do corante azo via mediador redox.....	41
Figura 28 – Degradação dos corantes azo e aminas aromáticas sob condições anaeróbia e aeróbia.....	42
Figura 29 – Processo de tratamento do corante VR 239 por ozonização.....	49
Figura 30 – Processo de tratamento do corante VR 239 por um MBBR na Fase 1 e dois MBBRs em série na Fase 2	50
Figura 31 – Sistema de ozonização: A) gerador de ozônio; B) reator de ozonização; C e D) lavador de gás com solução de KI a 2%	51
Figura 32 – Reator de leito móvel com biofilme durante operação na Fase 1: a) aparato experimental; b) detalhe do reator	53
Figura 33 – Reatores de leito móvel com biofilme em série na Fase 2: a) aparato experimental; b) detalhe do reator	53
Figura 34 – Curva de calibração relacionando a absorbância no comprimento de onda de máxima absorção do corante e a concentração do corante VR 239	56
Figura 35 – Remoção de cor por ozonização para os valores de pH 3, 7 e 10, concentração inicial de VR 239 de 50 mg/L e concentração de ozônio de 40 mgO ₃ /L na entrada do reator em função do tempo.	61
Figura 36 – Dose e consumo de O ₃ em pH 3, 7 e 10 após 4 min de ozonização. Concentração inicial de [VR 239] ₀ de 50 mg/L e de ozônio de 40 mgO ₃ /L na entrada do reator.....	61
Figura 37– Remoção de cor (□) e pH (▲) em função do tempo de ozonização. [VR 239] ₀ = 50 mg/L e [O ₃] = 20 mg/L.....	62
Figura 38– Espectro de absorção do VR 239 para diferentes tempos de ozonização, pH 7, concentração inicial de VR 239 de 50 mg/L e concentração de ozônio de 20 mg/L. 64	64
Figura 39 – Remoção de DQO e COT ao longo da ozonização em pH 7 tamponado, [VR 239] ₀ = 50 mg/L e introdução no reator de 20 mgO ₃ /L.....	65
Figura 40 – Relação entre a concentração de VR 239 e O ₃ consumido em função do tempo de ozonização. [VR 239] ₀ de 50 mg/L, concentração de ozônio de 20 mgO ₃ /L e pH constante em 7 (meio tamponado).....	65

Figura 41 – Concentração de nitrogênio total, amônia e nitrato em função do tempo de ozonização. [VR 239] ₀ de 50 mg/L e concentração de 20 mgO ₃ /L e pH 7 (tamponado).	67
Figura 42 – Mecanismo proposto para a degradação do VR 239 por ozônio. Compostos identificados por Zhang et al. (2015) (■), Shen et al. (2017) (●) e pelo autor (*).	70
Figura 43 – DQO na entrada e saída do MBBR durante os 5 regimes de operação alimentados com meio sintético sem corante (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5). Os números indicados na parte superior da Figura indicam os regimes de operação.	73
Figura 44 – Remoção de COD obtidos no MBBR para os 5 regimes de operação: meio sintético sem corante (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5).	73
Figura 45 – Concentração de nitrogênio amoniacal na entrada e saída do MBBR durante os 5 regimes de operação alimentados com meio sintético (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5). Os números indicados na parte superior da Figura indicam os regimes de operação.	75
Figura 46 – Concentração de nitrogênio na entrada e na saída do sistema MBBR, nas formas de amônia, nitrito e nitrato para os 5 regimes de operação alimentados com meio sintético (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5).	75
Figura 47 – Compostos triazínicos, a: possuem propriedade herbicida, b e c: inibidores das bactérias nitrificantes.	79
Figura 48 – Concentração de sólidos suspensos, fixos e voláteis no efluente ao longo da operação do MBBR: regimes 3 e 5 (efluente sintético ozonizado) e regime 4 (meio sintético).	80
Figura 49 – Micrografia da biomassa aderida a biomedial no regime 5 de operação do MBBR alimentado com efluente sintético ozonizado (aumento de 100x e 400x)	81
Figura 50 – DQO na entrada e saída do MBBR ₁ e MBBR ₂ durante os três regimes de operação alimentados com efluente sintético ozonizado por 12 min (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8). Os números indicados na parte superior da Figura indicam os regimes de operação.	84
Figura 51 – Remoção de COD para os regimes 6, 7 e 8 de operação dos MBBR ₁ e MBBR ₂ alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).	84

Figura 52 – Concentração de nitrogênio amoniacal de entrada e saída dos MBBR ₁ e MBBR ₂ durante os 3 regimes de operação alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).....	86
Figura 53 – Concentração de amônio na entrada do sistema e de nitrito e nitrato na saída do MBBR ₁ para os 3 regimes de operação alimentados com efluente sintético ozonizado por 12 min (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).....	87
Figura 54 – Concentração de sólidos suspensos para os 3 regimes do MBBR ₁ alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).....	89
Figura 55 – Concentração de sólidos suspensos para os 3 regimes do MBBR ₂ alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).....	89
Figura 56 – Concentração de sólidos aderidos para o MBBR ₁ nos regimes 6, 7 e 8 de operação alimentado com efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada por 12 min, efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada 20 min e efluente sintético.	90
Figura 57 – Concentração de sólidos aderidos para os regimes 6, 7 e 8 de operação do MBBR ₂ alimentado com efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada por 12 min, efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada 20 min e efluente sintético.	91
Figura 58 – Microfotografia da biomassa aderida no regime 6 de operação do MBBR ₁ alimentado com efluente sintético ozonizado (aumento de 400x e 1000x).....	92
Figura 59 – Curvas de rarefação para os MBBRs nos regimes operacionais analisados	94
Figura 60 – Abundância relativa dos filós bacterianos nos MBBRs nos diferentes regimes operacionais nas Fases 1 (regime 5) e 2 (regimes 6, 7 e 8).	97
Figura 61 – Comunidade bacteriana em nível de ordem nos MBBRs para os diferentes regimes operacionais nas Fases 1 (regime 5) e 2 (regimes 6, 7 e 8). Ordens menos abundantes foram agrupadas na categoria “Outros”.....	99
Figura 62 – Abundância relativa dos gêneros bacterianos nos MBBRs para os diferentes regimes operacionais nas Fases 1 (regime 5) e 2 (regimes 6, 7 e 8). Gêneros menos abundantes foram agrupados na categoria “Outros”.	100
Figura 63 – Análise multivariada por escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) para os diferentes regimes operacionais nas Fases 1 e 2.....	104

Figura A1 – Curvas cinéticas de remoção de cor do corante vermelho reativo 239 por ozonização nas concentrações de 50 mgVR239/L, 40 mgO ₃ /L para pH 3 (A), pH 7 (B), pH 10 (C) e pH 7 e 20 mgO ₃ /L (D)	121
Figura A2 – Espectro de massas de alta resolução do anel triazínico após ozonização do VR 239 nas concentrações de 50 mgVR239/L e 20 mgO ₃ /L.....	122
Figura A3 – Espectro de massa do anel triazínico formado na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelo MBBR no regime 5 da Fase 1	123
Figura A4 – Espectro de massa do anel triazínico formado na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelos MBBRs em série no regime 6 da Fase 2.....	124
Figura A5 – Espectro de massa do anel triazínico formado na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelos MBBRs em série no regime 7 da Fase 2.....	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características das águas residuárias produzidas em cada etapa do processamento de tecidos	7
Tabela 2 – Características de Efluentes da Indústria Têxtil de diferentes países	8
Tabela 3 – Fixação do corante à fibra.....	9
Tabela 4 – Características do corante vermelho reativo 239.....	14
Tabela 5 – Processos oxidativos avançados	16
Tabela 6 – Potencial de oxirredução de oxidantes	16
Tabela 7 – Propriedades físicas do ozônio	17
Tabela 8 – Métodos para geração de ozônio.	17
Tabela 9 – Remoção de cor, DQO e COT de corantes azo por ozonização.....	23
Tabela 10 – Produtos intermediários sugeridos e observados na ozonização de corantes azo.....	26
Tabela 10 – Produtos intermediários sugeridos e observados na ozonização de corantes azo – Continuação1	27
Tabela 10 – Produtos intermediários sugeridos e observados na ozonização de corantes azo – Continuação2	28
Tabela 11 – Condições operacionais para a remoção de matéria orgânica	33
Tabela 12 – Condições operacionais para a remoção de nitrogênio.....	36
Tabela 13 – Efeito inibidor de compostos orgânicos na oxidação da amônia.....	39
Tabela 14 – Remoção de corantes azo por processo biológico	43
Tabela 15 – Remoção de corante azo por processos oxidativos e biológicos associados	46
Tabela 16 – Meio sintético utilizado no MBBR.....	47
Tabela 17 – Condições de operação do MBBR na Fase 1 e Fase 2	54
Tabela 18 – Parâmetros físico-químicos avaliados durante a pesquisa.....	55
Tabela 19 – Amostras coletadas para análise da diversidade microbiana nas Fases 1 e 2 dos MBBRs	58
Tabela 20 – Constantes cinéticas (k) e coeficientes de correlação (R^2) para a reação de ozonização do VR 239 na concentração de 50 mg/L	63

Tabela 21 – Razão DQO/COT para diferentes tempos de ozonização. [VR 239] ₀ de 50 mg/L e concentração inicial de 20 mgO ₃ /L e pH 7 (tamponado).....	66
Tabela 22 – Toxicidade do corante VR 239 em diferentes tempos de ozonização em pH 7 (tamponado), [VR 239] ₀ = 50 mg/L, [O ₃] ₀ = 20 mg/L e uso de <i>Vibrio fischeri</i> proveniente da Biolux e Ambriex.....	68
Tabela 23 – Produtos intermediários identificados após ozonização do corante VR 239 para [VR 239] ₀ = 50 mg/L, 20 mg/L de ozônio, pH 7 tamponado, 12 min e 20 min de reação.....	69
Tabela 24 – Condições operacionais do MBBR ao longo dos cinco regimes da Fase 1. O TRH foi mantido em 6 h.....	71
Tabela 25 – Concentração de sólidos aderidos totais para diferentes efluentes em MBBR.....	80
Tabela 26 – Intermediários formados na ozonização do VR 239 e identificados após tratamento biológico no MBBR da Fase 1.	82
Tabela 27 – Condições de operação do MBBR durante os regimes 6, 7 e 8 (Fase 2)....	83
Tabela 28 – Razão entre sólidos aderidos voláteis e totais para os regimes 6,7 e 8 do MBBR ₁ e MBBR ₂	91
Tabela 29 – Intermediários da solução de VR 239 ozonizada identificados no efluente após o processo biológico pelos MBBRs em série - Fase 2	93
Tabela 30 – Índices de diversidade α do MBBR ₁ e MBBR ₂ em diferentes regimes operacionais.....	95

1. INTRODUÇÃO

A partir da Revolução Industrial, a manufatura têxtil tem se desenvolvido e grandes quantidades de produtos químicos tem sido produzidas para atender as necessidades da sociedade em busca de qualidade de vida (FUJITA e JORENTE, 2015).

Os corantes sintéticos, presentes nas águas residuárias da indústria têxtil, surgiram no século XVIII, obtidos a partir do alcatrão de hulha e atualmente são produzidos mais 10.000 corantes têxteis, sendo utilizados 800.000 toneladas de corantes ao ano (BAZIN *et al.*, 2012; AYADI *et al.*, 2016). Na indústria têxtil Brasileira as fibras mais utilizadas são o algodão e o poliéster (ABIT, 2019). A classe de corante usada para o tingimento dessas fibras são os corantes azo, como o corante vermelho reativo 239 (AMORIM *et al.*, 2009).

Para o processamento de 10 a 20 toneladas de fibras, são gerados de 1.000 a 3.000 m³ de águas residuárias ao dia (GHALY *et al.*, 2014). A presença de corantes nas águas residuárias pode reduzir a fotossíntese e a concentração de oxigênio dissolvido nos corpos hídricos (GHALY *et al.*, 2014; KANT, 2012; ZAHARIA e SUTEU, 2012). Contudo não há definição das condições e padrões de lançamento de efluentes quanto à cor de acordo com a Resolução nº 430 do CONAMA (2011). Somente a Resolução nº 357 do CONAMA (2005) define as condições e padrões de qualidade dos corpos hídricos, que deve ser virtualmente para águas doces classe 1 e para as classes 2 e 3 é permitida a presença de corantes proveniente de fontes antrópicas que possam ser removidos por processo físico-químico convencional e cor verdadeira de até 75 mgPT/L.

Os corantes azo possuem grande potencial poluidor dos corpos hídricos, causando efeitos adversos aos seres vivos. O problema se torna ainda maior uma vez que os processos convencionais de tratamento de efluentes podem proporcionar a formação de compostos tóxicos, como as amins aromáticas e as triazinas. Estes compostos possuem propriedades carcinogênicas aos seres humanos e podem ocasionar a infertilidade em homens e o câncer de mama em mulheres (LACASSE e BAUMANN, 2004; PÜNTENER e PAGE, 2004; YIXIN *et al.*, 2014; EPA, 2013).

Os processos biológicos têm sido extensivamente utilizados no tratamento de efluentes devido ao baixo custo, ao uso eventual de produtos químicos e à elevada capacidade de degradação (ADABJU, 2013). Entretanto, o processo biológico para a

remoção de corantes azo é prejudicado devido ao grupamento -NH- triazina na posição meta, presente na estrutura de corantes azo. A posição orto e para dos grupamentos proporciona um efeito de ressonância e torna a ligação azo mais apta à oxidação (SOLÍS *et al.*, 2012).

Como alternativa aos processos convencionais, majoritariamente baseados em micro-organismos, existem os processos de oxidação avançada, como o processo de ozonização. A ozonização é fundamentada na geração do ozônio molecular e sua decomposição em radicais HO^\bullet e HO_2^\bullet , que reagem com o composto químico, e oxidam contaminantes orgânicos de difícil degradação biológica em produtos finais mais simples (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003).

Em função das vantagens e desvantagens dos processos de tratamento para a degradação de corantes azo apresentados, e a limitação da informação acerca destes processos associados, há a necessidade de estudos buscando um processo eficiente. Desta forma, este trabalho tem o objetivo de avaliar a associação do processo de ozonização e do processo biológico por MBBR para a remoção do corante vermelho reativo 239 e a degradação de seus produtos.

2. OBJETIVOS

GERAL

Investigar a metabolização de subprodutos gerados na ozonização do corante Vermelho Reativo 239 no MBBR.

ESPECÍFICOS

- Determinar a melhor condição de ozonização para a remoção do corante Vermelho Reativo 239;
- Avaliar a toxicidade do corante Vermelho Reativo 239 após ozonização;
- Identificar os subprodutos do corante Vermelho Reativo 239 após ozonização;
- Estudar a metabolização dos subprodutos de ozonização em MBBR;
- Identificar os subprodutos do corante Vermelho Reativo 239 após MBBR.
- Estudar a comunidade microbiana presente no MBBR

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. EFLUENTE DA INDÚSTRIA TÊXTIL

3.1.1. Indústria Têxtil

A indústria têxtil está presente no mundo devido à necessidade dos seres humanos de vestuário, incluindo diversas áreas como hospitalar, militar, decoração, entre outras. Para tanto, a sociedade desenvolveu uma infraestrutura produtiva devido à demanda em larga escala (FUJITA e JORENTE, 2015).

No Brasil, a indústria têxtil teve seu início com a chegada dos portugueses. No início do período colonial havia a cultura algodoeira no norte e nordeste do país. Entretanto, em função do alvará da Rainha Maria I e da redução das taxas tarifárias de importação de tecidos ingleses, a indústria têxtil foi desativada no Brasil. Somente no final do século XIX, o Brasil retomou o desenvolvimento da indústria têxtil, quando diversas fábricas foram inauguradas no nordeste e a partir de 1866 as indústrias passaram a se concentrar nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (SINDIMALHAS, 2004; FUJITA e JORENTE, 2015).

Atualmente, o Brasil é o quinto maior produtor têxtil, com produção anual de 1,9 milhões de toneladas de algodão e plumas, ficando atrás da China, Índia, Estados Unidos e Paquistão (ABIT, 2013). Em 2010, o consumo mundial de fibras foi de 11,6 kg/habitante, dentre as quais 62% são de fibras sintéticas e 38% de fibras naturais.

3.1.2. Geração e Características do Efluente da Indústria Têxtil

Para a produção de vestuário, mobiliário doméstico e bens industriais, as fibras de algodão e sintéticas são processadas em quatro etapas: a formação dos fios, a formação dos tecidos, o processamento úmido e a fabricação do produto têxtil (BABU *et al.*, 2007), como apresentado na Figura 1.

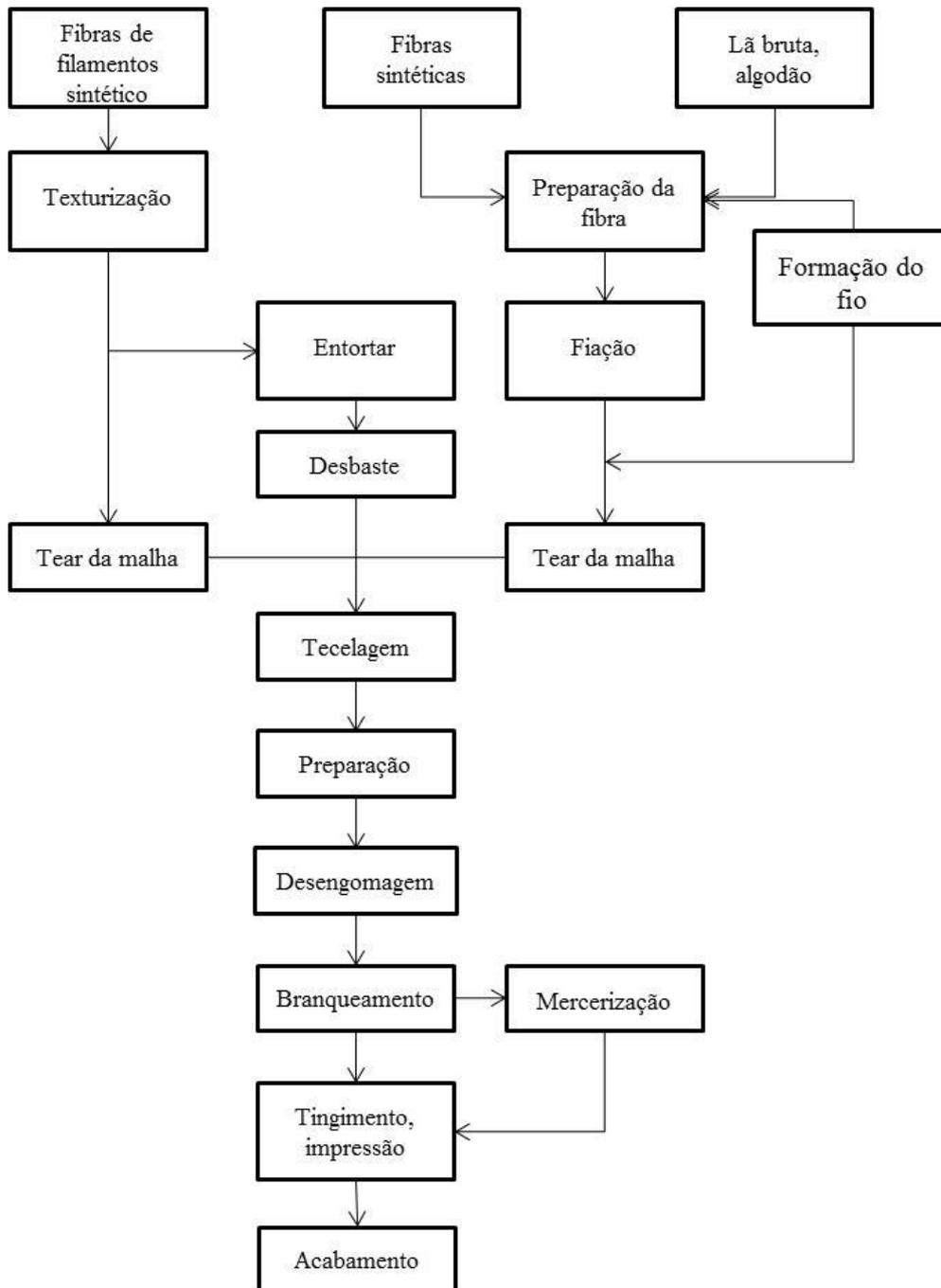


Figura 1 – Etapas do processamento de tecidos

Fonte: adaptado de BABU *et al.* (2007)

A água utilizada e a água residuária gerada no processamento da fibra têxtil são provenientes da etapa de desengomagem até a etapa de acabamento.

Na etapa de desengomagem, o amido presente na malha é removido e convertido em produtos solúveis por hidrólise, utilizando enzimas ou ácidos minerais, ou por oxidação, utilizando brometo de sódio ou cloreto de sódio (BABU *et al.*, 2007). O efluente gerado nesta etapa apresenta elevada concentração de demanda química de

oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sólidos suspensos e sólidos dissolvidos.

O branqueamento descolore a malha para a produção de produtos têxteis com cor de tonalidades pálidas e luminosas. O uso de hipoclorito de sódio, um dos agentes branqueadores mais antigos utilizados, origina a formação de subprodutos orgânicos clorados (BABU *et al.*, 2007). Entretanto, o hipoclorito de sódio pode ser substituído pelo ácido peracético, que é degradado a ácido acético, composto biodegradável (ROTT e MINKE, 1999). Nesta etapa, o efluente gerado apresenta elevada alcalinidade e concentração de sólidos suspensos.

A mercerização confere brilho, força à malha e melhora a absorção do corante ao tecido. Nesta etapa do processo, é utilizada uma solução de hidróxido de sódio e posteriormente é feita a lavagem cáustica do tecido (BABU *et al.*, 2007). O efluente gerado na mercerização apresenta elevado pH, alta concentração de sólidos dissolvidos e baixa DBO.

O tingimento confere cor ao tecido por meio do uso de corantes. A água, sob a forma de vapor, é utilizada para aquecer os banhos de tingimento do tecido. Como o processo de tingimento é demorado, os banhos para o tingimento e o banho de corante são drenados diversas vezes (BABU *et al.*, 2007). Assim, é gerado um grande volume de efluente com elevada concentração de corante, sal e substâncias orgânicas, que acarretam uma elevada concentração de DQO e DBO.

A impressão é o tingimento localizado do tecido em que constitui o desenho. Nesta etapa, as reações para a impressão do tecido são semelhantes à do tingimento, no entanto, a cor é aplicada sob a forma de uma pasta espessa do corante (BABU *et al.*, 2007). O efluente gerado nesta etapa apresenta elevada concentração de DBO, ureia e solventes.

O acabamento tem o objetivo de melhorar as propriedades do tecido, e são realizados os processos de abrandamento, reticulação e impermeabilização do tecido (BABU *et al.*, 2007). O efluente gerado nesta etapa apresenta elevada concentração de DQO e DBO devido ao uso de formaldeído.

Como mencionado, nas etapas do processamento têxtil, pode-se verificar a grande quantidade de água utilizada e de efluente gerado. Para a produção de 1 kg de tecido, são utilizados aproximadamente de 80 a 150 m³ de água e no processamento de 10 a 20 toneladas de fibras, são gerados de 1.000 a 3.000 m³ de águas residuárias (GHALY *et al.*, 2014).

As águas residuárias geradas no processamento de tecidos apresentam características diferentes em cada etapa do processo, como apresentado na Tabela 1. A concentração elevada de DQO, DBO, cor, sólidos suspensos e dissolvidos, traços de metais e compostos químicos como ceras, álcool polivinílico, hidróxido de sódio, surfactantes, solventes, sulfetos, entre outros, resultam em águas residuárias pouco biodegradáveis e tóxicas aos corpos hídricos.

Tabela 1 – Características das águas residuárias produzidas em cada etapa do processamento de tecidos

Processo	Composição do efluente	Característica
Preparação da fibra	Pouco ou inexistente	-
Fiação	Pouco ou inexistente	-
Corte / Engomagem	Amido, ceras, carboximetilcelulose (CMC), álcool polivinílico (PVA), agentes molhantes	Elevada DQO e DBO
Tecelagem	Pouco ou inexistente	-
Desengomagem	Amido, CMC, PVA, gorduras, ceras e pectina	Elevada DQO, DBO, sólidos suspensos e sólidos dissolvidos
Lavagem	Desinfetantes, resíduos de inseticida, NaOH, detergentes, gordura, óleos, lubrificantes e solventes	Elevada DQO, DBO e pH
Branqueamento	Hipoclorito de sódio, H ₂ O ₂ , cloreto, NaOH, ácidos tensoativos, fosfato de sódio e silicato de sódio ou agente estabilizador orgânico	Elevada alcalinidade e sólidos suspensos
Chamuscagem	Pouco ou inexistente	-
Mercerização	NaOH e cera de algodão	Elevado pH e sólidos dissolvidos, baixa DBO
Secagem	Pouco ou inexistente	-
Tingimento	Metais, sais, surfactantes, compostos catiônicos, corantes, sulfeto e solventes	Elevada cor, DBO e sólidos dissolvidos; baixo sólidos suspensos e presença de metais pesados
Impressão	Cola, amidos, gomas, uréia, ácidos espessantes, reticulantes, agentes redutores, solventes, metais	Elevada cor, DBO, sólidos suspensos, aspecto oleoso, baixo pH e DQO
Acabamento	Compostos tóxicos e solventes	Elevada DQO e DBO, sólidos suspensos

Fonte: BABU *et al.* (2004); YUSUFF e SONIBARE (2004); e GHALY *et al.* (2014)

Na Tabela 2, pode ser observado que a composição de efluentes da indústria têxtil é distinta em diversos países, e que as concentrações de DQO e cor podem variar de 80 a 12.000 mg/L e de 50 a 4.637 Pt/Co, respectivamente. Devido à elevada concentração de corantes e a presença de compostos coloidais, há um aumento da turbidez, que pode ocasionar a redução da penetração de luz e a transferência de

oxigênio na interface ar/água, que conseqüentemente reduzem a fotossíntese e a concentração de oxigênio dissolvido nos corpos hídricos. (GHALY *et al.*, 2014; ZAHARIA e SUTEU, 2012). Portanto, as características do efluente de indústria têxtil indicam que há a necessidade de tratamento efetivo para a redução da concentração de corantes e outros compostos.

Tabela 2 – Características de Efluentes da Indústria Têxtil de diferentes países

Parâmetros	Brasil		Nigéria ^(a)	Canadá ^(b)	Índia ^(c)	China ^(b)
	Paraná ^(d)	Pernambuco ^(e)				
pH	5,15	4,94 - 9,44	10,2 - 11,5	6 - 10	9,15	6,5-8,5
Temperatura (°C)	-	-	26,7 - 35,7	35 - 45	-	30
Cor (Pt-Co)	-	101 - 902	612 - 4.637	50 - 2.500	-	100
SDT (mg/L)	862	-	1,13 - 848	2.900 - 3.100	200	2
SST (mg/L)	474	-	1,2 - 471	15 - 8.000	2100	40
DBO (mg/L)	328	76 - 2.767	163 - 645	80 - 6.000	890	50
DQO (mg/L)	659	-	1,65 - 1.067	150 - 12.000	3400	80
Cloro livre (mg/L)	-	-	0,01 - 1,14	< 10	-	1
Óleos e graxas (mg/L)	-	2,3 - 143,1	6 - 8,3	10 - 30	-	-
Amônia (mg/L)	2,24	0,0 - 37	0,05 - 2,72	< 10	-	1x10 ⁻⁴
Nitrato (mg/L)	-	0,0 - 0,70	0,8 - 7,97	< 5	-	13
Fosfato (mg/L)	-	-	0,09 - 3,42	< 10	-	< 4
Cálcio (mg/L)	-	-	0,26 - 2,4	-	-	-
Magnésio (mg/L)	-	-	0,17 - 2,1	-	-	200
Sulfeto (mg/L)	51,67	-	0,1 - 1,94	600 - 1.000	-	-

Fonte: ^(a)YUSUFF e SONIBARE (2004); ^(b)GHALY *et al.* (2014); ^(c)KURADE *et al.* (2012); ^(d)PIZATO *et al.* (2017); ^(e)CHAGAS (2009)

3.1.3. Corantes

Corantes têxteis são compostos orgânicos usados com a finalidade de conferir cor a uma fibra (VELOSO, 2012). A cor dos corantes é proveniente de algumas características destes compostos, como por exemplo, absorção da luz no espectro visível (400 a 700 nm), possuem pelo menos um grupo cromóforo e possuem um sistema conjugado (IARC, 2010).

Os corantes são utilizados desde a antiguidade para dar cor aos tecidos, cerâmicas e ao couro. Acredita-se que o tingimento de tecidos surgiu na Índia, Pérsia, Fenícia e Egito, onde foram encontrados tecidos tingidos em tumbas do século XV a.C. Inicialmente, eram utilizados corantes naturais como o índigo, a púrpura e a alizarina

(Figura 2). O corante índigo, ou anil é obtido do suco da planta *Indigófera tinctoria*, a púrpura é obtida de moluscos marinhos do gênero *Murex brandaris*, e a alizarina é obtida da raiz das rubiáceas *Rubia tinctorum* e *Rubia cordifolia* (MENDA, 2011).

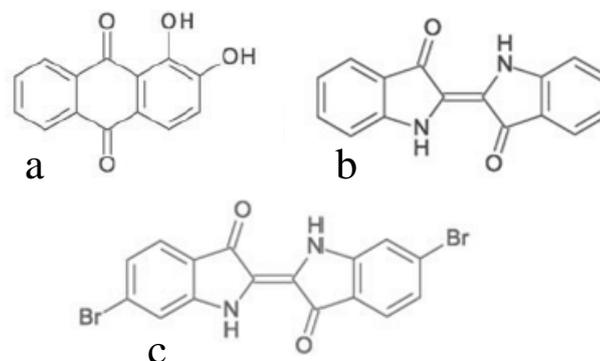


Figura 2 – Corantes naturais: a) Alizarina, b) Índigo, c) Púrpura

Fonte: SCHAEFER (2014)

No final do século XVIII surgiram os corantes sintéticos, como o ácido pícrico, que foi sintetizado em 1771 e usado como corante para lã e seda. Em 1856, William Perkin, sintetizou o primeiro corante orgânico, obtido a partir do alcatrão de hulha.

Na indústria, são empregados aproximadamente 10.000 corantes têxteis (BAZIN *et al.*, 2012) e em 2016 eram utilizadas aproximadamente 800.000 toneladas de corantes por ano (AYADI *et al.*, 2016). Os corantes podem ser classificados de acordo com o método de fixação na fibra (Tabela 3) ou de acordo com a sua classificação química.

Tabela 3 – Fixação do corante à fibra

Classe de Corante	Material
Ácidos	Couro, fibra sintética (nylon e elastoméricas) e fibra natural de lã e papel
Azóicos	Fibra natural de algodão e fibra sintética de poliéster
Básicos	Papel e fibra sintética acrílica
Diretos	Fibra natural de algodão, fibra artificial de viscose, couro e papel
Dispersos	Fibra sintética de poliéster e nylon e fibra artificial de acetato e viscose
Reativos	Fibra natural de algodão, fibra artificial de viscose, couro e papel
Sulfurosos	Fibra natural de algodão
À cuba	Fibra natural de algodão
Pré-metalizados	Tinta, plástico, couro e papel

Fonte: VELOSO (2012)

Os corantes ácidos, apresentado na Figura 3, possuem de um a três grupos sulfônicos que os tornam solúveis em água. Estes corantes são fixados à fibra por meio de troca iônica, que envolve o par de elétrons livres dos grupos amino e carboxilato na forma não-protonada. Os corantes ácidos podem conter grupamentos azo, antraquinona, triarilmetano, azina, xanteno, nitro e nitroso (GUARANTINI e ZANONI, 2000).

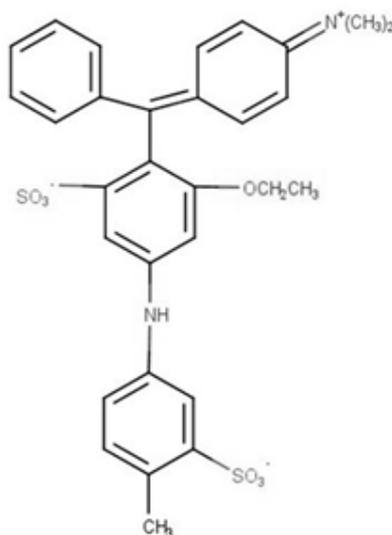


Figura 3 – Estrutura de corante ácido: corante ácido Violeta

Os corantes à cuba apresentam elevado grau de fixação à fibra e são solúveis (forma leuco) após a redução com ditionito em solução alcalina, apresentado na Figura 4, que em seguida é reoxidado a sua forma original sobre a fibra. Os corantes à cuba contem o grupo carbonila, que pode estar no grupo etilênico ou em subunidades alicíclicas (GUARANTINI e ZANONI, 2000).

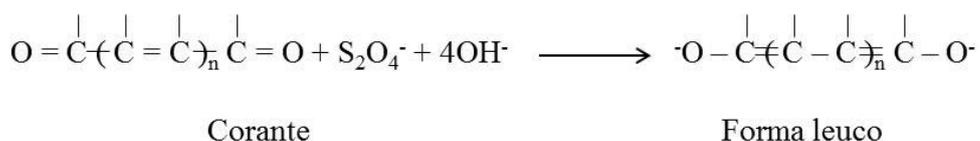


Figura 4 – Processo de redução do corante à cuba com ditionito de sódio

Os corantes dispersivos são insolúveis em água e a reação é realizada por meio da hidrólise do corante, que precipita sobre a fibra. O grau de solubilidade do corante define e influencia diretamente o processo e a qualidade da fixação do corante à fibra, em que agentes dispersantes com longas cadeias estabilizam a suspensão e facilitam o contato entre o corante e a fibra, como pode ser observado na Figura 5 (GUARANTINI e ZANONI, 2000).

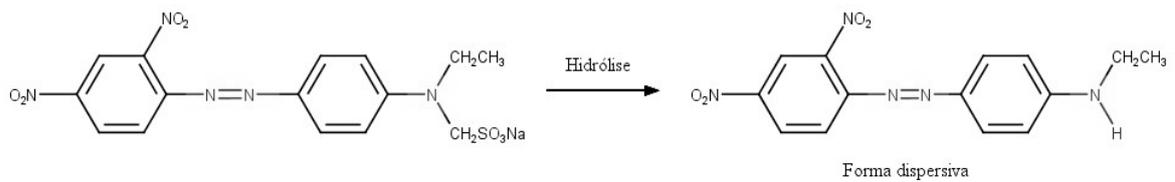


Figura 5 – Hidrólise do corante Vermelho de Lonamina KA

Os corantes diretos são solúveis em água. A interação química é realizada por meio de interações de Van der Waals, devido à planaridade na configuração da molécula do corante ou a dupla ligação conjugada que aumenta a adsorção do corante à fibra, os eletrólitos são utilizados para aumentar a afinidade do corante à fibra. Os corantes diretos contêm mais de um grupo cromóforo azo (diazo, triazo, entre outros) ou são pré-transformados em complexos metálicos, apresentado na Figura 6 (GUARANTINI e ZANONI, 2000).

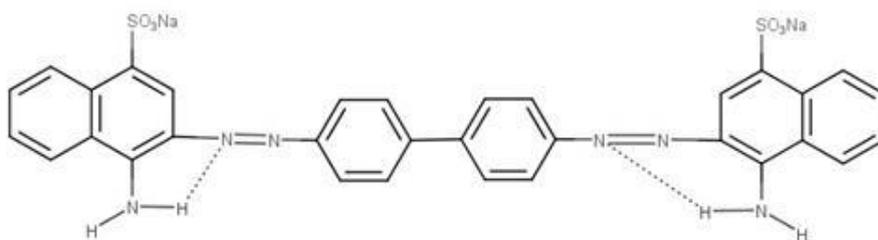
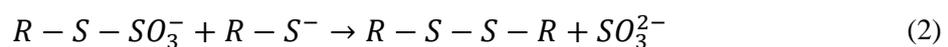
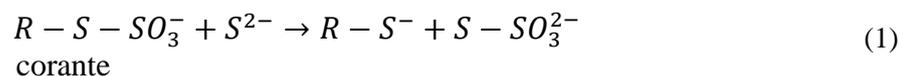


Figura 6 – Exemplo de corante direto: corante Vermelho Congo

Os corantes de enxofre apresentam boa fixação, entretanto, geram resíduos altamente tóxicos. São solúveis em água após redução com ditonito e em seguida são reoxidados a forma original que é caracterizada por compostos macromoleculares com pontes de polissulfetos, que são insolúveis em água. A redução e reoxidação dos corantes de enxofre estão apresentados nas Equações 1 e 2 (GUARANTINI e ZANONI, 2000).



Os corantes pré-metalizados contêm uma hidroxila ou carbonila em relação ao grupo cromóforo azo, apresentado na Figura 7, que permite a formação de complexos

com íons metálicos. Entretanto, estes corantes geram águas residuárias com elevado teor de metal, como o cromo (GUARANTINI e ZANONI, 2000).

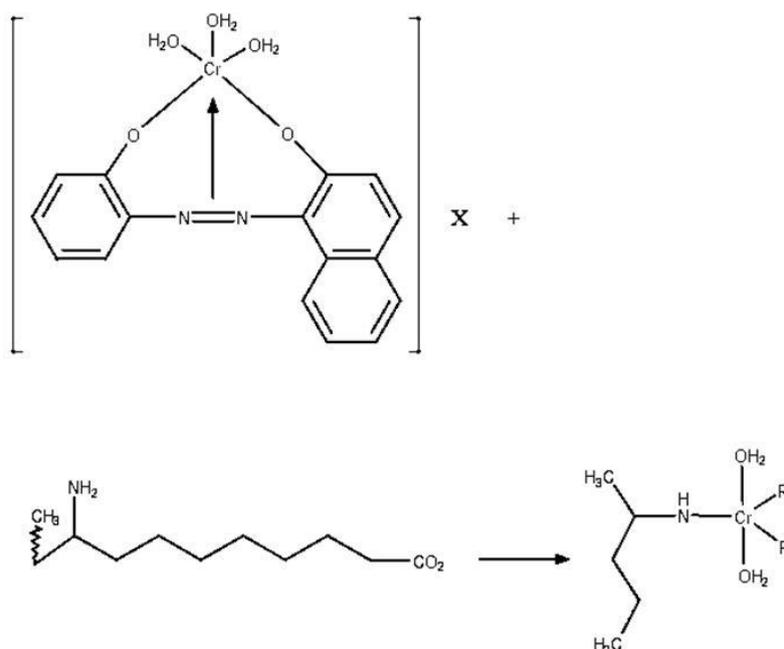
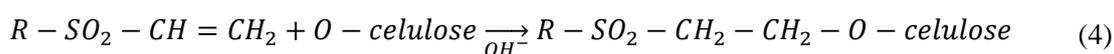
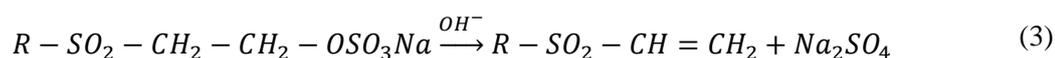


Figura 7 – Estrutura de corante pré-metalizado cromo/corante 1:1 por meio do grupo amino como ligante

Os corantes reativos apresentam alta solubilidade em água e maior estabilidade da cor no tecido, pois contém um grupo eletrofílico (reativo) capaz de formar ligação covalente com grupos hidroxila das fibras celulósicas, com grupos amino, hidroxila e tióis das fibras protéicas e também com grupos amino das poliamidas. A reação química se processa diretamente através da substituição do grupo nucleofílico pelo grupo hidroxila da celulose, como pode ser observado nas Equações 3 e 4. Os principais corantes reativos contêm os grupos cromóforos azo e antraquinona e os grupos reativos clorotriazina e sulfatoetilsulfonila (GUARANTINI e ZANONI, 2000).



Os corantes azo são sintetizados sobre a fibra utilizando um agente de acoplamento, como por exemplo o naftol. Possuem como grupo cromóforo a ligação (-N=N-) e distinguem-se pelo número de grupamentos (monoazo, diazo, triazo, tetraazo),

apresentado na Figura 8 (AMORIM *et al.*, 2009). O grupo cromóforo comumente está ligado a anéis de benzênicos e naftalênicos, bem como a heterociclos aromáticos e grupos alifáticos (GHALY *et al.*, 2014). Os corantes azo são a maior classe química de corantes e apresentam elevado grau de fixação à fibra, resistência a radiação visível e a umidade (CHENGALROYEN e DABBS, 2013).

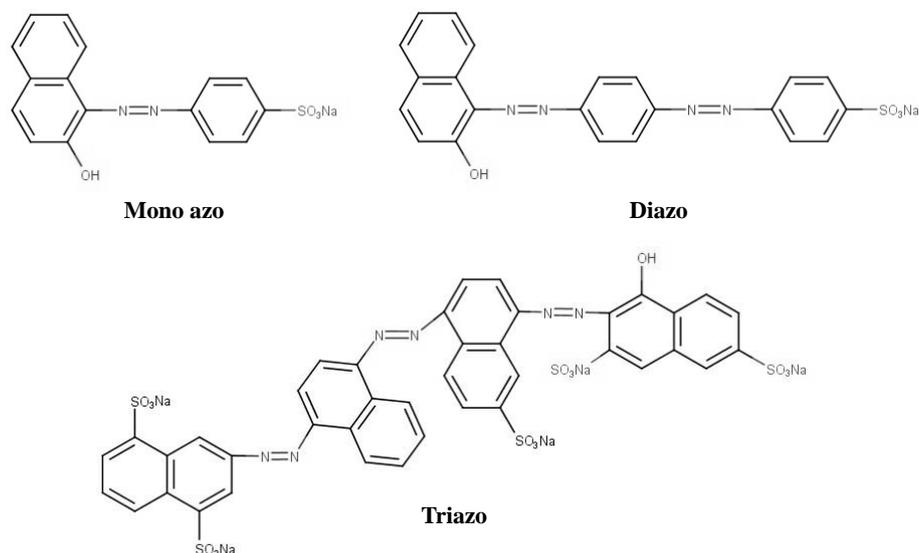


Figura 8 – Estruturas químicas de corantes monoazo, diazo e triazo

A toxicidade aguda de 4.000 corantes foi avaliada por meio da ETAD (Associação Ecológica e Toxicológica da Indústria Transformadora de Corantes), tendo sido verificado que 10% destes corantes são considerados perigosos para a saúde humana e 1% pode ser considerado tóxico (LACASSE e BAUMANN, 2004).

A Diretiva da União Européia 2002/61/EC proibiu o uso de produtos têxteis e de couro que possam entrar em contato por via oral ou cutânea e que possuem concentração de amins aromáticas acima de 30 mg/L. Os 22 tipos de amins aromáticas são provenientes da quebra da ligação $-N=N-$ por meio da metabolização ou degradação de corantes azo. Contudo, mais de 100 corantes que podem formar amins tóxicas e carcinogênicas estão disponíveis no mercado, pois a Diretiva da União Européia restringe a utilização de apenas 5% de corantes azo (LACASSE e BAUMANN, 2004; PÜNTENER e PAGE, 2004).

Outras estruturas químicas presentes em corantes, como a atrazina, podem ocasionar prejuízos à saúde humana. A atrazina é um herbicida, que foi desenvolvido para inibir a fotossíntese, entretanto, pode produzir efeito semelhante ao estrogênio, causar a infertilidade em homens, aumentar o índice de câncer de mama em mulheres e

é um potencial disruptor endócrino. Em 2004, o uso da atrazina foi banido na União Européia e em 2013 a EPA iniciou novos estudos sobre os efeitos adversos da atrazina (YIXIN *et al.*, 2014; EPA, 2013).

3.1.3.1. Corante vermelho reativo 239

O corante vermelho reativo 239 (VR239) é um corante monoazo, possui como grupo cromóforo a ligação –N=N– e é utilizado no processo de tingimento de tecidos de algodão e poliéster na indústria têxtil. As características do VR239 estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Características do corante vermelho reativo 239

Fórmula molecular	$C_{31}H_{24}ClN_7O_{19}S_6$
Estrutura química	
Massa molar	1026,37 g/mol
Absorção máxima	542 nm
Nº CAS	89157-03-9

Estudos de toxicidade realizados por JUNG TANASOMBUT *et al.* (2014), avaliaram o efeito do corante VR 239 em embriões de *Danio rerio*. Foi observada que a CL_{50} para os organismos foi de 1.500 mg/L de corante, o que indica que o corante VR 239 apresenta baixa toxicidade para organismos aquáticos. Entretanto, concentrações superiores a 500 mg/L do VR 239 podem reduzir a sobrevivência embrionária e causar deformidades morfológicas aos peixes.

3.2 PROCESSOS PARA O TRATAMENTO DE EFLUENTES

Os corantes azo possuem grande potencial poluidor dos corpos hídricos e as águas residuárias devem ser adequadamente tratadas para a remoção destes compostos. Os processos de tratamento para a remoção de corantes azo podem ser biológicos, físico-químicos e oxidativos avançados.

Os processos biológicos são aqueles em que degradação dos poluentes é realizada por micro-organismos. Os processos biológicos podem ser aeróbio, que ocorre na presença de oxigênio, anóxico, que ocorre em presença de concentrações muito baixas de oxigênio e na presença de nitrato, e anaeróbio, que ocorre na ausência de oxigênio (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003).

Os processos físico-químicos são fundamentados na separação de fases e são realizados por meio da aplicação de forças físicas (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003). Os processos físico-químicos permitem a depuração de um efluente, entretanto, os poluentes não são degradados ou eliminados, mas transferidos para uma nova fase. Nesta nova fase, o volume é significativamente reduzido e o poluente ainda encontra-se concentrado, sem ser efetivamente degradado (FREIRE *et al.*, 2000). Diversos processos físico-químicos podem ser utilizados para a remoção de corantes azo, como a separação por membranas, precipitação química, adsorção e coagulação/floculação.

Os processos oxidativos avançados são fundamentados na geração e uso do radical hidroxila ($\text{HO}\bullet$) e de espécies transitórias, com o objetivo de oxidar contaminantes orgânicos de difícil degradação biológica em produtos finais mais simples (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003).

Em função de todos os processos para o tratamento de efluentes e a remoção de corantes azo utilizados nesse trabalho, será dado enfoque a ozonização e ao processo biológico por reator de leito móvel com biofilme (MBBR).

3.2.1. Processos Oxidativos Avançados

Os processos oxidativos avançados são fundamentados na geração e uso do radical hidroxila ($\text{HO}\bullet$) e de espécies transitórias (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003). São processos limpos, não seletivos e podem ser usados na degradação de compostos orgânicos em fase aquosa, fase gasosa ou adsorvido numa matriz sólida (TEIXEIRA e JARDIM, 2004).

A oxidação química pode ser utilizada para oxidar completamente ou parcialmente um determinado composto ou grupo de compostos, tornando-os passíveis de degradação biológica ou reduzindo a sua toxicidade (TCHOBANOGLOUS *et al.*,2003).

Os processos oxidativos avançados podem ser homogêneos e heterogêneos, como apresenta a Tabela 5. O potencial de oxidação de diversos oxidantes está apresentado na Tabela 6.

Tabela 5 – Processos oxidativos avançados

POAs	Fotoquímico	Não fotoquímico
Homogêneo	O ₃ /UV	O ₃ /H ₂ O ₂
	H ₂ O ₂ /UV	O ₃ /OH
	O ₃ /H ₂ O ₂ /UV	H ₂ O ₂ /Fe ²⁺
	Foto-fenton	
Heterogêneo	TiO ₂ /O ₂ /UV	O ₃ /Catalisador
	TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV	

Fonte: adaptado de HUANG *et al.* (1993)

Tabela 6 – Potencial de oxirredução de oxidantes

Oxidante	Potencial de Oxidação (V)
HO [•]	2,80
O	2,42
O ₃	2,07
H ₂ O ₂	1,77
HO ₂ [•]	1,70
MnO ₄	1,67
ClO ₂	1,50
Cl ₂	1,36
O ₂	1,23

Fonte: adaptado de CRC HANDBOOK (1985)

3.2.1.1. Ozonização

O ozônio é um gás incolor, de odor característico e instável. É constituído por três átomos de oxigênio unidos por ligações simples e duplas. Algumas propriedades do ozônio estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Propriedades físicas do ozônio

Propriedades	Valor
Peso molecular	48 Da
Ponto de fusão	-192,7°C
Ponto de ebulição	-110,5°C
Solubilidade em água a 20°C	1,19 x 10 ⁻² M
Constante de Henry a 20°C	100 atm M ⁻¹
Limite de explosão	10% de ozônio

Fonte: adaptado de VON SONNTAG e VON GUNTEN (2012)

Segundo Lenntech (2016) e Von Sonntag e Von Gunten (2012), o ozônio foi descoberto por C. F. Schönbein em experimentos de eletrólise com ácido sulfúrico diluído. Werner von Siemens, em 1857, desenvolveu o primeiro gerador de ozônio por meio de descarga de gás e em 1893 foi instalado o primeiro gerador de ozônio para o tratamento de água da cidade de Oudshoorn, Holanda. Nos anos de 1916, haviam 49 instalações de ozônio em toda a Europa.

A geração de ozônio pode ser realizada por diferentes tecnologias, apresentadas na Tabela 8. O método mais eficiente para a geração do ozônio é por descarga elétrica, no qual o ozônio é gerado a partir de ar ou oxigênio quando uma alta voltagem é aplicada por eletrodos estreitamente espaçados, como apresentado na Figura 9. A elevada energia criada dissocia uma molécula de oxigênio que é combinada com duas outras moléculas de oxigênio para criar duas moléculas de ozônio (TCHOBANOGLOUS *et al.*, 2003).

Tabela 8 – Métodos para geração de ozônio.

Método de geração de O ₃	Princípio de trabalho	Fonte de ozônio	Campo de aplicação
Elétrico	Descarga elétrica	Ar e O ₂	Laboratório e em escala real
Eletroquímico	Eletrólise	Água	Para aplicações com água pura, em escala de laboratório e pequena escala industrial
Fotoquímico ($\lambda = 185 \text{ nm}$)	Irradiação (abstração de elétrons)	O ₂ (ar) e água	Laboratório e escala real
Radiação química	Raios-X, radiação e raios- γ	Água	Raramente utilizado
Térmico	Ionização de arco de luz	Água	Raramente utilizado

Fonte: adaptado de GOTTSCHALK *et al.* (2000)

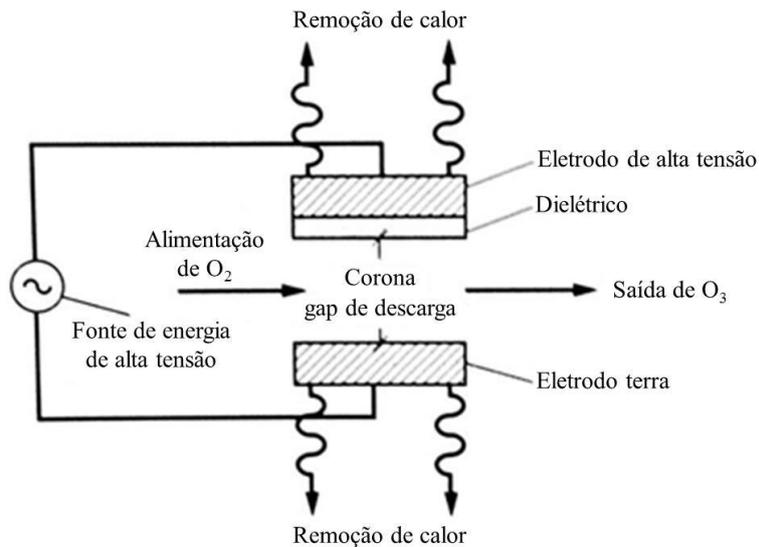


Figura 9 – Geração de ozônio por descarga elétrica (Corona)

Fonte: adaptado de TCHOBANOGLIOUS *et al.* (2003)

O ozônio em solução aquosa pode reagir com as substâncias químicas por diferentes mecanismos de reação, que pode ser a reação direta do ozônio molecular com o composto químico ou por reação indireta, por meio da decomposição do ozônio molecular em radical HO^\bullet e HO_2^\bullet , que reagem com o composto químico, como apresentado na Figura 10 (RICE, 1996). Os mecanismos de reação do ozônio podem ser influenciados pelo pH, temperatura e composição química do meio.

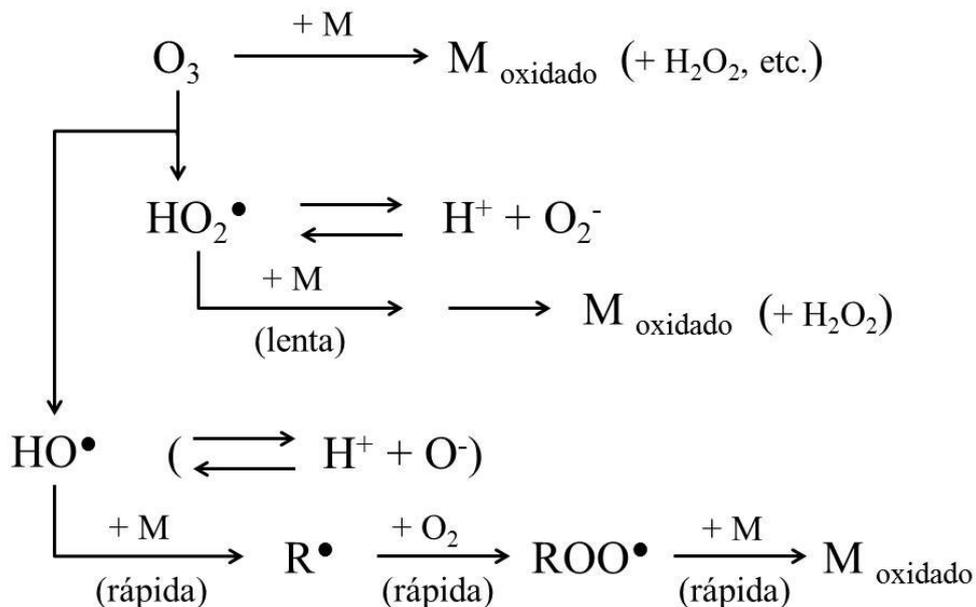


Figura 10 – Mecanismos de reação do ozônio

Fonte: adaptado de RICE (1996)

A influência do pH no mecanismo da ozonização se deve à oxidação por meio do ozônio molecular ou por radicais hidroxila (HO^\bullet). Em pH ácido a oxidação ocorre predominantemente por meio do ozônio molecular e a reação é direta. Em pH básico, o ozônio molecular se decompõe promovendo a formação de radicais HO^\bullet e HO_2^\bullet (RICE, 1996).

A reação direta do ozônio com o composto químico pode ocorrer por meio de reação de ciclo adição, reação eletrofílica e reação nucleofílica do ozônio (STAEHELIN e HOIGNÉ, 1985). Na ciclo adição, apresentada na Figura 11, a reação do ozônio com compostos insaturados proporciona a formação de ozonide. Em solução aquosa o ozônio se decompõe em aldeídos, cetonas e peróxido de hidrogênio.

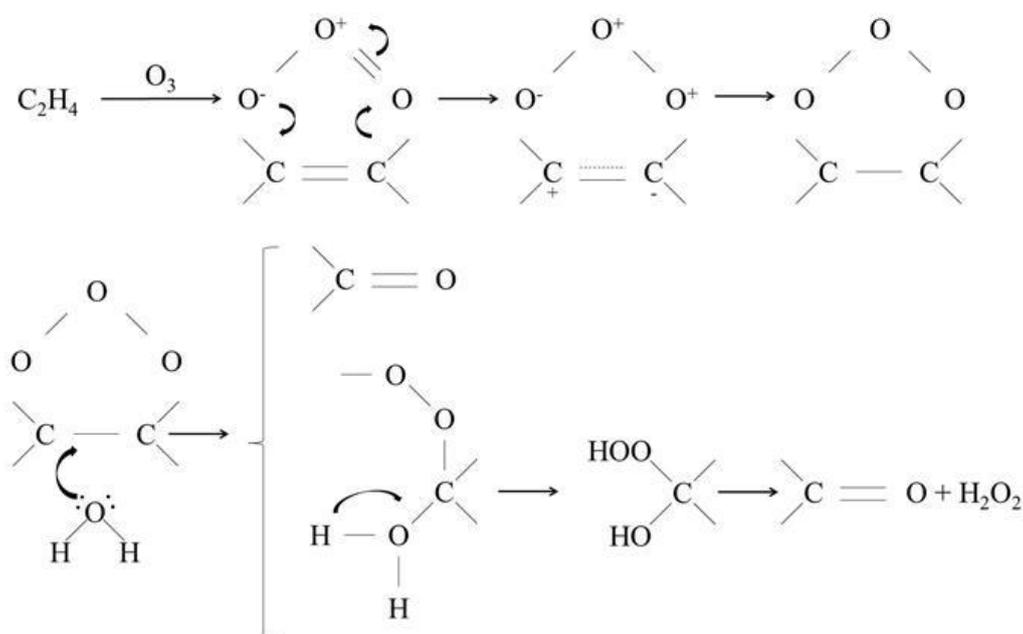


Figura 11 – Reação de ciclo adição do ozônio

Fonte: Adaptado de LÓPEZ (2004)

Na reação eletrofílica, o ozônio reage com compostos com elevada densidade eletrônica, como compostos aromáticos, aminas, compostos de enxofre, entre outros, como apresentado na Figura 12. Em compostos aromáticos a reação é ativada por grupamentos doadores de elétrons, como $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$, que auxiliam a substituição eletrofílica.

A reação nucleofílica do ozônio ocorre com compostos que possuem uma escassez de elétrons. Essa reação ocorre particularmente em compostos de carbono com grupamento $-\text{COOH}$ e $-\text{NO}_2$.

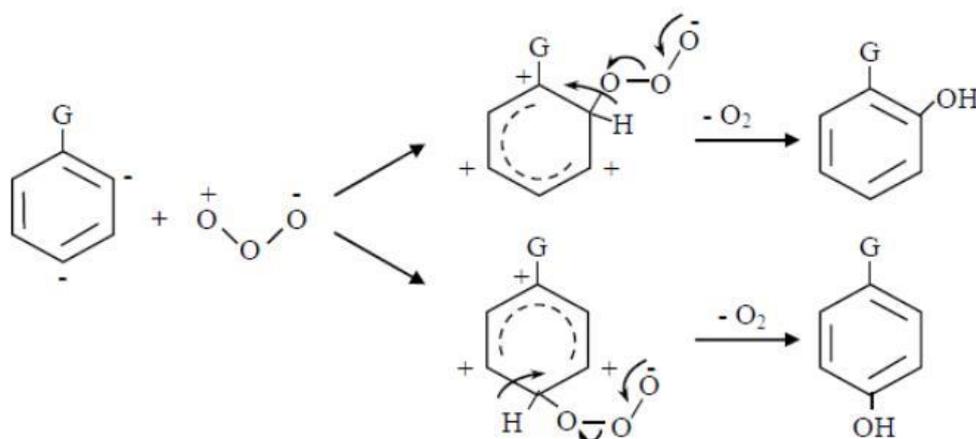


Figura 12 – Reação eletrofílica entre ozônio e um composto aromático

Fonte: Adaptado de LÓPEZ (2004)

A reação indireta com o composto químico, por meio da decomposição do ozônio molecular em radical HO^\bullet e HO_2^\bullet pode ocorrer em três etapas, a iniciação radicalar, a propagação e a finalização, como apresentado na Figura 13.

A iniciação ocorre na presença de íons OH^- e ozônio, que formam do ânion superóxido ($^\bullet\text{O}_2^-$) e do radical hidroperoxila (HO_2^\bullet), que estão em equilíbrio ácido-base.

A propagação ocorre por protonação do radical $^\bullet\text{O}_3^-$. O radical $^\bullet\text{O}_3^-$ se decompõe em radicais HO^\bullet , que reagem com os compostos orgânicos e formam radicais orgânicos. A presença de O_2 proporciona a geração de ROO^\bullet , que reagem com os radicais hidroperoxila (HO_2^\bullet) e geram o produto orgânico oxidado.

A finalização ocorre por meio da reação de compostos orgânicos e inorgânicos com os radicais HO^\bullet , formando radicais secundários que não produzem HO_2^\bullet e $^\bullet\text{O}_2^-$ (STAEHELIN e HOIGNÉ, 1985).

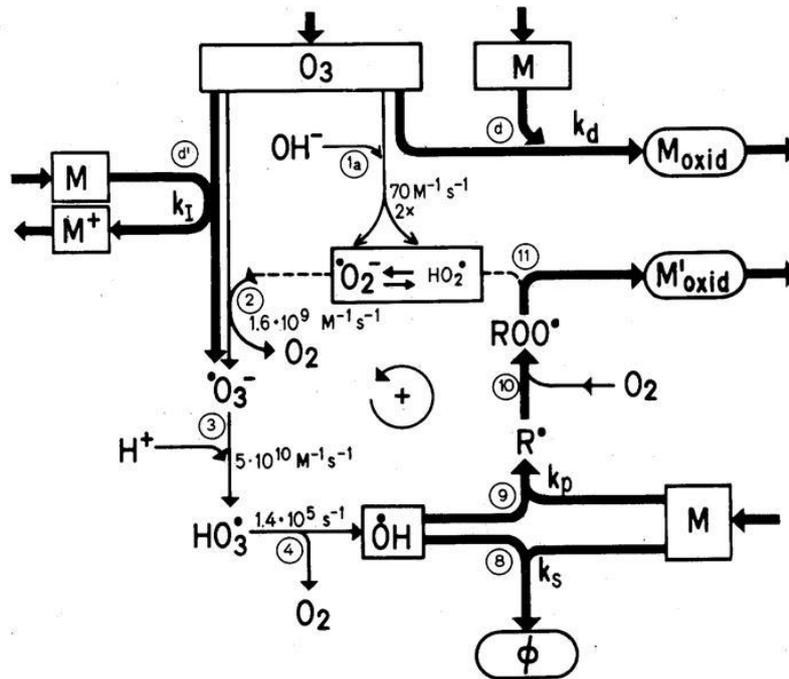


Figura 13 – Mecanismo de reação indireta do ozônio
 Fonte: STAEHELIN e HOIGNÉ (1985)

A influência da temperatura no mecanismo de ozonização se deve a solubilidade do ozônio, como apresentado na Figura 14. Em temperatura ambiente, a solubilidade do ozônio em água é duas vezes menor do que a 0°C, assim, quanto menor a temperatura maior a solubilidade (concentração) do ozônio em água (VON SONNTAG e VON GUNTEN, 2012). Para um processo de ozonização eficiente, baixas temperaturas são desejadas.

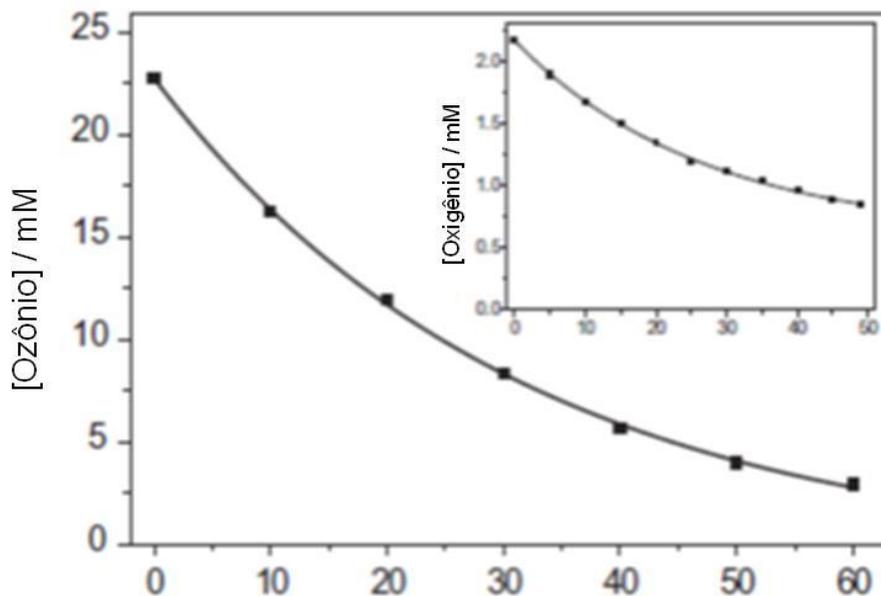


Figura 14 – Solubilidade do ozônio e do oxigênio em função da temperatura
 Fonte: VON SONNTAG e VON GUNTEN (2012)

Com relação à composição do meio, a presença de compostos como íons carbonato e bicarbonato e o álcool t-butílico no meio, podem retardar a degradação de poluentes. Os íons carbonato e bicarbonato, e o álcool t-butílico reagem com o radical HO[•] e atuam como inibidores nas reações em cadeia (STAEHELIN e HOIGNE, 1985).

A salinidade do meio também pode reduzir a transferência do O₃(g) para a fase líquida. Em meios com concentração de NaCl de 40 a 100 mg/L observou-se que a concentração de ozônio diminui quando a concentração de sal aumenta (SILVA *et al.*, 2009).

3.2.1.1.1. Degradação de corante azo por ozonização

A degradação e a remoção de cor de corantes azo utilizando ozônio ocorre por meio de ataque eletrofilico em locais que possuem elevada densidade de carga negativa, como as ligações -N=N-. Desta forma, a ozonização é um processo eficiente e que ocorre rapidamente, como pode ser observado na Tabela 9, devido à degradação das cadeias conjugadas responsável por dar cor ao corante (TURHAN e OZTURKCAN, 2013).

Embora o processo de ozonização seja eficiente na remoção de cor, na Tabela 9 pode-se observar que a remoção de DQO e de COT não é elevada. Por exemplo, para o corante preto reativo 5, Zheng *et al.* (2016) obtiveram apenas 20% de eficiência na remoção de COT. A baixa remoção de DQO e COT pode ser devida à geração de produtos intermediários mais estáveis. Assim, a ozonização pode levar à decomposição da estrutura, mas raramente mineraliza completamente os corantes a CO₂ e H₂O (ZHENG *et al.*, 2016).

Tabela 9 – Remoção de cor, DQO e COT de corantes azo por ozonização

Corante	Classe do corante	Condição de trabalho	Eficiência de remoção (%)	Referência
Vermelho reativo X-3B	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 100 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 6 min; $O_3 = 0,66 \text{ L/h}$; $T = 24,85^\circ\text{C}$; $\text{pH} = 6,52$	Cor = 92	SHEN <i>et al.</i> (2017)
Laranja reativo 16	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 100 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 5 min; $O_3 = 51 \text{ mg/L}$	Cor = 97; COT = 48	CASTRO <i>et al.</i> , (2016)
Preto reativo 5	Diazo	$C_{\text{corante}} = 200 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 60 min; $O_3 = 53,33 \text{ mg/min}$; $T = 25^\circ\text{C}$; $\text{pH} = 8$	Cor = 100; COT = 20	ZHENG <i>et al.</i> (2016)
Vermelho reativo 195	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 100 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 10 min; $O_3 = 3,47 \text{ L/min}$; $\text{pH} = 7,9$	Cor = 100	ZHANG <i>et al.</i> (2015)
Vermelho reativo 2	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 500 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 60 min; $O_3 = 75 \text{ mg/L}$; $\text{pH} = 7$	Cor = 93; DQO = 65; COT = 21	XIAN-BING <i>et al.</i> (2014)
Laranja reativo 16	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 400 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 16 min; $O_3 = 24 \text{ mg/L.min}$; $T = 20^\circ\text{C}$	Cor = 100; DQO = 69	TURHAN e OZTURKCAN (2013)
Vermelho reativo 239	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 500 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 90 min; $O_3 = 16,6 \text{ mg/min}$; $\text{pH} = 11$	Cor = 80	GÜNES <i>et al.</i> (2012)
Amarelo reativo 176	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 500 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 90 min; $O_3 = 16,6 \text{ mg/min}$; $\text{pH} = 11$	Cor = 90	GÜNES <i>et al.</i> (2012)
Vermelho reativo 120	Diazo	$C_{\text{corante}} = 200 \text{ mg/L}$; tempo de reação = 150 min; $O_3 = 8,9 \text{ mg/L}$	Cor = 100; DQO = 44	ZHANG <i>et al.</i> (2007)
Vermelho X-GRL	Monoazo	$C_{\text{corante}} = 1,32 \times 10^{-4} \text{ M}$; tempo de reação = 6 min; $O_3 = 1,66 \text{ L/min}$; $\text{pH} = 5,75$; $T = 35^\circ\text{C}$	Cor = 96; COT = 5,7	ZHAO <i>et al.</i> (2004)

Com relação à identificação dos produtos intermediários formados na ozonização e o mecanismo de degradação, Zhang *et al.* (2015) e Shen *et al.* (2017) identificaram alguns produtos intermediários e propuseram três mecanismos de degradação da ozonização de corantes azo semelhantes ao vermelho reativo 239, utilizado neste trabalho. Os produtos intermediários e os mecanismos estão apresentados na Tabela 10 e nas Figuras 15 e 16.

Zhang *et al.* (2015) estudaram a degradação do corante vermelho reativo 195. Dois mecanismos de degradação foram propostos, apresentados na Figura 15 (A) e (B), indicam a geração de compostos semelhantes à triazina e fenol.

Shen *et al.* (2017), propuseram o mecanismo de degradação do corante azo vermelho reativo X-3B, apresentado na Figura 16. A degradação do corante vermelho reativo X-3B por ozônio se inicia com a quebra da ligação $-N=N-$ e $-C-N-$, gerando os compostos nitrosobenzeno e naftaleno. Estes compostos foram então oxidados a hidroquinona e ácido ftálico, respectivamente.

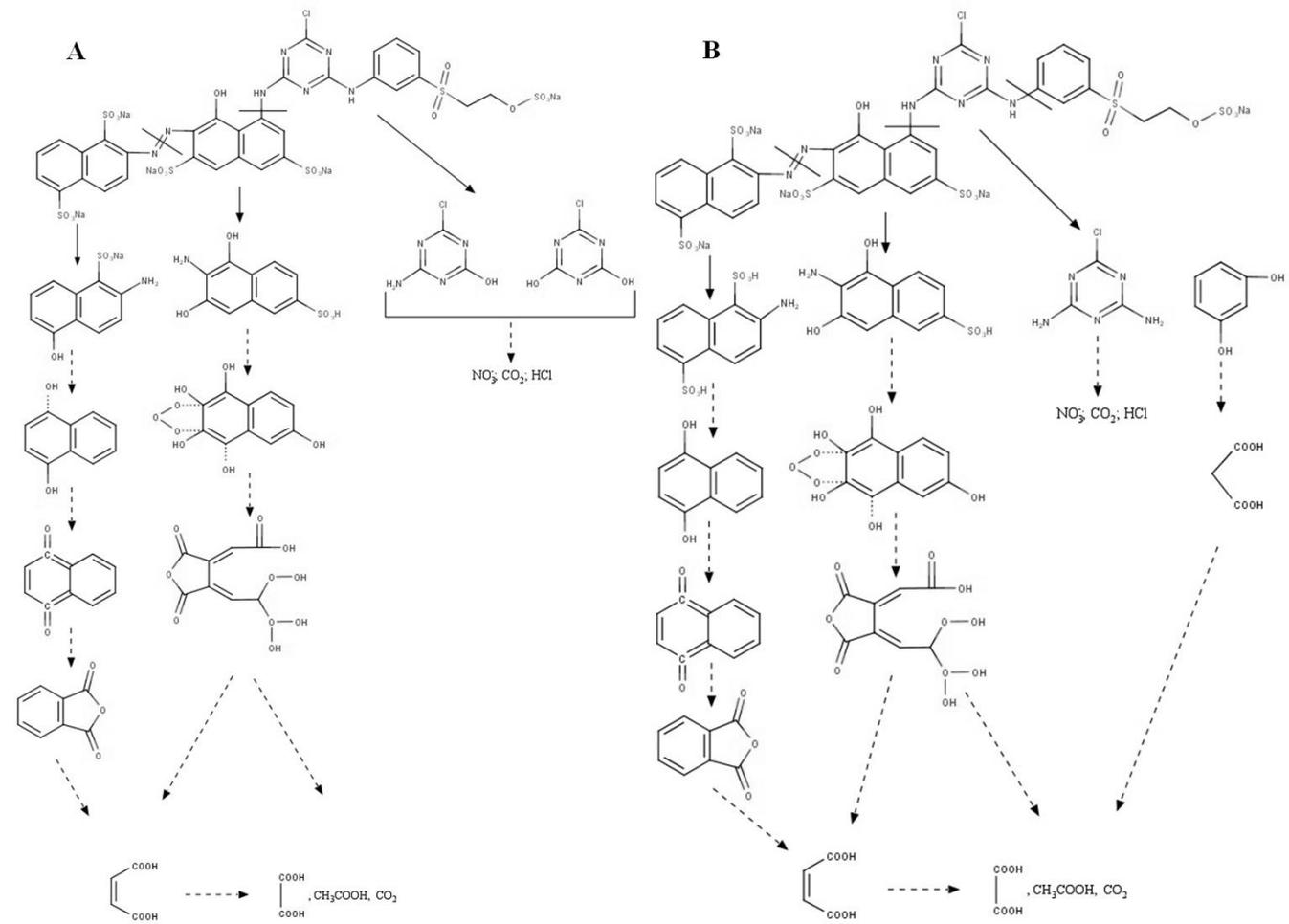


Figura 15 – Mecanismo de degradação proposto do corante vermelho reativo 195 por ozônio. A: via de degradação 1; B: via de degradação 2

Fonte: ZHANG *et al.* (2015)

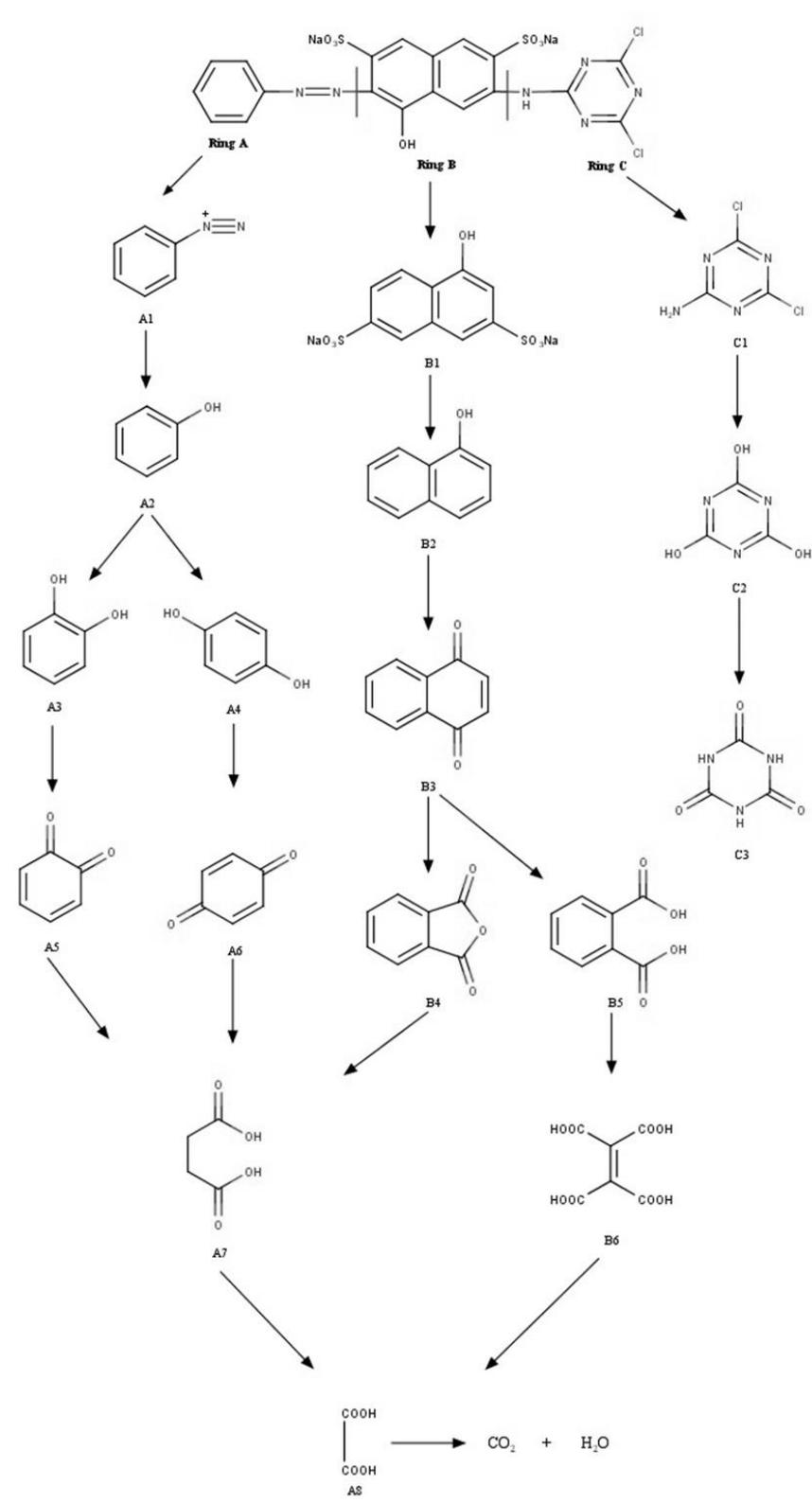
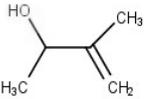
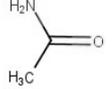
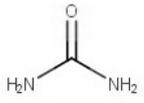
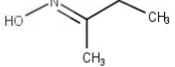
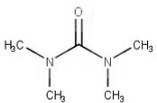
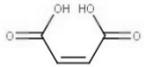
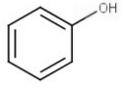
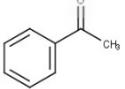
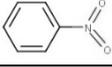
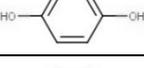
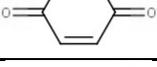
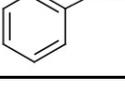


Figura 16 – Mecanismo de degradação proposto do corante vermelho reativo X-3B por ozônio/ultrassom

Fonte: SHEN *et al.* (2017)

Tabela 10 – Produtos intermediários sugeridos e observados na ozonização de corantes azo

Produto intermediário	Estrutura	Laranja reativo 16 ^a	Vermelho reativo 2 ^b	Vermelho direto 23 ^c	Vermelho reativo X-3B ^d	Vermelho reativo 195 ^e
Ácido oxálico		X	X	X	X	-
Ácido acético		X	X	X	-	-
Ácido fórmico		X	X	X	-	-
3-Buteno-2ol, 3-metil-		-	X	-	-	-
Acetamida		X	-	X	-	-
Uréia		-	-	X	-	-
2-Butanol, oxima		-	X	-	-	-
Uréia, tetrametila		-	X	-	-	-
Ácido maleico		X	-	-	X	-
Fenol		-	X	-	X	-
Acetofenona		-	X	-	-	-
Nitrobenzeno		X	X	-	-	-
Benzeno-1,4-diol		X	-	-	X	-
p-Benzoquinona		X	X	-	X	-
Anilina		-	X	-	-	-

**Tabela 10 – Produtos intermediários sugeridos e observados na ozonização de corantes
azo – Continuação1**

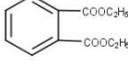
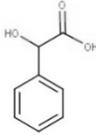
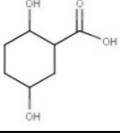
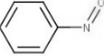
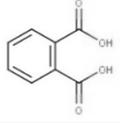
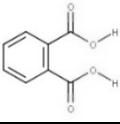
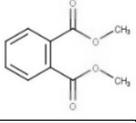
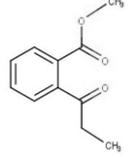
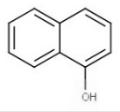
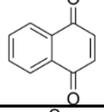
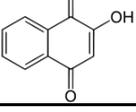
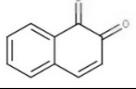
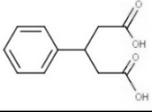
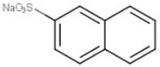
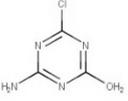
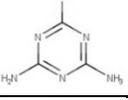
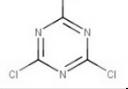
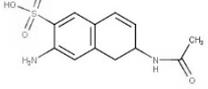
Produto intermediário	Estrutura	Laranja reativo 16 ^a	Vermelho reativo 2 ^b	Vermelho direto 23 ^c	Vermelho reativo X-3B ^d	Vermelho reativo 195 ^e
1,2-Ácido Benzeno dicarboxílico éster dietílico		-	X	-	-	-
Ácido mandélico		-	X	-	-	-
Ácido gentísico		-	X	-	-	-
Nitrosobenzeno		X	X	-	-	-
Ácido ftálico		-	X	-	X	-
Ácido oftálico		X	-	-	-	-
Ftalatodimetila		-	X	-	-	-
Ácido benzoico, 2-(1-oxopropil)-, éster metílico		-	-	-	-	-
1-Naftol		-	-	X	X	-
1,4-Naftalenoquinona		-	-	-	X	X
2-Hidroxy-1,4-napftalenodiona		-	-	-	-	-
1,2-Naftoquinona		-	-	-	-	-
Ácido Butanodióico, fenil-		-	X	-	-	-

Tabela 10 – Produtos intermediários sugeridos e observados na ozonização de corantes azo – Continuação2

Produto intermediário	Estrutura	Laranja reativo 16 ^a	Vermelho reativo 2 ^b	Vermelho direto 23 ^c	Vermelho reativo X-3B ^d	Vermelho reativo 195 ^e
Naftaleno-2-ácido sulfônico		-	-	X	-	-
4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol		-	-	-	-	X
2-cloro-4,6-diaminotriazina		-	-	-	-	X
1,3,5-Triazina-2-amina,4,6-dicloro-		-	X	-	X	-
6-Acetilamino-3-aminonaftaleno-2-ácido sulfônico		X	-	-	-	-

Fonte: TURHAN e OZTURKCAN (2013)^a; XIAN-BING *et al.* (2014)^b; SONG *et al.* (2007)^c; SHEN *et al.* (2017)^d; ZHANG *et al.* (2015)^e

Na literatura, foram encontrados alguns trabalhos empregando remoção de cor de corantes azo e de corantes semelhantes ao vermelho reativo 239 (SHEN *et al.*, 2017; ZHANG I., 2015; GÜNES *et al.*, 2012). Entretanto, não foram encontrados trabalhos em que fossem identificados os produtos intermediários da ozonização, bem como o mecanismo de degradação do corante vermelho reativo 239. Assim, há a necessidade de estudos a fim de identificar os produtos intermediários da ozonização para uma melhor compreensão das etapas de reação.

3.2.2. Processos Biológicos

Os processos biológicos têm sido extensivamente utilizados no tratamento de efluentes devido ao baixo custo, o uso eventual de produtos químicos e a elevada capacidade de degradação. O tratamento de efluentes por processo biológicos pode ser aeróbio, anóxico e anóxico. O objetivo do processo biológico no tratamento de efluentes é a conversão de compostos orgânicos, sólidos coloidais em suspensão e nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo em CO₂, H₂O e outros minerais (ADABJU, 2013).

3.2.2.1. Reator de leito móvel com biofilme (MBBR)

O reator de leito móvel com biofilme foi desenvolvido na Noruega no final dos anos 80 e início dos anos 90. Esta tecnologia une as melhores características do processo de lodos ativados e do processo com biofilme, em que, necessita de pequena área e volume, utiliza todo o volume útil do reator para o crescimento de microorganismos, a perda de carga é reduzida, não necessita de reciclo de lodo e apresenta elevada eficiência de remoção de DBO, DQO e nitrogênio. Devido a todas essas características, o MBBR tem sido utilizado para o tratamento de efluentes domésticos e industriais (LI *et al.*, 2011; CALDERÓN *et al.*, 2012; BASSIN *et al.*, 2012).

No MBBR a biomassa cresce como flocos suspensos e biofilme, que se adere e cresce em meio a suportes plásticos (biomedias) para a imobilização da biomassa. Os suportes plásticos, desenvolvidos pela Anox Kaldnes, são feitos de polietileno e tem a forma de pequenos cilindros com uma cruz no interior e aletas longitudinais, como apresentado na Figura 17 (BASSIN e DEZOTTI, 2008; ODEGAARD, 2006). A biomedica K1, usada no MBBR, possui área superficial maior que $900 \text{ m}^2/\text{m}^3$, densidade de $0,96 \text{ g}/\text{cm}^3$, 17 mm de diâmetro e 7 mm de altura. As biomedias possuem densidade menor do que a água e são mantidas em constante movimento no interior do reator, que pode ser realizado por aeração em um reator aeróbio ou por agitador mecânico, em um reator anaeróbio, como apresentado na Figura 18 (CALDERÓN *et al.*, 2012; LEYVA-DIAZ *et al.*, 2013).

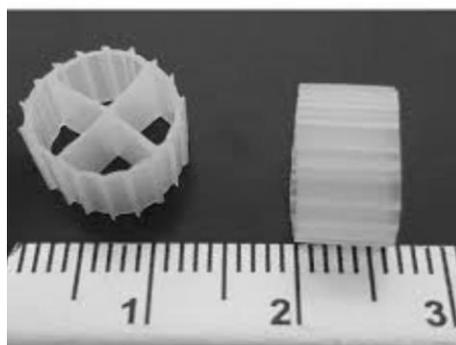


Figura 17 – Biomedica K1 usado no MBBR

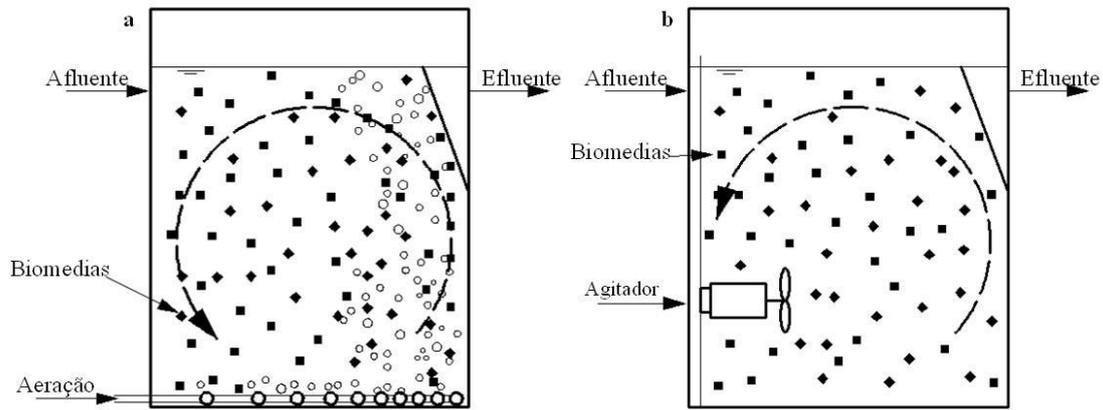


Figura 18 – Diagrama do MBBR aeróbio (a) e anaeróbio (b)

Fonte: adaptado de LUO (2014)

O biofilme contido no MBBR é uma estrutura complexa heterogênea, composto por agregados com diversas espécies microbianas, como bactérias, fungos e protozoários competidores por substrato, compostos por células e produtos celulares. O biofilme cresce em biomedias com elevada área superficial, é imobilizado em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), apresenta resistência à desidratação e fica protegido de organismos predadores, possui maior atividade, maior velocidade de crescimento e utilização do substrato. Assim, é obtida uma elevada eficiência de remoção de poluentes em virtude da grande quantidade de biomassa em um pequeno volume de reator (BASSIN e DEZOTTI, 2008; GOODE, 2010).

A formação e o crescimento do biofilme são realizados por meio de diferentes processos, como, o transporte de células livres do meio para o suporte e sua fixação; crescimento, produção e excreção de EPS; adesão de células e partículas do meio no biofilme; e perda de células individuais ou de agregados maiores por erosão, como apresentado na Figura19 (BASSIN e DEZOTTI, 2008).

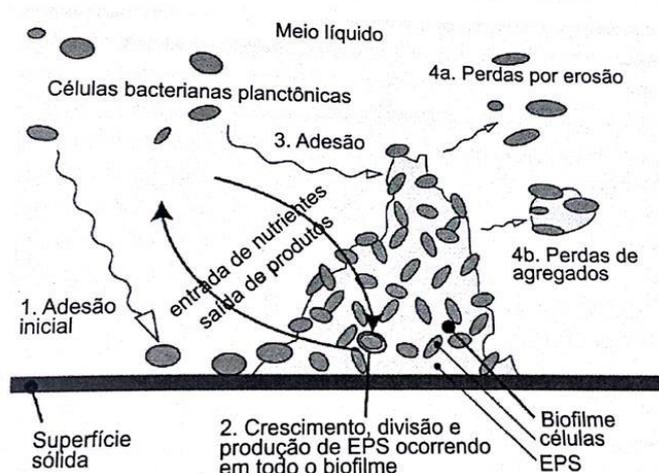


Figura 19 – Processos de formação do biofilme

Fonte: adaptado de XAVIER *et al.* (2003)

A formação do biofilme é dependente das condições hidrodinâmicas, como o cisalhamento, e da carga orgânica aplicada. O cisalhamento é função do número de partículas presentes, que auxilia na redução da espessura do biofilme devido à velocidade de crescimento e a presença de reentrâncias no biofilme. A carga orgânica aplicada, quando elevada, influencia na produção de biomassa e na densidade do biofilme, proporcionando o aumento da espessura do biofilme (BASSIN e DEZOTTI, 2008).

O transporte de componentes como, matéria orgânica, micronutrientes e oxigênio do meio líquido até o biofilme é realizado por meio de adsorção na superfície do biofilme, por difusão na interface líquido/biofilme e também por difusão no biofilme (GOODE, 2010). Os processos de transporte e degradação e remoção de compostos orgânicos e inorgânicos estão apresentados na Figura 20.

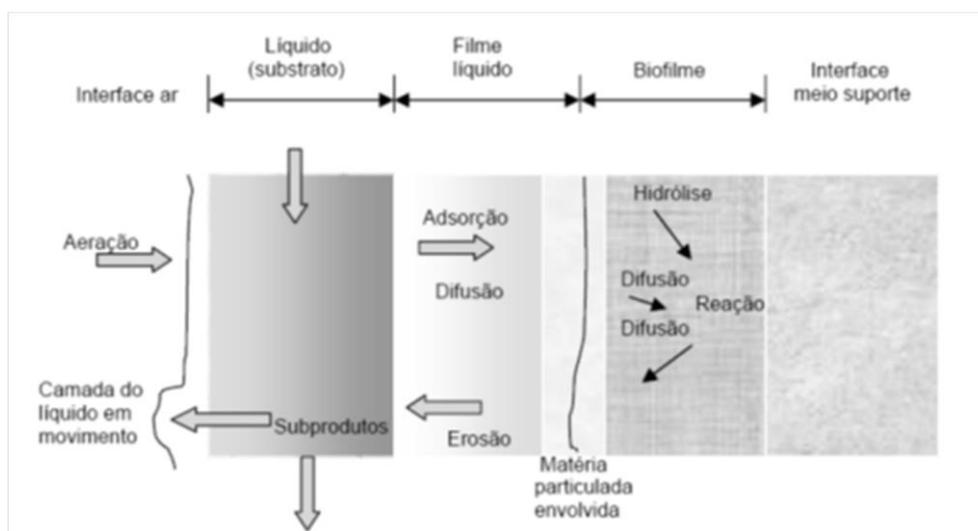


Figura 20 – Representação esquemática dos processos envolvidos no transporte e degradação em biofilmes

Fonte: adaptado de Dezotti *et al.* (2018)

É importante observar que, quando se trata do processo aeróbio, é desejado biofilme fino ($< 150 \mu\text{m}$), devido à limitação difusiva e baixa penetração de oxigênio em biofilme espesso (BASSIN e DEZOTTI, 2008).

3.2.2.1.1. Degradação de matéria orgânica por processo biológico

A remoção de matéria orgânica ocorre por meio do metabolismo de micro-organismos aeróbios e está fundamentada na presença de um doador de elétrons e de um aceptor final de elétrons. As reações para a degradação de matéria orgânica pode ocorrer por catabolismo ou anabolismo. O catabolismo consiste na diferença de potencial de

óxido-redução do receptor e do doador de elétrons, que proporciona a oxidação dos compostos orgânicos a CO_2 e H_2O e a liberação de energia na forma de ATP, que pode ser observado na Figura 21. O anabolismo consiste na utilização da energia proveniente do catabolismo para sintetizar novas células microbianas (BASSIN e DEZOTTI, 2008; TEBBUTT, 1998).

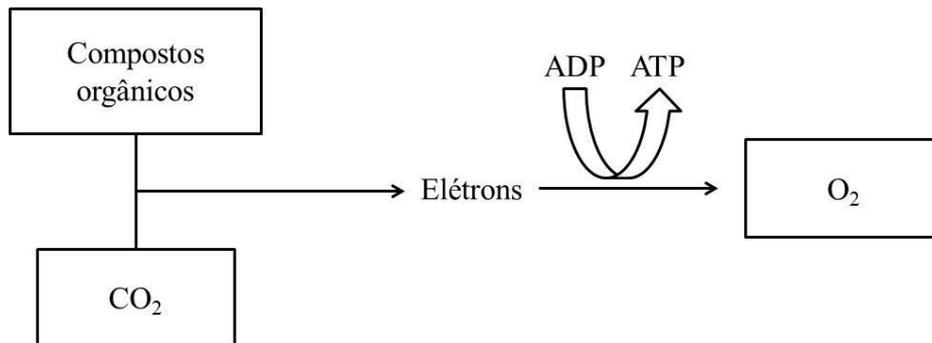


Figura 21 – Representação simplificada da degradação de matéria orgânica aeróbia

Fonte: adaptado de TEBBUTT *et al.* (1998)

As etapas da degradação de matéria orgânica por micro-organismos aeróbios, apresentada na Figura 22, ocorre por meio da adsorção e absorção dos poluentes orgânicos coloidais ou solúveis, em que os compostos adsorvidos são degradados a compostos mais simples por ação enzimática extracelular, a seguir ocorre a metabolização dos compostos no interior celular dos micro-organismos por meio de reações bioquímicas que fornecem energia na forma de ATP. Posteriormente, ocorre a auto-oxidação celular, em que retorna diversos produtos orgânicos ao meio (BASSIN e DEZOTTI, 2008; TEBBUTT, 1998).

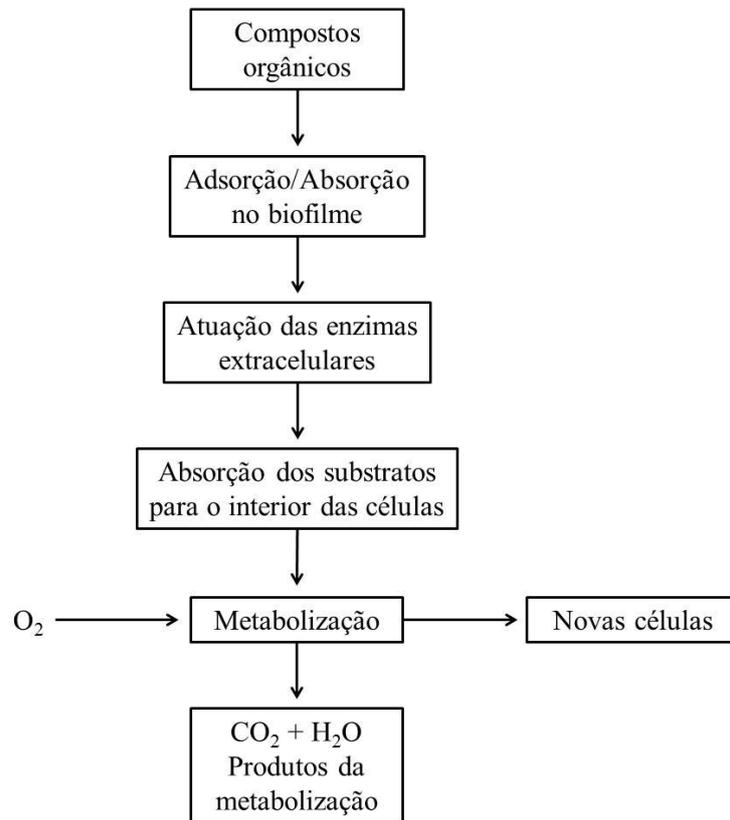


Figura 22 – Etapas da degradação de matéria orgânica aeróbia

Fonte: adaptado de TEBBUTT *et al.* (1998)

As condições operacionais para a eficiente degradação de matéria orgânica estão apresentadas na Tabela 11. Deve ser considerado que em condições com deficiência de matéria orgânica pode ocorrer a respiração endógena, que é a oxidação da massa celular a compostos inorgânicos (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003).

Tabela 11 – Condições operacionais para a remoção de matéria orgânica

pH	6 – 8
Temperatura	10°C – 40°C
Oxigênio dissolvido	2 mg/L – 5 mg/L
Nutrientes	DBO:N:P = 100:5:1
Micronutrientes	Fe, Mn, Cu, Zn, entre outros.

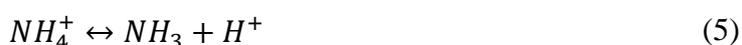
Fonte: TCHOBANOGLIOUS *et al.* (2003)

3.2.2.1.2. Remoção de nitrogênio por processo biológico

O nitrogênio é um nutriente essencial para o crescimento de microorganismos, plantas, animais e fator importante na síntese das proteínas e do DNA. Os microorganismos necessitam do nitrogênio incorporado em compostos orgânicos (aminoácidos e proteínas), enquanto as plantas e algas necessitam de nitrogênio na forma de íons nitrato (NO_3) ou íons amônio (NH_4^+) (MARTINS *et al.*, 2003;

TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003). Contudo, o excesso de nitrogênio presente nos corpos hídricos pode proporcionar o crescimento excessivo de micro-organismos, algas e plantas, causando a eutrofização de corpos hídricos (BASSIN e DEZOTTI, 2008).

O nitrogênio está presente nos efluentes e corpos hídricos na forma de amônia (NH_3), amônio (NH_4), nitrito (NO_2), nitrato (NO_3) e nitrogênio gasoso (N_2) e nitrogênio orgânico, como a uréia, aminoácidos e compostos orgânicos. A amônia pode estar presente na forma de íon amônio (NH_4) ou dissolvida como amônia livre (NH_3). Estas duas formas estão em equilíbrio e a sua concentração depende do pH, conforme apresentado na Equação 5 e na Figura 23 (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003).



Quando a concentração de íon hidrogênio for suficientemente alta, ou o pH menor ou igual a 7,2, o equilíbrio será deslocado para a esquerda da Equação 5. Por outro lado, para valores de pH mais elevados, o equilíbrio será deslocado para a direita da Equação 5, condição em que a concentração de amônia livre será maior.

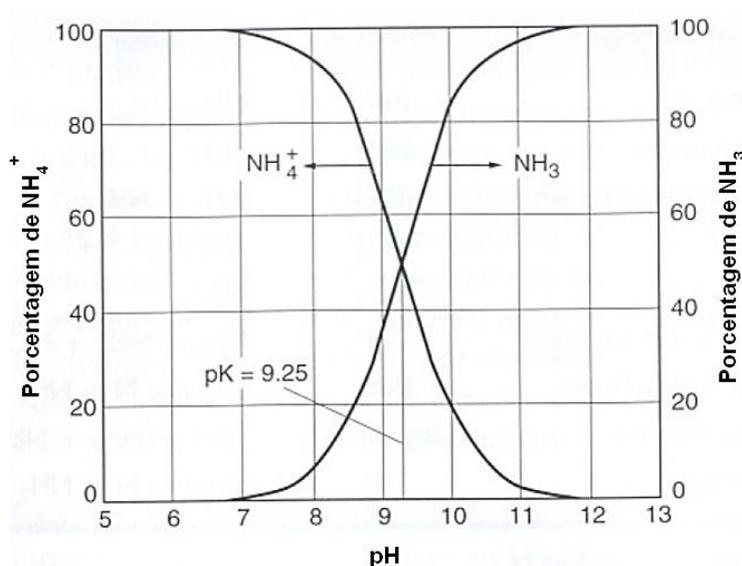


Figura 23 – Equilíbrio químico da amônia em função do pH

Fonte: adaptado de TCHOBANOGLIOUS *et al.* (2003)

A degradação biológica de substâncias que contêm nitrogênio ocorre por meio dos processos de assimilação, amonificação, nitrificação e desnitrificação, como pode ser observado de acordo com as conversões do nitrogênio apresentadas na Figura 24.

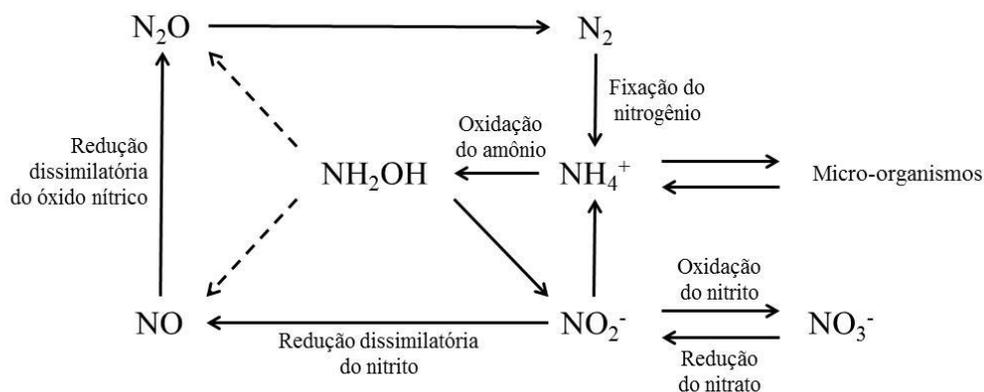
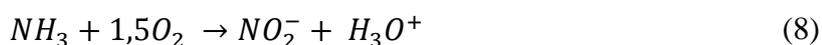
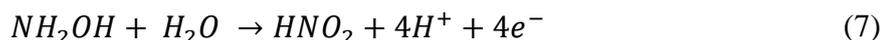


Figura 24 – Conversão de compostos nitrogenados em processo biológico aeróbio

Fonte: adaptado de BASSIN e DEZOTTI (2008)

A assimilação da amônia é o processo em que NH_3 ou o NH_4^+ são absorvidos por bactérias decompositoras, tornando-se parte de sua biomassa sob a forma de compostos de nitrogênio orgânico. A amonificação é a quebra de compostos de orgânicos nitrogenados por meio de bactérias decompositoras em NH_3 ou NH_4^+ (JAFFE, 2000; MARTINS *et al.*, 2003; TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003; VON SPERLING, 1996).

A nitrificação é a junção de dois processos de transformação, a nitritação e a nitratação. A nitritação ocorre por meio da conversão do NH_3 em nitrito (NO_2^-), apresentada nas Equações 6 e 7, e é realizada por bactérias oxidadoras de amônia (BOA) dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrosococcus*. Na reação apresentada na Equação 6, a amônia é oxidada em hidroxilamina por meio da amônia monooxigenase (AMO). Na Equação 7, a hidroxilamina oxidoreductase (HAO) oxida a hidroxilamina a nitrito. Nessas reações, a amônia é utilizada como doadora de elétrons pela BOA e o acceptor final de elétrons é o oxigênio. A Equação 8 apresenta a reação de oxidação da amônia a nitrito (BERNET e SPÉRANDIO, 2009; BOCK e WAGNER, 2013).



A nitratação é a oxidação do nitrito em nitrato (NO_3^-) realizada por bactérias quimiossintetizantes oxidadoras de nitrito (BON) do gênero *Nitrobacter*. A reação de nitratação é apresentada na Equação 9 (BERNET e SPÉRANDIO, 2009).



A desnitrificação ocorre pela redução de compostos nitrogenados oxidados (NO_2^- e NO_3^-) a N_2 ou N_2O , geralmente em sua forma gasosa, por meio de bactérias heterotróficas anóxicas que usam a matéria orgânica como agente redutor.

Para que a remoção de nitrogênio por processo biológico seja eficiente, além dos processos de conversão de nitrogênio é importante considerar alguns fatores que podem influenciar a eficiência do processo de nitrificação, como o pH, temperatura, concentração de oxigênio dissolvido e concentração de substrato (BASSIN *et al.*, 2012). As condições ideais para um eficiente processo de nitrificação em sistemas de tratamento biológico de efluentes estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 – Condições operacionais para a remoção de nitrogênio

pH	7,5 – 8
Temperatura	28°C – 36°C
Oxigênio dissolvido	3 mg/L – 4 mg/L

Fonte: TCHOBANOGLIOUS *et al.* (2003); BERNET e SPÉRANDIO (2009)

No processo biológico, as bactérias nitrificantes são influenciadas pela temperatura e possuem característica mesofílicas e a temperatura ótima para o seu crescimento é entre 28 e 36°C. A nitrificação ainda é possível, com menor taxa de crescimento, em temperatura de 5°C. Deve ser considerado que a temperatura e a taxa de crescimento das bactérias oxidadoras de amônia e de nitrito é diferente. Temperaturas acima de 15°C proporcionam uma maior taxa de crescimento das BOA do que das BON.

O pH ideal do meio para o processo de nitrificação ideal são em condições neutras a moderadamente alcalinas com pH entre 7,5 a 8. Contudo, a nitrificação pode ocorrer em meios ácidos em biofilmes e reatores de biomassa suspensa (BERNET e SPÉRANDIO, 2009).

As bactérias nitrificantes são sensíveis à baixa concentração de oxigênio devido a sua elevada afinidade por oxigênio, mas como podem estar presentes em agregados ou biofilmes, a concentração de oxigênio real pode ser menor do que a concentração de

oxigênio dissolvida no meio. Contudo, baixas concentrações de oxigênio dissolvido de 0,2 a 0,5 mg/L podem limitar o crescimento de BON e proporcionar a nitrificação e desnitrificação simultâneas em um mesmo meio (BERNET e SPÉRANDIO, 2009).

A presença de compostos orgânicos e inorgânicos, mesmo em concentrações baixas, podem causar a inibição da taxa de nitrificação e a morte das bactérias nitrificantes em sistemas de tratamento biológico de efluentes. Estes compostos são solventes orgânicos, aminas, proteínas, taninos, compostos fenólicos, álcoois, cianatos, éteres, carbamatos, benzeno e compostos nitrogenados (TCHOBANOGLOUS *et al.*, 2003).

Os compostos nitrogenados estão relacionadas ao pH do meio e o equilíbrio entre o íon amônio e a amônia livre e o nitrito e ácido nitroso. A amônia livre e o ácido nitroso podem inibir a nitrificação. As relações de inibição podem ser observadas na Figura 25. Alguns autores afirmam que a concentração de amônia livre pode ser inibidora para as Nitrossomonas em concentrações variando de 3,5 a 50 mg/L (WONG-CHONG e LOEHR, 1978; FORD *et al.*, 1980; ABELING e SEYFRIED, 1992). FERREIRA (2000) afirma que a concentração de NH_3 de 10 a 150 mg/L é inibidora para as Nitrossomonas, enquanto que 0,1 a 1,0 mg/L é inibidora para as Nitrobacter (oxidação do nitrito).

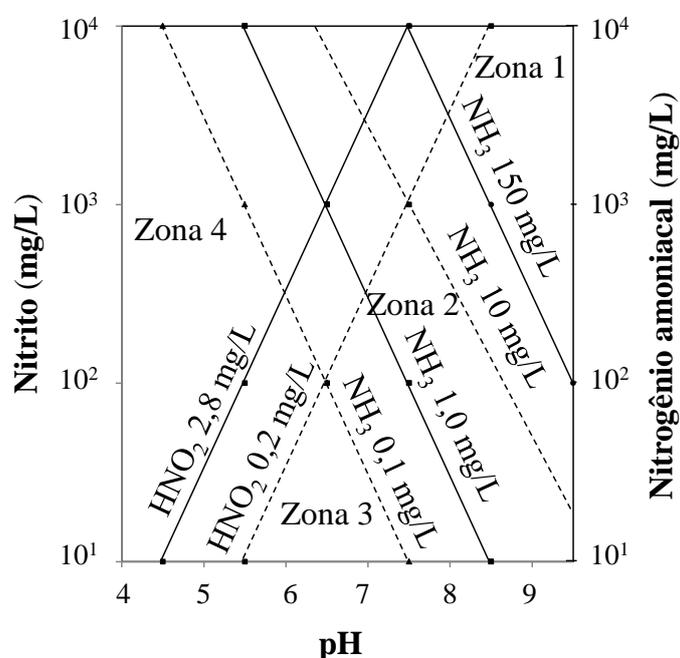


Figura 25 – Relação entre as concentrações de amônia livre (NH_3) e ácido nitroso (HNO_2) na inibição das bactérias nitrificantes. Zona 1 = inibição da nitrosação e nitratação por NH_3 ; Zona 2 = inibição da nitratação por NH_3 ; Zona 3 = completa nitrificação; Zona 4 = inibição da nitratação por HNO_2 .

Fonte: adaptado de ANTHONISEN *et al.* (1976)

De acordo com McCarthy (1999), os compostos N heterocíclicos podem inibir as bactérias nitrificantes. Maior inibição da nitrificação por compostos contendo 2 ou 3 átomos de nitrogênio adjacentes foi observada em compostos com nitrogênio não adjacentes ou apenas um nitrogênio no anel aromático. Contudo, a presença de cloro ou triclometila ligados ao anel aromático com nitrogênio pode potencializar a inibição da nitrificação, devido ao cloro ser ativado por substituição nucleofílica e o pKa do nitrogênio adjacente ser reduzido.

Tomlinson *et al.* (1966) e Hockenburu e Grady (1977) também estudaram e identificaram diversos compostos inibidores as bactérias Nitrosomonas, que são apresentados na Tabela 13. De acordo com os autores, estes compostos competem pelo sítio ativo da enzima que se liga a amônia, inibindo-as. Assim, aminas, anilinas, compostos de enxofre como a tiouréia, cianeto e fenóis são potencialmente inibidores para a reação de nitrificação.

A nitrificação em sistemas com biofilme ocorre por difusão, o que possibilita a formação de micro-habitats. As BOA criam gradientes de nitrito, proporcionando a formação de grupos e a estratificação de BON, permitindo que haja bactérias nitrificantes em toda a matriz do biofilme (YOUNG, 2017). As bactérias nitrificantes possuem uma taxa de crescimento menor do que as bactérias heterotróficas devido à sua fonte de energia (compostos inorgânicos) e a necessidade de elevada energia para a conversão de carbono inorgânico para o uso celular. No entanto as BOA possuem uma taxa de crescimento ligeiramente mais rápida do que a BON, o que pode causar instabilidade no processo de nitrificação e a ocorrência de biofilmes finos, onde o espaço é limitado. Assim, é importante manter o equilíbrio entre as bactérias nitrificantes BOA, BON e as bactérias heterotróficas. Em biofilmes espessos zonas anaeróbias podem aparecer e a atividade nitrificante pode ser limitada pela difusão no biofilme, em que o oxigênio pode penetrar até 200 µm do biofilme (EDEFELL, 2017). A baixa relação carbono/nitrogênio em sistema com biofilme que possui um elevado período de retenção de sólidos pode compensar os fatores limitantes para a reação de nitrificação (BASSIN *et al.*, 2012).

Tabela 13 – Efeito inibidor de compostos orgânicos na oxidação da amônia

Compostos	Concentração para inibição de 75% da nitrificação (mg/L)
Tiouréia	0,076
Tioacetamide	0,53
Tiosemicarbazida	0,18
Isotiocianato de metila	0,8
Isotiocianato de alil	1,9
Ditio-oxamida	1,1
Tiocianato de potássio	300
Ditiocarbamato metila de sódio	0,9
Ditiocarbamato dimetila de sódio	13,6
Dimetilditiocarbamato de dimetil amônio	19,3
Ciclopentametilenditiocarbamato de sódio	23
Ciclopentametilenditiocarbamato de piperidínio	57
Sulfato de metila tiurônio	6,5
Cloreto de benzil tiurônio	49
Monossulfeto tetrametil tiuram	16
Dissulfeto tetrametil tiuram	30
Mercaptobenzotiazol	3
Dissulfeto benzotiazol	38
Fenol	5,6
0-cresol	12,8
m-cresol	11,4
p-cresol	16,5
Anilina	7,7
2-4 dinitrofenol	460
Ácool alílico	19,5
Cloreto de alil	180
Éter di-alil	100
Cianeto de sódio	0,65
Dimetil p-nitroso-anilina	19
Carbonato de guanidina	16,5

Fonte: TOMLINSON *et al.* (1966)

3.2.2.1.3. Degradação de corantes azo por processo biológico

A remoção de corantes azo por processo biológico pode ocorrer por meio da adsorção na biomassa ou por biodegradação. O mecanismo de biossorção é semelhante a outros mecanismos de adsorção física, não sendo adequado ao longo do tempo devido

à saturação da biomassa e a disposição final da mesma com corante não degradado. Entretanto, a bioissorção é primeira fase na redução biológica dos corantes azo (PEARCE *et al.*, 2003).

O processo de degradação dos corantes azo pode ser anaeróbio, aeróbio ou envolver uma combinação dos dois processos. Para que o processo aeróbio seja eficiente na degradação do corante, as bactérias necessitam ser adaptadas por um longo período de tempo na presença de um corante azo simples. Os micro-organismos aeróbios sintetizam uma azo-redutase específica e em condições controladas, pode realizar a degradação e a quebra do grupo azo. Entretanto, no processo anaeróbio, as bactérias não necessitam de adaptação devido ao seu caráter inespecífico em relação aos corantes azo. Assim, o processo anaeróbio é mais utilizado na degradação de corantes azo (PEARCE *et al.*, 2003).

Chengalroyen e Dabbs (2013) apresentam algumas hipóteses com relação ao mecanismo de degradação de corantes azo. A degradação pode ser realizada por enzimas intracelulares e extracelulares, ou por meio da redução extracelular inespecífica.

A primeira hipótese dos mecanismos propõe uma transferência de elétrons produzidos durante a geração da ATP para o corante, a qual ocorre por meio de enzimas via reação catabólica. O corante atua comoceptor final de elétrons e induz a quebra da ligação azo. A segunda hipótese indica que a quebra da ligação azo ocorre por meio da redução ocasionada pelos produtos finais do catabolismo bacteriano. Estas hipóteses podem ser observadas nas Figuras 26 e 27 (PEARCE *et al.*, 2003; PANDEY *et al.*, 2007).

Quando estes mecanismos ocorrem em condição anaeróbia, há quebra da ligação azo que pode formar produtos tóxicos e carcinogênicos, como por exemplo, as aminas aromáticas. Assim, para solucionar este problema, pode ser realizado um sistema aeróbio posterior ao sistema anaeróbio, em que os subprodutos tóxicos gerados em condição anaeróbia são degradados pelo sistema aeróbio (Figura 28) (CHENGALROYEN e DABBS, 2013).

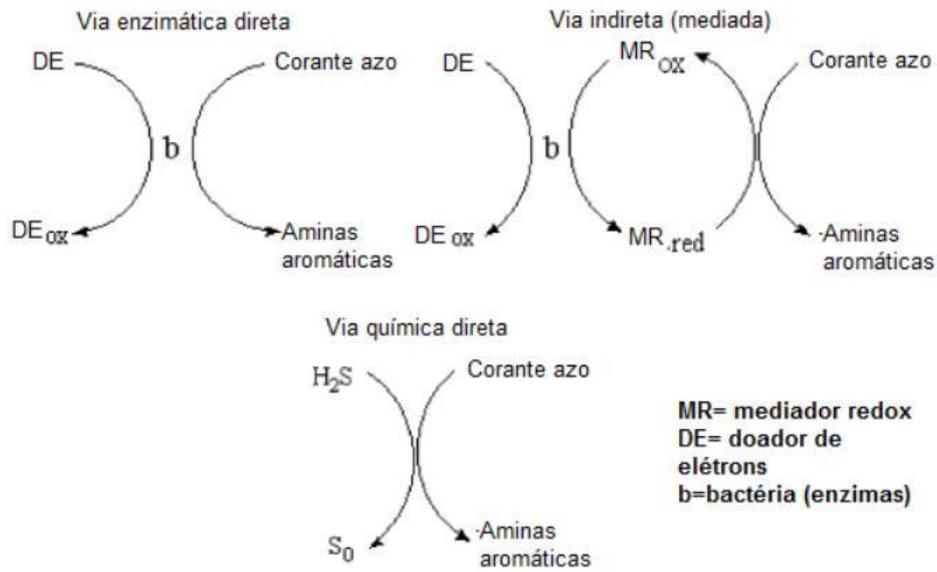


Figura 26 – Mecanismos de degradação biológica do corante azo
 Fonte: PANDEY *et al.* (2007)

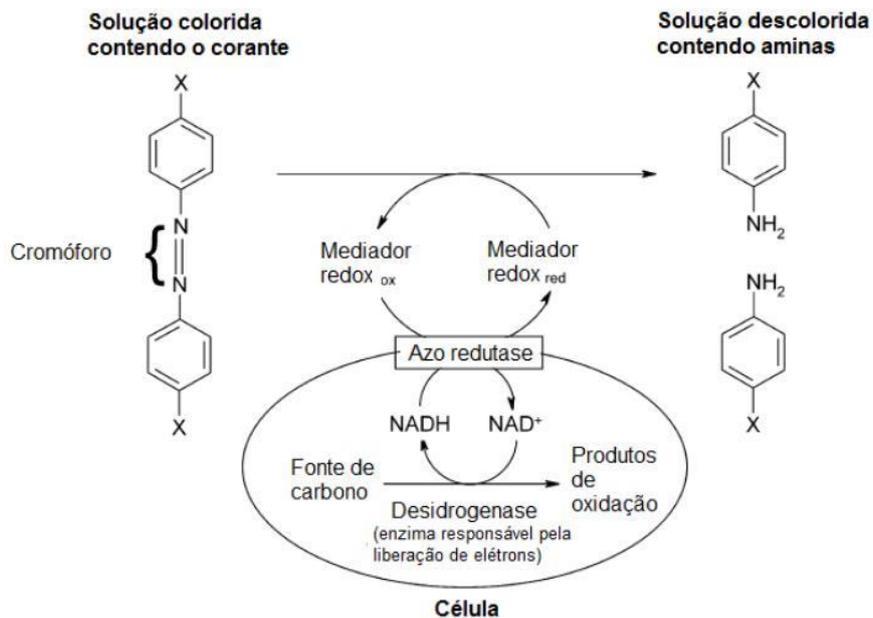


Figura 27 – Mecanismo de degradação do corante azo via mediador redox
 Fonte: PEARCE *et al.* (2003)

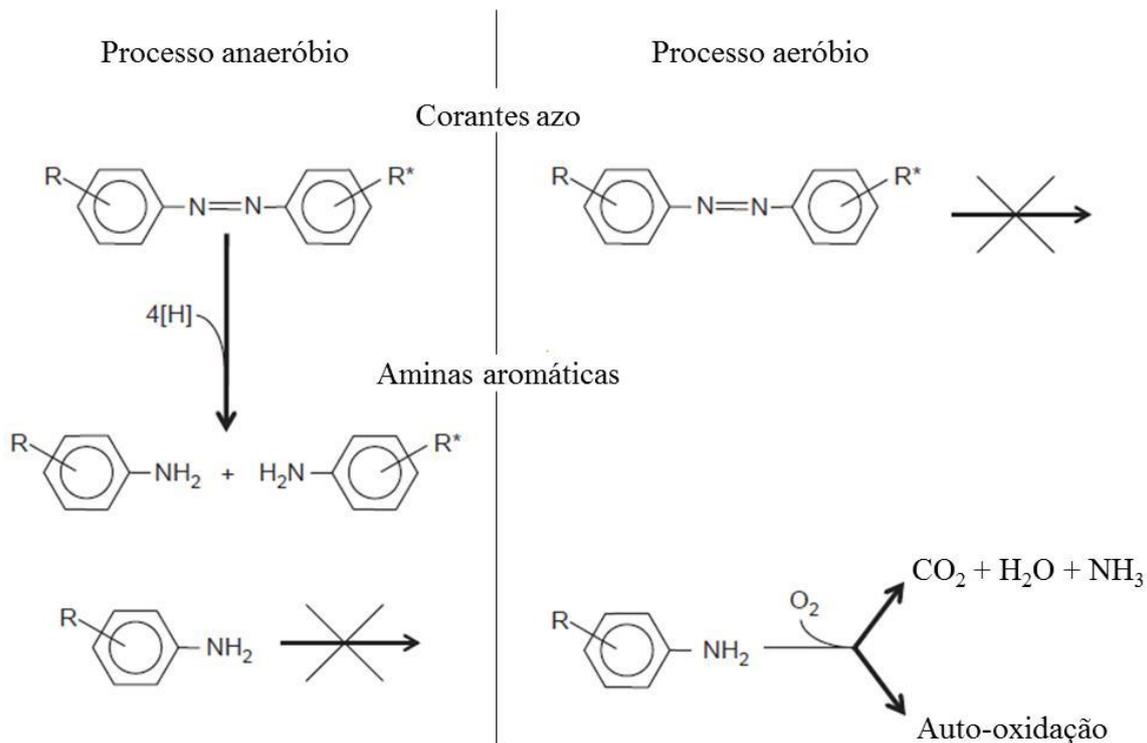


Figura 28 – Degradação dos corantes azo e aminas aromáticas sob condições anaeróbia e aeróbia

Fonte: VAN DER ZEE e VILLA VERDE (2005)

Para que a degradação dos corantes azo por processo biológico seja eficiente, além do conhecimento dos mecanismos de degradação é importante considerar alguns fatores que podem influenciar a eficiência do processo, como a concentração de oxigênio dissolvido, pH, temperatura, tempo de retenção hidráulica e concentração do corante.

A concentração de oxigênio na remoção de cor é um fator relevante, visto que a remoção de corante é realizada em ambiente anaeróbico. A presença de oxigênio em elevada concentração pode inibir o mecanismo de redução do corante, em que os elétrons utilizados na oxidação serão preferencialmente usados na redução do oxigênio ao invés do corante (PEARCE *et al*, 2003; SARATALE *et al*, 2011). Desta forma, pode ser observado que todos os processos apresentados na Tabela 14 são anaeróbios seguidos de aeróbios.

O pH ótimo do meio para a degradação de corantes é entre de 6 a 10 e a taxa de remoção de cor decresce em meios muito ácidos ou muito alcalinos (PEARCE *et al*., 2003). Deve ser considerado que a degradação biológica da ligação azo resulta em um aumento do pH, devido a formação de metabólitos como as aminas, que são mais

alcalinas do que o corante azo original. Contudo, essa variação no pH é de 7 a 9,5 e ocasiona pouco efeito à degradação de corantes azo (PEARCE *et al.*, 2003; SARATALE *et al.*, 2011). Na Tabela 14, pode ser observado que todos os autores empregaram pH neutro e obtiveram elevada eficiência na remoção de cor na degradação de corantes azo. Apenas Naimabadi *et al.* (2009) obtiveram um pequeno decréscimo na remoção de cor, que pode ser proveniente da aplicação do pH menor que a faixa ideal.

Tabela 14 – Remoção de corantes azo por processo biológico

Corante	Classe do corante	Reator	Condição de trabalho	Eficiência de remoção (%)	Referência
Vermelho ácido 18	Monoazo	RBS anaeróbio e MB-SBBR aeróbio	O ₂ = 3 mg/L; TRH = 2,75 d; Ccorante = 100 mg/L; pH = 7,5; T = 35°C	Cor = 98; DQO = 80	KOUPAIE <i>et al.</i> (2011)
Laranja reativo 16	Monoazo	Reator de biofilme anaeróbio, Reator anóxico e MBR aeróbio	O ₂ = 80 L/h; TRH = 3,85 d; Ccorante = 25 mg/L; pH = 7; T = 20°C	Cor = 90; DQO = 90; NH ₄ ⁺ = 85	SPAGNI <i>et al.</i> (2010)
Violeta brilhante remazol 5R	Monoazo	RBS anaeróbio e aeróbio	TRH = 0,83 d; Ccorante = 100 mg/L; pH = 7,2; T = 25°C	Cor = 100; DQO = 90	CIRIK <i>et al.</i> (2013)
Vermelho reativo 2	Monoazo	Reator anaeróbio e Lodos ativados	TRH = 1 d; Ccorante = 100 mg/L; pH = 5,7 a 7,2; T = 35°C	Cor = 89; DQO = 90	NAIMABADI <i>et al.</i> (2009)
Vermelho Congo	Diazo	UASB e SBR aeróbio	O ₂ < 2,6 mg/L; TRH = 1 d; Ccorante = 400 mg/L; pH = 7; T = 27°C	Cor = 96; DQO = 60	DA SILVA <i>et al.</i> (2012)
Preto reativo 5	Diazo	UASB e RAAC	TRH = 3,2 d; Ccorante = 150 mg/L; pH = 7; T = 35°C	Cor = 99; DQO = 86	KARATAS <i>et al.</i> (2010)
Preto amino	Diazo	Biorreator anaeróbio-aeróbio-sedimentação	TRH = 1 d; Ccorante = 30, 45 e 60 mg/L	Cor = 100; DQO = 85	ZHU <i>et al.</i> (2018)
Preto ácido 10B	Diazo	Reator em batelada sequencial (PDBR)	TRH = 2 d; Ccorante = 1.250 mg/L, pH = 7	Cor = 65; DQO = 69	REDDY <i>et al.</i> (2018)
Amarelo ouro remazol	Monoazo	UASB e Lodo ativado	TRH = 1 d e 0,33d; Ccorante = 50 mg/L, T = 16 a 29 °C	Cor = 85; DQO = 90	BAHIA <i>et al.</i> (2018)

Com relação à temperatura, Pearce *et al.* (2003) afirma que a remoção de cor corresponde à temperatura ótima para o crescimento da cultura celular, que está entre 35 a 45°C. Temperaturas maiores que 45°C podem afetar a viabilidade celular e causar desnaturação da enzima azo redutase, entretanto, células bacterianas podem ser

aclimatadas e podem permanecer ativas durante curto período de tempo na temperatura de 60°C. Na Tabela 14, pode ser observado que alguns estudos, como o de Spagni *et al.* (2010) e Cirik *et al.* (2013) obtiveram uma alta eficiência na remoção de cor, apesar de empregarem temperaturas menores de 35°C.

O tempo de retenção hidráulica (TRH) é um fator importante na remoção de cor, devido à velocidade lenta dos micro-organismos anaeróbios. Assim, é necessária a aplicação de um elevado TRH para a atividade das enzimas responsáveis pela quebra da ligação azo (VAN DER ZEE e VILLAVERDE, 2005; POPLI e PATEL, 2015). Nos diversos estudos apresentados na Tabela 14, foram empregados TRHs de 0,83 a 3,85 dias, que corroboram com a informação de Van Der Zee e Villaverde (2005).

Os corantes azo possuem baixa concentração de carbono para uma eficiente degradação biológica. Portanto, uma fonte extra de carbono é necessária. O carbono, como substrato primário é essencial para a sobrevivência e crescimento dos micro-organismos, como fonte de energia e fundamental na remoção de corante, uma vez que há necessidade de um doador de elétrons para a quebra da ligação azo. Os elétrons são obtidos a partir da oxidação do carbono e transferidos para o corante azo via mediadores redox, proporcionando a degradação do corante. As fontes de carbono mais utilizadas são o acetato, etanol, levedura e glicose (POPLI e PATEL, 2015). De acordo com Van Der Zee e Villaverde (2005), são necessários 4 doadores de elétrons para reduzir a ligação azo, resultando em 32 mg de DQO por mmol de corante azo.

Outro fator que pode influenciar na remoção de cor é a concentração do corante. Em elevada concentração, o corante pode ser tóxico às bactérias e bloquear os sítios ativos das enzimas azo redutase (SARATALE *et al.*, 2011; POPLI e PATEL, 2015). Contudo, a capacidade da enzima em reconhecer o substrato de forma eficiente pode afetar o processo, quando aplicadas concentrações muito baixas de corante (PEARCE *et al.*, 2003).

A estrutura do corante azo também pode influenciar no processo, em que a remoção de corantes azo é maior em corantes com estruturas mais simples, menor massa molar e com apenas uma ligação azo (PEARCE *et al.*, 2003; SARATALE *et al.*, 2011). Corantes azo com grupos receptores de elétrons, como o grupamento $-SO_3H$ e $-SO_2NH_2$ nas posições orto e para, são mais fáceis de serem degradados do que corantes com grupos doadores de elétrons, como o grupamento $-NH-$ triazina na posição meta. A posição orto e para dos grupamentos proporciona um efeito de ressonância e torna a ligação azo mais apta à redução (SOLIS *et al.*, 2012).

3.2.3. Associação de Processos Oxidativos e Biológicos

Os processos de ozonização e biológico por reator MBBR podem ser associados com o objetivo de alcançar elevada eficiência para a remoção de cor (MONTAÑO *et al.*, 2008; LU *et al.*, 2009; DE SOUZA *et al.*, 2010; PUNZI *et al.*, 2015; CASTRO *et al.*, 2016; SHAAR *et al.*, 2010). Contudo, alguns fatores devem ser considerados para que a associação destes processos se torne interessante.

Para a degradação de corante azo alguns fatores já mencionados como, o custo elevado do processo de ozonização para a completa mineralização, a ineficiência da remoção de cor via processo biológico aeróbio, a formação de aminas aromáticas tóxicas no processo biológico anaeróbio e a cinética lenta do processo anaeróbio devem ser levados em conta.

A ozonização como processo para a remoção de cor pode ser eficiente, uma vez que é aplicada por curto intervalo de tempo e em baixas dosagens, devido a sua seletividade na quebra de estruturas com elevada densidade eletrônica. A ozonização também pode aumentar a biodegradabilidade dos corantes azo, que podem ser degradados por um processo biológico posterior. O processo biológico é eficiente na remoção de diversos compostos, que pode então realizar a degradação dos produtos do corante azo gerados na ozonização.

Na Tabela 15 está apresentada a remoção de corantes azo por processos biológico e oxidativos associados. Pode ser observado que a associação entre o processo oxidativo por ozonização e o processo biológico foi eficiente em todos os estudos, tendo sido utilizados para a remoção de cor ou para a degradação dos produtos intermediários.

Entretanto, após pesquisa extensiva não foi encontrada nenhuma referência sobre a associação entre o processo de ozonização e o processo biológico por MBBR na remoção do corante vermelho reativo 239, a degradação de seus produtos intermediários e possíveis interferências na remoção de nitrogênio.

Tabela 15 – Remoção de corante azo por processos oxidativos e biológicos associados

Corante	Classe do corante	Processo para remoção de cor			Processo para degradação dos produtos intermediários			Referência
		Processo	Condições de operação	Eficiência de remoção (%)	Processo	Condição de trabalho	Eficiência de remoção (%)	
Vermelho reativo 238	Monoazo	Reator Anaeróbico e aeróbio	Reator batelada estático; SST = 3,8 g/L; C _{corante} = 250, 1250 e 3135 mg/L; T = 50 dias; T = 37°C	Cor = 92; DQO = 45;	Ozonização	Tempo de reação = 150 min; pH = 10,5; T = 23°C	DQO = 83	MONTAÑO <i>et al.</i> (2008)
Vermelho reativo brilhante X-3B	Monoazo	Ozonização	C _{corante} = 50 mg/L; tempo de reação = 120 min; O ₃ = 34 mg/L; pH = 11; T = 25°C	Cor = 98; DQO = 25	Reator aeróbio de fluxo ascendente	Carga hidráulica = 4,8 m ³ /m ³ .d; T = 20 - 25°C;	DQO = 90	LU <i>et al.</i> (2009)
Vermelho Remazol	Diazo	Dois reatores anaeróbios sequenciais	C _{corante} = 500 mg/L; TRH = 2 - 6 dias;	Cor = 100; DQO = 60	Ozonização	C _{O3} = 0,52 g/L e 0,78 g/L; tempo de reação = 4 e 6 min	DQO = 50	PUNZI <i>et al.</i> (2015)
Laranja reativo 16	Monoazo	Ozonização	C _{corante} = 100 mg/L; tempo de reação = 5 min; C _{O3} = 51 mg/L	Cor = 97; COT = 48	MBBR aeróbio	TRH = 6h; Biomedia = K1; Fração de preenchimento = 40%	DQO = 94	CASTRO <i>et al.</i> , (2016)

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. EFLUENTE SINTÉTICO

Para o desenvolvimento deste estudo, foi utilizado o corante azo vermelho reativo 239, adquirido da Oficina de Tintas, com pureza de 95%. As propriedades do corante VR239 estão descritas no item 3.1.3.1.

A solução do corante VR239 foi preparada com uma concentração de 50 mg/L em meio tamponado para pH 3, 7 e 10, utilizando ácido clorídrico 0,1 M, tampão fosfato 0,1 M e hidróxido de sódio 0,1 M, de acordo com o pH desejado.

A composição do meio sintético utilizado está apresentada na Tabela 16.

O efluente de alimentação do sistema biológico, detalhado no item 4.2.2, foi obtido por meio da mistura do meio sintético e da solução de corante VR 239 (bruta ou previamente ozonizada), sendo essa última obtida a partir do tratamento descrito no item 4.2.1.

Tabela 16 – Meio sintético utilizado no MBBR

Composto	Concentração
Glicose	400 mg/L de DQO
Bicarbonato de sódio	270 mg/L
NH ₄ ⁺ -N	30 mg/L
Fosfato de potássio dibásico (K ₂ HPO ₄)	4,45 mg/L de Fósforo
Fosfato de potássio monobásico (KH ₂ PO ₄)	4,55 mg/L de Fósforo
Micronutrientes (solução de elementos traço)	0,5 mL/L ^a

^a Proporção da solução de micronutrientes para cada litro de meio preparado

4.2. PROCESSOS DE TRATAMENTO PARA A DEGRADAÇÃO DO VR 239 E METABOLIZAÇÃO DE SEUS SUBPRODUTOS

A degradação do corante VR 239 foi realizada pelo processo de ozonização. Por sua vez, a solução de corante ozonizada contendo os produtos resultantes da ozonização foi submetida ao pós-tratamento biológico em um reator de leito móvel com biofilme (MBBR). A operação do sistema biológico foi dividida em duas fases (Fase 1 e Fase 2) as quais se diferenciam pelo número de reatores (apenas um na Fase 1 e dois reatores em série na Fase 2). O sistema de ozonização empregado juntamente com todo o aparato experimental está ilustrado na Figura 29. O sistema MBBR e seus componentes estão apresentados na Figura 30.

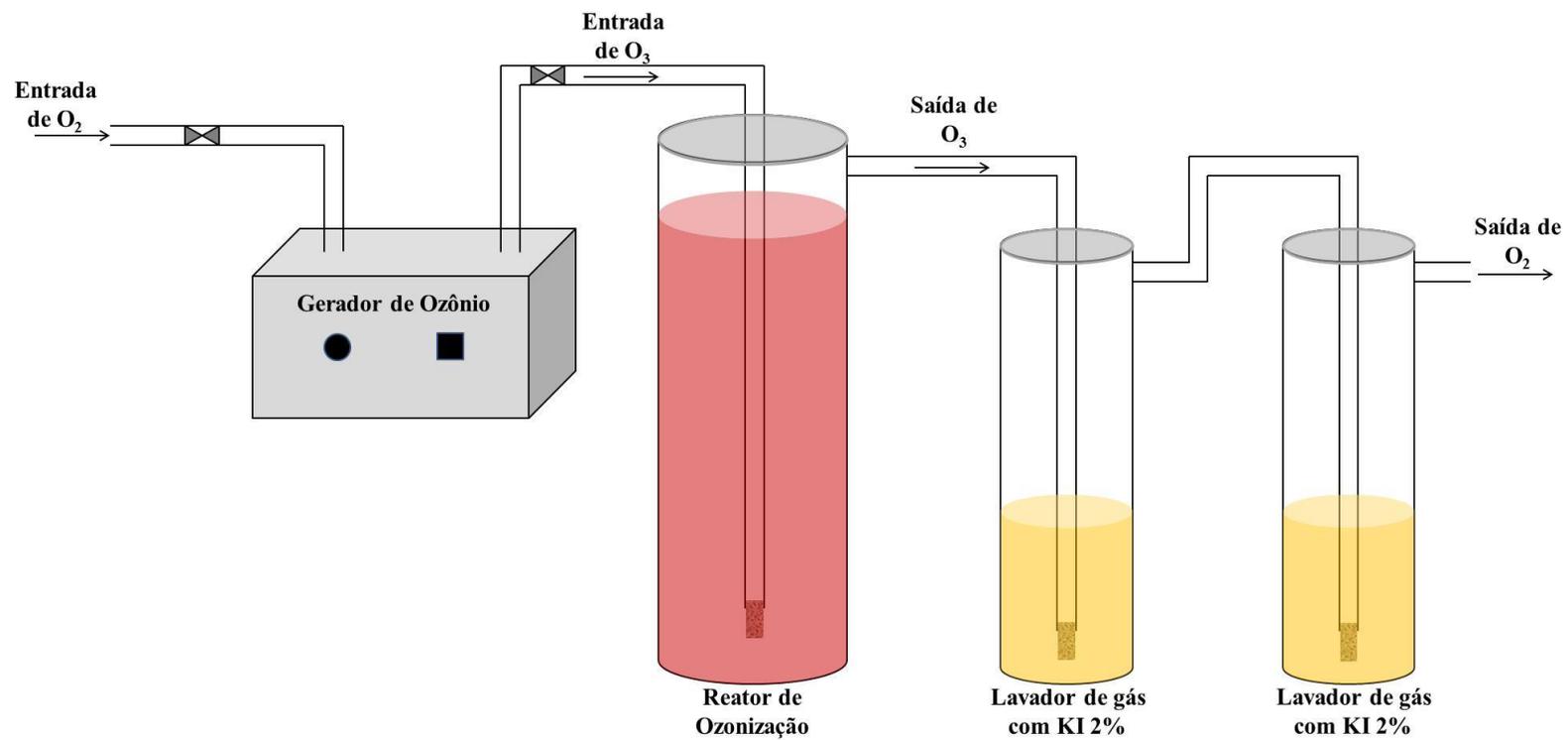


Figura 29 – Processo de tratamento do corante VR 239 por ozonização.

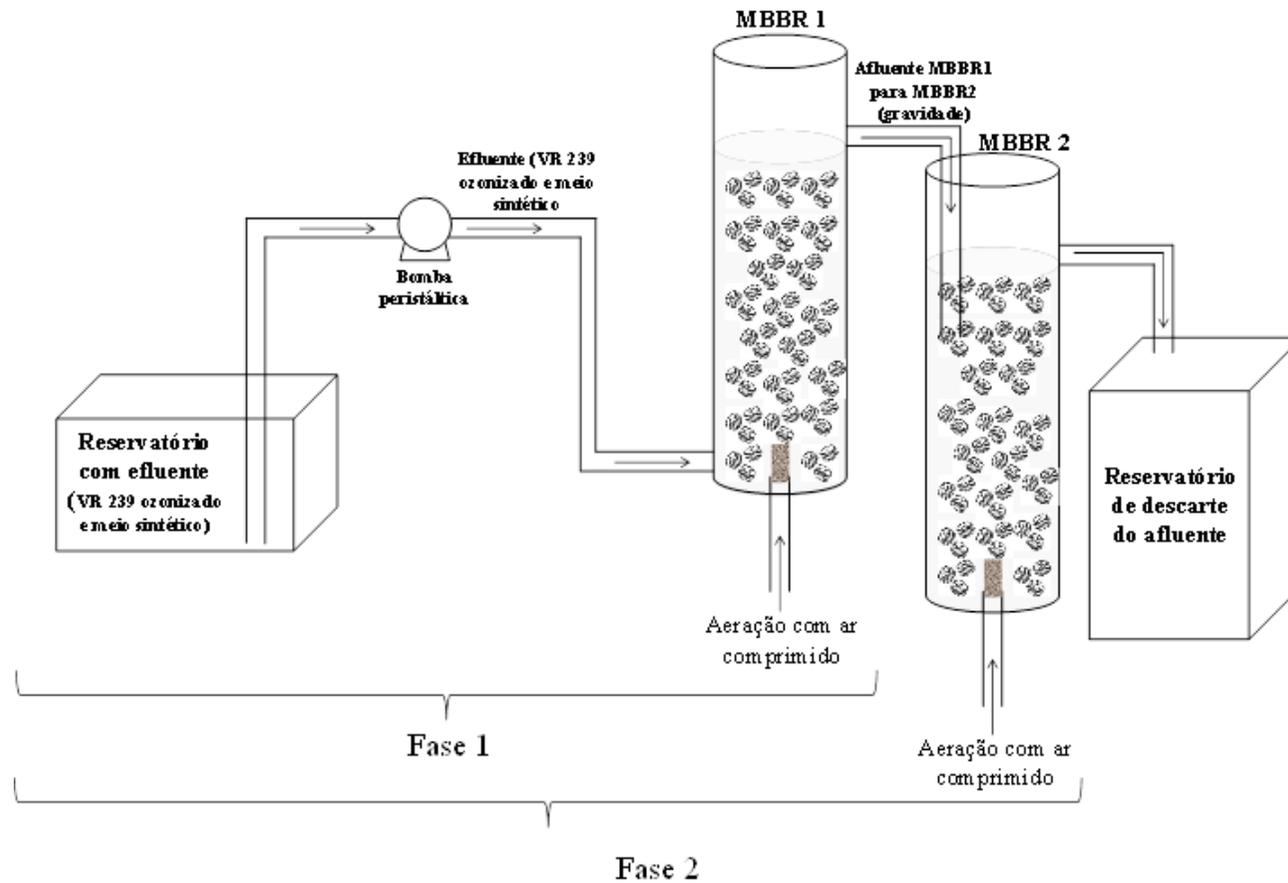


Figura 30 – Processo de tratamento do corante VR 239 por um MBBR na Fase 1 e dois MBBRs em série na Fase 2

4.2.1. Ozonização

Para os ensaios de ozonização, foi utilizado um reator cilíndrico de vidro, com volume de 2 L, e dois lavadores de gases em série com volume de 1 L contendo 200 mL de solução de iodeto de potássio (KI) na concentração de 2%, como apresentado na Figura 31. O gerador de ozônio utilizado é da marca Ozone & Life, modelo 3.0 RM.

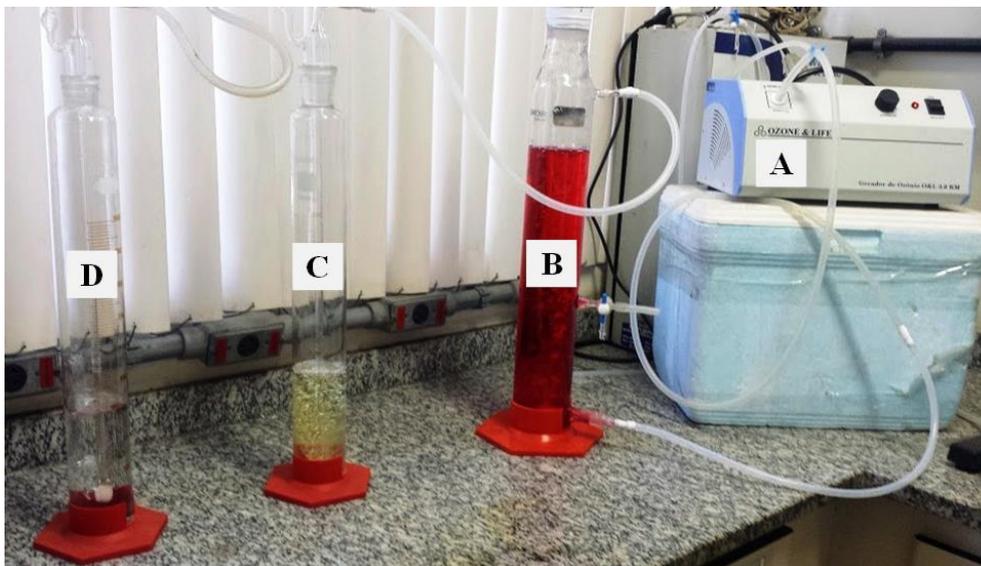


Figura 31 – Sistema de ozonização: A) gerador de ozônio; B) reator de ozonização; C e D) lavador de gás com solução de KI a 2%

A solução de iodeto de potássio contida nos dois lavadores de gases foi utilizada para quantificar o ozônio na entrada do reator, quantificar a demanda de ozônio nos intervalos de tempo de reação e para capturar o ozônio residual, de acordo com o método 2350E (APHA, 2005). Para a medida da dose de ozônio, o recipiente B foi retirado e o ozônio foi alimentado diretamente nos recipientes C e D.

A solução de iodeto de potássio contida nos lavadores de gás reage com o ozônio formando o iodo, que apresenta coloração castanha. Posteriormente, a solução de iodeto de potássio, após a ozonização, foi acidificada com 10 mL de ácido sulfúrico 2 M e foi realizada a titulação com tiosulfato de sódio 0,1 N até se obter a cor amarelo palha. Em seguida, foi adicionado 1 mL de solução de amido 1% de modo a tornar a solução azulada e a titulação com tiosulfato de sódio 0,1 N prosseguiu até o desaparecimento da cor.

Utilizando o volume gasto de tiosulfato de sódio na titulação, a dose e a demanda de ozônio podem ser calculadas por meio das Equações 5 e 6, respectivamente. A concentração de ozônio na entrada do reator foi obtida por meio da divisão da dose de ozônio pelo fluxo de gás utilizado, isto é, 1 L/min.

$$Dose \left(\frac{mg}{min} \right) = \frac{(A + B) \times N \times 24}{T} \quad (5)$$

Em que:

A = Volume gasto de tiosulfato de sódio no recipiente C com KI (mL);

B = Volume gasto de tiosulfato de sódio no recipiente D com KI (mL);

N = Normalidade da solução de tiosulfato de sódio;

T = Tempo de ozonização (min)

$$Demanda \left(\frac{mg}{min} \right) = Dose \left(\frac{mg}{min} \right) - \frac{C \times N \times 24}{T} \quad (6)$$

Em que:

C = Volume gasto de tiosulfato de sódio nos recipientes C e D com KI (mL);

N = Normalidade da solução de tiosulfato de sódio;

T = Tempo de ozonização (min)

Os ensaios de ozonização para a degradação do corante VR 239 foram realizados em batelada e à temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A solução de corante contendo 50 mgVR 239/L foi preparada em meio tamponado para valores de pH 3, 7 e 10, com ácido clorídrico 0,1 M, tampão fosfato 0,1 M e hidróxido de sódio 0,1 M, de acordo com o pH desejado. A concentração de ozônio utilizada foi de 40 mg/L nos ensaios preliminares e de 20 mg/L nos ensaios posteriores. Para quantificar a remoção de cor e realizar as análises físico-químicas, foram coletadas amostras nos seguintes tempos de reação: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 15 e 20 min.

A partir do tempo de ozonização definidos em 12 e 20 min para remoção total da cor na condição de 50 mgVR 239/L, 20 mgO₃/L e pH 7 a solução de VR 239 ozonizada foi adicionada com meio sintético e enviada posteriormente ao sistema MBBR.

4.2.2. Reator de Leito Móvel com Biofilme (MBBR)

Inicialmente o sistema MBBR foi constituído de um único reator cilíndrico de vidro (Fase 1), com volume útil de 300 mL e entrada e saída lateral. A aeração foi realizada por meio de difusor poroso na base do reator e a vazão de ar foi de 1 mL/min, conforme indicada por um rotâmetro calibrado. Com esse aporte de ar, a concentração de oxigênio dissolvido (OD) se manteve em torno de 5 mg/L. Uma fotografia do aparato experimental está mostrada na Figura 32. Posteriormente, na Fase 2, o MBBR foi constituído de dois reatores cilíndricos de vidro em série (Figura 33). Cada reator

apresentou volume útil de 150 mL, sendo as demais características (aeração, vazão de ar) mantidas constantes. O sistema biológico foi alimentado por meio de bomba peristáltica Longer Pump, modelo BT100-2J.

Para a degradação dos subprodutos de ozonização do corante VR 239, o MBBR foi operado com tempo de retenção hidráulica (TRH) de 6 h. Como o volume total da Fase 2 permaneceu o mesmo da Fase 1, o tempo de retenção hidráulica total permaneceu o mesmo. Para a imobilização da biomassa e formação do biofilme, os reatores foram preenchidos com suportes Kaldnes K1, com fração de preenchimento de 40%.

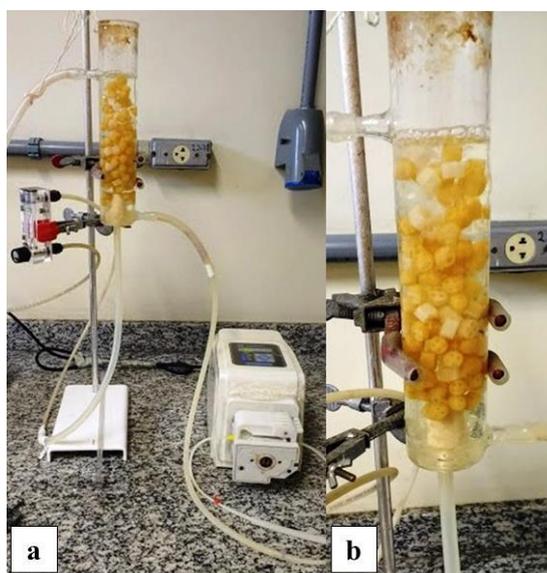


Figura 32 – Reator de leito móvel com biofilme durante operação na Fase 1: a) aparato experimental; b) detalhe do reator

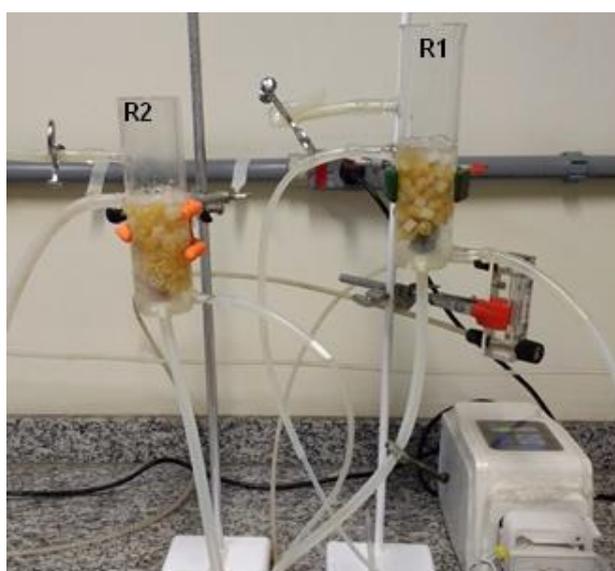


Figura 33 – Reatores de leito móvel com biofilme em série na Fase 2: a) aparato experimental; b) detalhe do reator

Devido ao reator ter sido alimentado anteriormente com esgoto sanitário da ETE CEDAE-Alegria (Rio de Janeiro-RJ), não foi necessária a inoculação do reator. Assim, para a aclimação do reator, foi utilizado o meio sintético sem adição do corante VR 239. Após o período de aclimação, a alimentação do reator foi realizada inicialmente com efluente sintético (meio sintético adicionado ao corante VR 239. Em seguida, a alimentação do reator foi realizada com efluente sintético ozonizado, que é o meio sintético adicionado à solução de corante VR 239 previamente ozonizada.

Com o objetivo de se obter uma melhor eficiência na remoção de nitrogênio amoniacal no sistema MBBR, o reator de 300 mL foi posteriormente dividido em dois reatores em série com 150 mL cada reator. A alimentação do MBBR₁ para o MBBR₂ foi realizada por meio de gravidade. A Tabela 17 apresenta as condições aplicadas em cada fase operacional do MBBR.

Tabela 17 – Condições de operação do MBBR na Fase 1 e Fase 2

Regime	Alimentação MBBR	Tempo de operação (dias)	Concentração inicial de corante (mg/L)	Tempo de ozonização do corante (min)	TRH (h)
1	Meio sintético	136	0	0	6
2	Efluente sintético	50	50	0	6
3	Efluente sintético ozonizado	60	50	12	6
4	Meio sintético	20	0	0	6
5	Efluente sintético ozonizado	90	50	12	6
6	Efluente sintético ozonizado e 2 MBBRs	95	50	12	6
7	Efluente sintético ozonizado por 20 min e 2 MBBRs	40	50	20	6
8	Meio sintético	70	0	0	6

4.3. CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE SINTÉTICO

A caracterização da solução contendo o corante VR 239, antes e após ozonização, bem como do efluente sintético composto pela solução do corante VR 239 ozonizada e o meio sintético antes e após o sistema MBBR foi realizada por meio de análises físico-químicas, apresentadas na Tabela 18, segundo metodologias especificadas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Tabela 18 – Parâmetros físico-químicos avaliados durante a pesquisa

Parâmetro	Equipamento	Método
Carbono total dissolvido	Analisador de carbono orgânico Shimadzu, modelo PCN/TNM-1	Método de combustão à alta temperatura (5310B)
Demanda química de oxigênio	Digestor de refluxo fechado e Espectrofotômetro Hach, modelo DR 2800	Método colorimétrico (5220D)
Nitrogênio total	Analisador de nitrogênio total Shimadzu, modelo PCN/TNM-1	Método de combustão à alta temperatura
Nitrogênio amoniacal	Espectrofotômetro visível Hach, modelo DR 2800	Método de Nessler (4500-NH3C)
Nitrato	Espectrofotômetro visível Hach, modelo DR 2800	Método da Redução de Cádmio (Kit analítico)
Nitrito	Espectrofotômetro visível Hach, modelo DR 2800	Método do Sulfato Ferroso (Kit analítico)
Sólidos suspensos	Estufa a Icamo, modelo 4 e Mufla Fornitec, modelo 0722	Método gravimétrico (2540D)
Sólidos aderidos totais	Estufa Icamo, modelo 4 e Mufla Fornitec, modelo 0722	Método gravimétrico, PDM e MM (FONSECA, 2016)

4.3.1. Remoção de cor e espectro de absorção

A remoção de cor por ozonização foi quantificada por meio da Equação 7. A concentração do corante VR 239 foi calculada utilizando a curva de calibração, apresentada na Figura 34. A curva de calibração foi obtida relacionando a absorbância no comprimento de onda de máxima absorção do corante VR 239 (542 nm) e as concentrações de corante conhecidas.

$$\text{Remoção de cor}(\%) = \left(\frac{C_0 - C_t}{C_0} \right) \times 100 \quad (7)$$

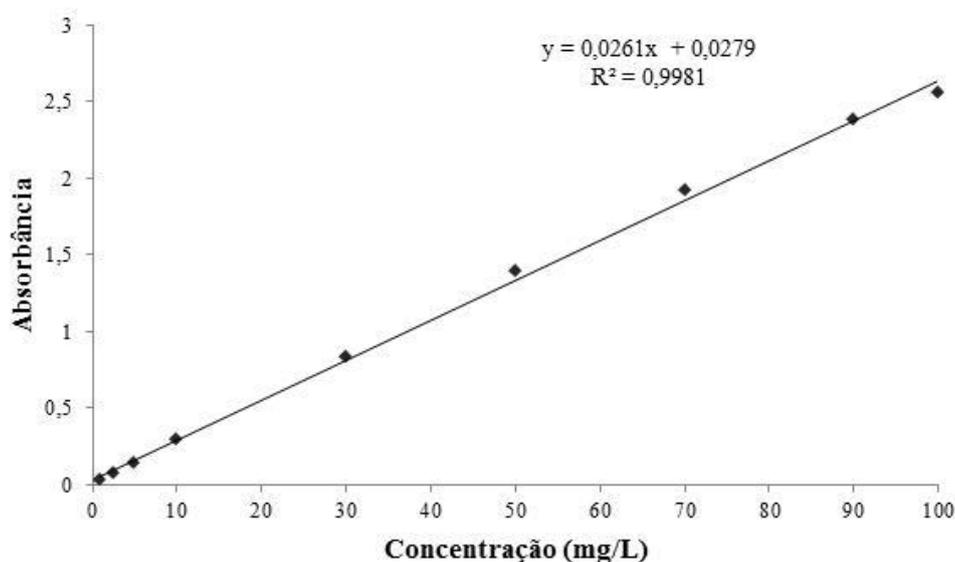


Figura 34 – Curva de calibração relacionando a absorbância no comprimento de onda de máxima absorção do corante e a concentração do corante VR 239

Os espectros de absorção do corante VR 239 foram obtidos por meio da absorbância nos comprimentos de onda entre 200 nm e 1000 nm, utilizando o espectrofotômetro Thermo Scientific, modelo Multiskan GO.

4.3.2. Toxicidade

Os ensaios de toxicidade foram realizados de acordo com a NBR 15411-3 (ABNT, 2012) de modo a avaliar a toxicidade da solução de corante em diferentes tempos de ozonização (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 15 e 20 min). O organismo teste utilizado foi a bactéria *Vibrio fischeri*, proveniente das empresas Biolux e Ambriex

O procedimento consiste em expor as bactérias a uma escala de concentrações de 11,25%, 22,5%, 45% e 90% da amostra e nos tempos de 0, 5, 15 e 30 min foi medida a redução da intensidade da luz emitida pelas bactérias em relação ao padrão. Para a leitura da luminescência, foi usado um fotômetro da marca Microtox M500 e os dados obtidos foram registrados e processados por meio do software Microtox Omni, que está fundamentado em uma curva de regressão linear obtida a partir da razão entre a luz perdida e a luz remanescente e das concentrações de amostras analisadas. Os resultados são expressos na forma de concentração efetiva de 50% da amostra (CE_{50}), que

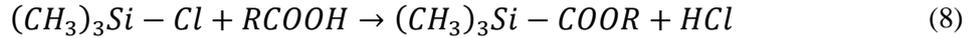
corresponde a uma estimativa da concentração da substância tóxica que causa 50% da redução de luz emitida pelo organismo teste *Vibrio fischeri*, após a exposição do organismo à amostra (BÁEZ *et al.*, 2004). A CE₅₀ pode ser expressa em mg/L quando a concentração das amostras for conhecida, e em porcentagem (%) quando a concentração das amostras for desconhecida (KNIE e LOPES, 2004)

4.3.3. Identificação dos intermediários

A identificação dos intermediários foi realizada após a ozonização da solução de VR 239 por 12 min e 20 min de reação e no efluente do sistema MBBR nos regimes 5, 6 e 7 por meio de um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de massa seletivo (GC/MS) e de um espectrômetro de massas de alta resolução.

Para a análise no CG/MS, 30 mL de amostra foi acidificada com HCl em pH 2 e adicionado sulfato de sódio anidro até a saturação. Em seguida, a amostra foi extraída com 5 mL de diclorometano por 3 vezes. Após a extração, as amostras foram secas utilizando nitrogênio e realizada a derivatização com 100 µL de N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA) por 10 minutos em banho-maria a 60°C. Posteriormente, foi injetado 5 µL de amostra em modo Splitless no GC/MS (Agilent, modelo 7890B/5977A), utilizando coluna HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm, Agilent). O GC/MS foi operado com temperatura inicial de 100°C por 2 min e em seguida a temperatura aumentou para 310°C a uma taxa de 10°C por min. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1,6 mL/min e a pressão da coluna foi de 7,9 psi.

Na análise por cromatografia gasosa, é necessária a derivatização de amostras quando estas não são gases, voláteis ou termicamente estáveis. Desta forma, a derivatização da amostra proporciona a transformação da substância de interesse em um derivado com características adequadas para serem analisados (MAJORS, 2013). A reação de sililação, apresentada na Equação 8, é o método mais comum utilizado para derivatizar compostos orgânicos com baixa polaridade, sendo utilizado reagentes com o grupo funcional alquilsilil ou trimetilsilil para aumentar a estabilidade hidrolítica do derivado formado, melhorar as características de separação e aumentar a sensibilidade de detecção (COLLINS *et al.*, 1997). A reação de sililação pode acontecer de forma instantânea em temperatura ambiente e pode ser acelerada pelo aquecimento ou uso de catalizadores (MAJORS, 2013).



Para análise no espectrômetro de massas de alta resolução, as amostras foram diluídas em uma solução contendo 0,1% de hidróxido de amônio (NH₄OH) para trabalhar no modo negativo de aquisição de íons. As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas de alta resolução em uma faixa de $m/z = 50-800$ Da, utilizando uma resolução de 140.000 e um sistema *Thermo Scientific Q Exactive Plus Orbitrap* equipado com uma fonte externa de *electrospray* (ESI). A alta resolução em massas permite atribuir a fórmula molecular e consequentemente a identificação de substâncias polares pouco voláteis pertencentes às classes de oxigenados e nitrogenados. A aquisição e processamento de dados foram realizados pelo software Xcalibur.

4.3.4 Extração de DNA e sequenciamento do gene 16S rRNA

A investigação da estrutura e diversidade das comunidades microbianas foi realizada em 7 amostras dos MBBRs nas Fases 1 e 2. As amostras analisadas estão apresentadas na Tabela 19.

Tabela 19 – Amostras coletadas para análise da diversidade microbiana nas Fases 1 e 2 dos MBBRs

Amostras	Regime	Fase	Condição de alimentação do reator
MBBR	5	1	Meio sintético + VR 239 ozonizado
MBBR ₁	6	2	Meio sintético + VR 239 ozonizado por 12 min
MBBR2	6	2	Meio sintético + VR 239 ozonizado por 12 min
MBBR1	7	2	Meio sintético + VR 239 ozonizado por 20 min
MBBR2	7	2	Meio sintético + VR 239 ozonizado por 20 min
MBBR1	8	2	Meio sintético
MBBR2	8	2	Meio sintético

A extração do DNA genômico das amostras provenientes dos reatores foi realizada usando um kit de extração de DNA comercial (PowerSoil DNA Isolation Kit,

MoBio, Carlsbad, CA, EUA). Após a extração, as amostras de DNA foram enviadas para sequenciamento do gene 16S rRNA na plataforma Illumina MiSeq, no Laboratório Nacional de Argonne (EUA).

Os dados de sequências foram processados usando o “RDP pipeline” (Ribosomal Database Project v.11). As sequências menores que 150 pb, quimeras e barcodes, foram removidos da análise. As Unidades Taxonômicas Operacionais (UTOs) foram geradas e definidas levando em consideração o critério de 3% de divergência, a partir de *contigs* montados. Por meio do classificador RDP, uma sequência de cada UTO foi classificada taxonomicamente.

A análise dos dados foi realizada por meio do software PAST (*Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis*), a partir do qual foram obtidos os índices de diversidade, abundância e realizada a análise multivariada por escalonamento multidimensional não métrico (nMDS), com stress de 0,05496.

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças significativas entre as remoções e concentrações dos parâmetros obtidos, em triplicata, nos diferentes tempos de ozonização do VR 239 e nos diferentes regimes operacionais do MBBR foram avaliadas por meio da análise de variância de um fator (ANOVA) e teste de TUKEY, com nível de significância de 0,05. As análises foram realizada no software OriginPro 8.5.

A relação entre a diversidade microbiana, as remoções e concentrações de matéria orgânica e inorgânica e o tempo de ozonização foi realizada por meio de análise multivariada por escalonamento multidimensional não métrico (nMDS), com stress de 0,05496. O nMDS e os índices de diversidade e abundância foram realizados no software PAST (*Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis*).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. OZONIZAÇÃO

5.1.1. Remoção de Cor

O processo de ozonização da solução de corante VR 239 foi realizado em pH 3, 7 e 10, com concentração de VR 239 de 50 mg/L e concentração de ozônio na entrada do reator de 40 mgO₃/L. Posteriormente, o processo de ozonização foi realizado em pH 7, mantendo a concentração de VR 239 em 50 mg/L e reduzindo a concentração de ozônio na entrada do reator para 20 mgO₃/L. As massas de ozônio consumidas nos testes foram determinadas.

Os ensaios de ozonização realizados em diferentes pH são apresentados na Figura 35. Os resultados mostram uma eficiência de remoção de cor acima de 85% após 2 min de ozonização em pH 7 e 10. No entanto, em pH 3, a remoção de cor foi de 70%. Este resultado já era esperado, uma vez que em pH básico o ozônio molecular se decompõe em radicais hidroxila (HO[•]), que é menos seletivo e possui maior potencial de oxidação que o ozônio molecular. Portanto, nessas condições, a remoção de cor se torna mais rápida. Esses resultados estão de acordo com os observados pela literatura (RICE, 1996; ZHANG *et al.*, 2007; XIAN-BING *et al.*, 2014; ZHENG *et al.*, 2016; SHEN *et al.*, 2017). Contudo, Zhang *et al.* (2015) obtiveram maior eficiência de remoção de cor à medida que o pH diminuiu na ozonização do corante vermelho reativo 195, o que indica que a oxidação do corante vermelho reativo 195 e consequentemente a remoção de cor foi obtida por ozônio molecular em vez de radicais hidroxila.

Os resultados ainda revelaram que houve uma menor demanda de ozônio, igual a 48,6 mg/L, quando a ozonização foi realizada em pH igual a 7 em comparação com o pH 10 (Figura 36). Portanto, para atender a condição ótima de pH do reator biológico (próximo à neutralidade) e minimizar a demanda de ozônio para a remoção de cor da solução de corante VR 239 (50 mg/L), a concentração de ozônio foi reduzida para 20 mgO₃/L e o pH foi mantido em 7.

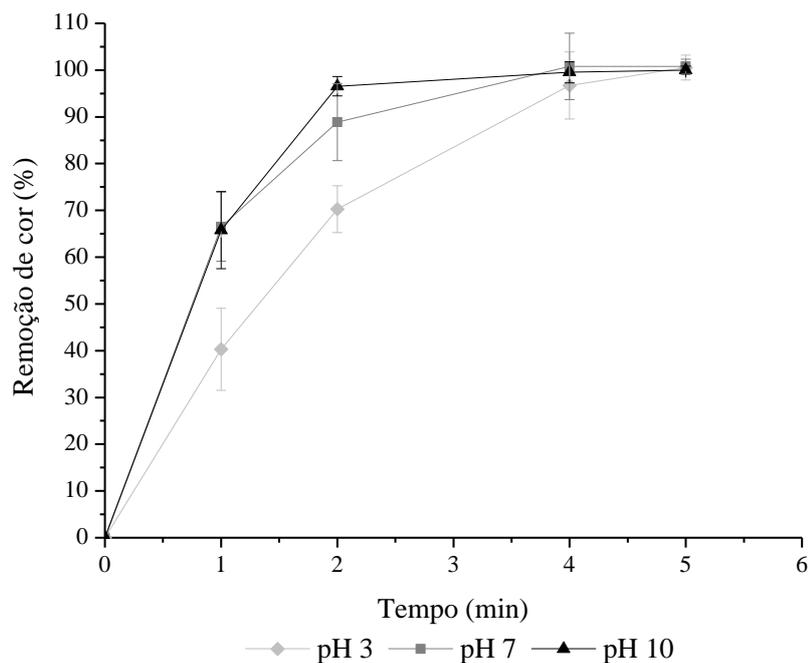


Figura 35 – Remoção de cor por ozonização para os valores de pH 3, 7 e 10, concentração inicial de VR 239 de 50 mg/L e concentração de ozônio de 40 mgO₃/L na entrada do reator em função do tempo.

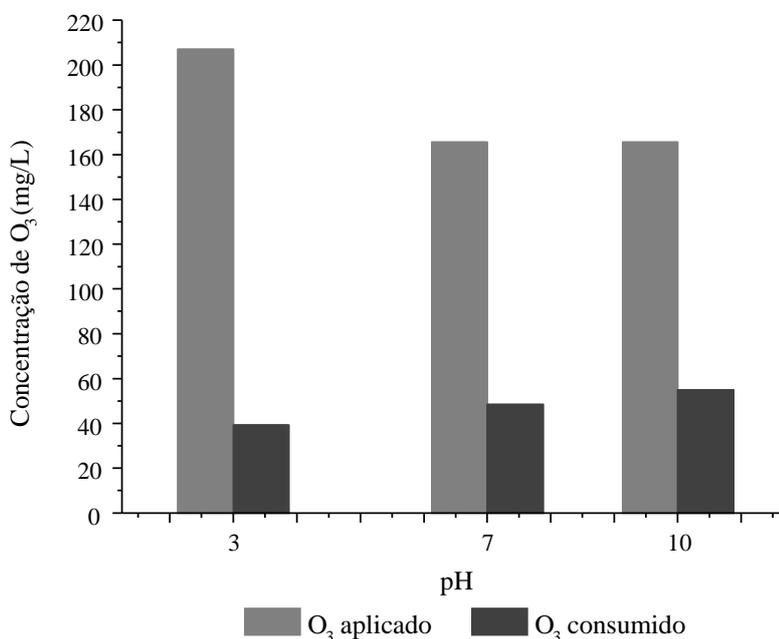


Figura 36 – Dose e consumo de O₃ em pH 3, 7 e 10 após 4 min de ozonização. Concentração inicial de [VR 239]₀ de 50 mg/L e de ozônio de 40 mgO₃/L na entrada do reator.

Na Figura 37, está apresentada a remoção de cor e o pH durante a ozonização da solução de VR 239 (50 mg/L) em pH 7 tamponado e 20 mgO₃/L de ozônio na entrada

do reator. Pode ser verificado que houve eficiência de 100% na remoção de cor, o que corrobora com outros trabalhos da literatura (GÜNES *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2015; CASTRO *et al.*, 2016; SHEN *et al.*, 2017). Observou-se também que houve um aumento no tempo de reação de 4 min para 12 min para se atingir remoção completa de cor. Esse resultado é atribuído à redução da concentração de ozônio aplicada de 40 mg/L para 20 mg/L e também ao fato do meio tamponado conter íons, os quais podem atuar na decomposição do ozônio. O pH da solução tamponada de VR 239 se manteve constante em torno de 7,0.

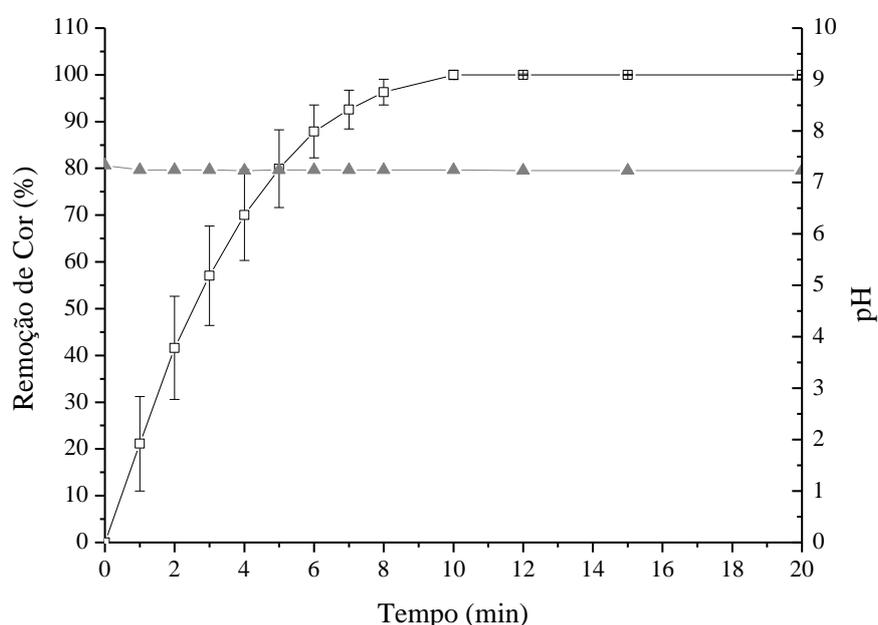


Figura 37– Remoção de cor (□) e pH (▲) em função do tempo de ozonização. [VR 239]₀ =50 mg/L e [O₃] = 20 mg/L.

Com relação à cinética de reação de descoloração da solução de corante VR 239 pela ozonização, na Tabela 19 estão apresentados os coeficientes de correlação (r^2) e as constantes de reação (k) obtidas nos ensaios realizados nas seguintes condições: concentração de VR 239 de 50 mg/L; concentração de ozônio de 20 mg/L e 40 mg/L; e valores de pH de 3, 7 e 10.

De acordo com Von Sonntag & Von Gunten (2012) e Langlais *et al.* (1991), a reação de remoção de cor é de primeira ordem. Quando o ozônio está em elevada concentração, a reação cinética é de pseudo-primeira ordem e a reação é de segunda ordem global. Na Tabela 20, pode ser observado que em pH 7, o coeficiente de

correlação foi maior ($r^2=0,9990$) para a cinética de pseudo-primeira ordem quando aplicado 40 mg/L de ozônio na reação. Quando aplicada a concentração de ozônio de 20 mg/L, a melhor correlação foi para cinética de primeira ordem, com r^2 de 0,9629. Estes resultados corroboram com a literatura, que considera que quando o ozônio está presente em altas concentrações, a cinética é de pseudo-primeira ordem. Portanto, quando a concentração de ozônio aplicada foi de 20 mgO₃/L, a cinética da remoção do VR 239 por ozonização é de primeira ordem.

Tizaoui & Grima (2011) assumiram um modelo cinético de segunda ordem para a ozonização do corante azo laranja reativo 16. Esta ordem cinética foi adotada devido ao fato da reação do ozônio com compostos orgânicos e corantes ocorrer em regime cinético rápido e confirmada pela ausência de ozônio dissolvido nos experimentos realizados.

Tabela 20 – Constantes cinéticas (k) e coeficientes de correlação (R²) para a reação de ozonização do VR 239 na concentração de 50 mg/L

pH	Concentração de O ₃ (mg/L)	Cinética de Primeira ordem		Cinética de Pseudo-primeira ordem	
		k (min ⁻¹)	r ²	k (min ⁻¹)	r ²
3	40	0,7884	0,9584	0,7912	0,9594
	20	0,3639	0,9629	0,3625	0,9620
7	40	1,0282	0,9936	1,1235	0,9990
	40	1,3961	0,9720	1,4256	0,9707

O espectro de absorção do corante Vermelho Reativo 239 (VR 239), realizado em diferentes tempos de ozonização, é apresentado na Figura 38. Pode ser observado o valor de absorbância máxima na região UV em 290 nm e na região visível em 542 nm. De acordo com Khan *et al.* (2015), a absorbância na faixa entre 250 nm e 290 nm pode ser relacionada à presença de anéis aromáticos e o pico em 290 nm corresponde à presença de anéis naftaleno. Já o pico de absorbância em 542 nm está relacionado ao grupo cromóforo do corante. Pode ser observado que a ozonização proporciona a diminuição da absorbância em todos os comprimentos de onda, o que indica a degradação do grupo cromóforo e a oxidação do grupo naftaleno.

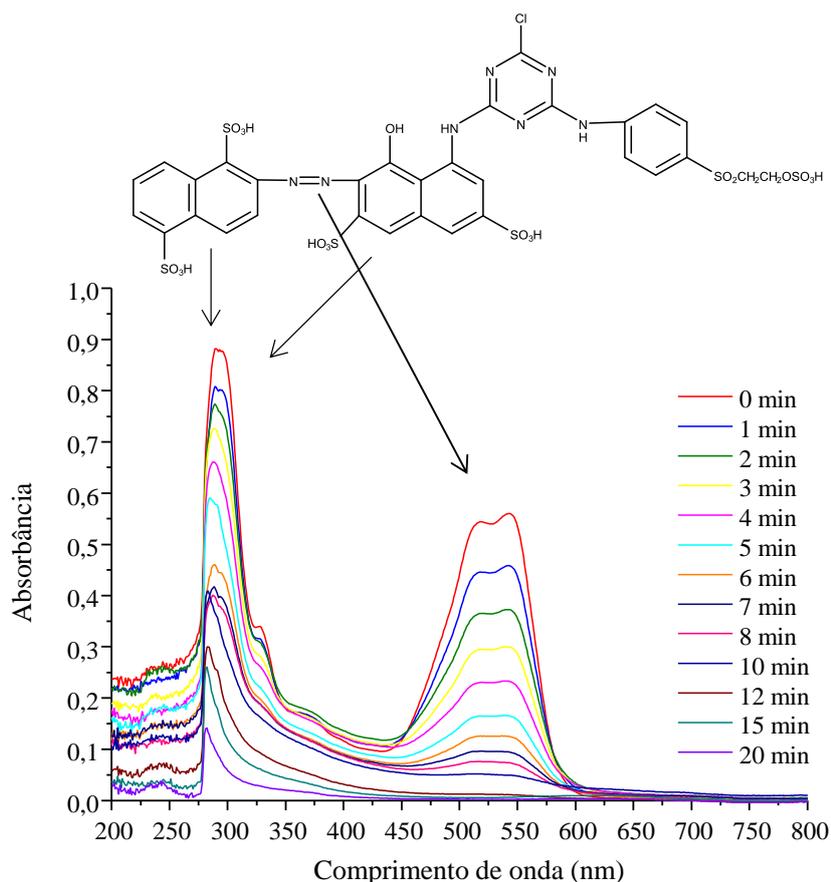


Figura 38– Espectro de absorção do VR 239 para diferentes tempos de ozonização, pH 7, concentração inicial de VR 239 de 50 mg/L e concentração de ozônio de 20 mg/L.

5.1.2. Remoção de Carbono e Nitrogênio

As remoções de DQO e COT em diferentes tempos de ozonização estão apresentadas na Figura 39. Pode ser observado que, apesar da total remoção de cor, o processo não foi eficiente para a remoção de DQO e COT, cujos percentuais abatidos foram de 62% e 35%, respectivamente, para o tempo de reação de 20 min. Essas remoções apresentam diferenças significativas entre os tempos iniciais de 0 a 6 min e tempos finais de 12 a 20 min de reação, com p-valores de 0,0003 e 0,00008, respectivamente. De acordo com Zheng *et al.* (2016), a baixa remoção de DQO e COT é devido à geração de produtos intermediários mais estáveis e oxidados. Na Figura 40 é apresentada a relação entre a concentração de VR 239 e o O₃ consumido. Observa-se que após a remoção total de cor da solução de VR 239 em 10 min de reação, há um consumo crescente de O₃, o que indica a provável geração de produtos intermediários e, conseqüentemente incompleta mineralização do VR 239. Nesse contexto, a ozonização é capaz de decompor a estrutura do corante e realizar a quebra da ligação azo -N=N-,

mas não mineraliza completamente os compostos orgânicos a CO_2 e H_2O nas condições aplicadas.

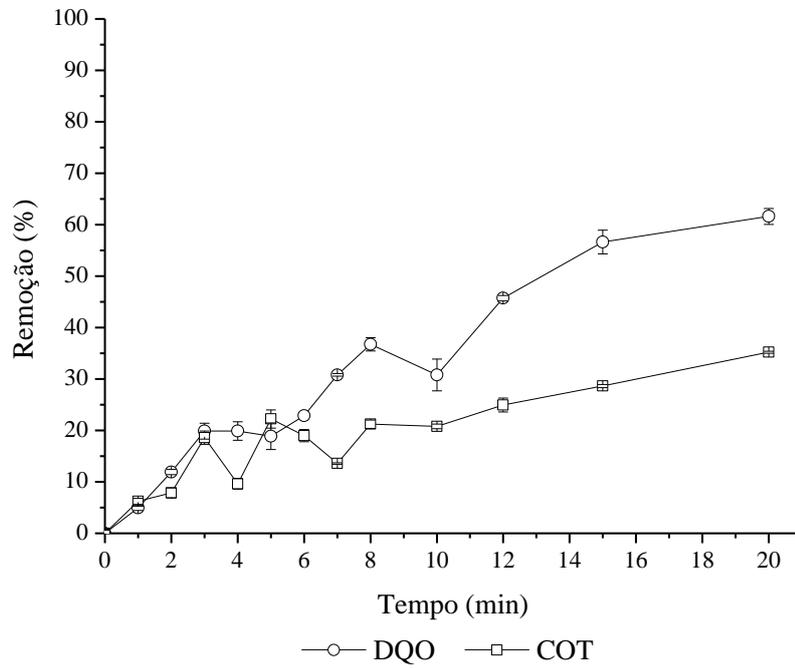


Figura 39 – Remoção de DQO e COT ao longo da ozonização em pH 7 tamponado, $[\text{VR } 239]_0 = 50 \text{ mg/L}$ e introdução no reator de $20 \text{ mgO}_3/\text{L}$.

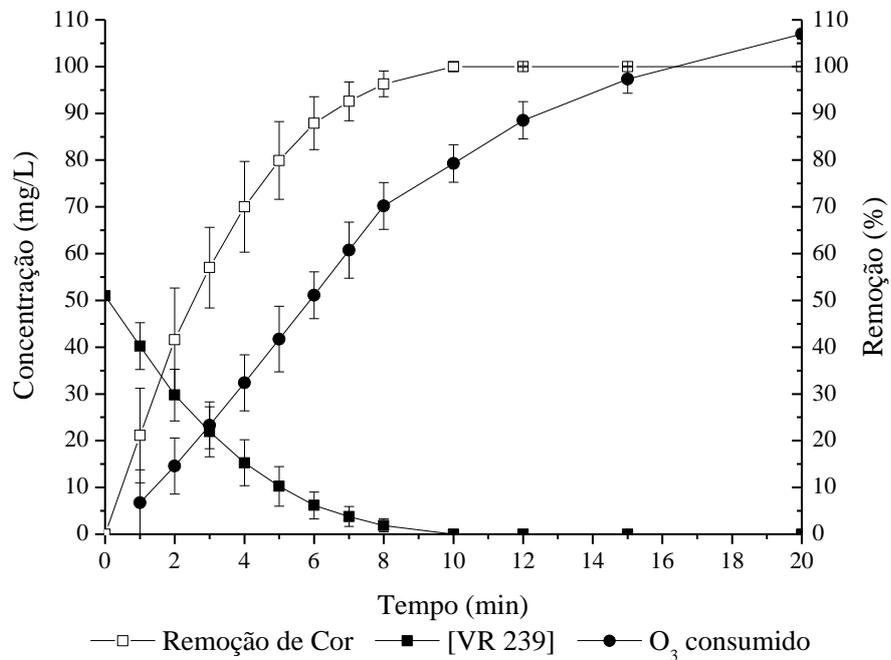


Figura 40 – Relação entre a concentração de VR 239 e O_3 consumido em função do tempo de ozonização. $[\text{VR } 239]_0$ de 50 mg/L , concentração de ozônio de $20 \text{ mgO}_3/\text{L}$ e pH constante em 7 (meio tamponado).

Os dados apresentados na Tabela 21 indicam uma tendência ao decréscimo da razão DQO/COT com o aumento do tempo de ozonização. No entanto, nos tempos de 2 min a 10 min de ozonização há uma pequena variação da razão DQO/COT. Conforme apontado em trabalhos prévios (ALVARES *et al.*, 2001), a redução da razão DQO/COT indica que durante a oxidação parcial do corante VR 239, houve a incorporação de oxigênio nos produtos de ozonização.

Tabela 21 – Razão DQO/COT para diferentes tempos de ozonização. [VR 239]₀ de 50 mg/L e concentração inicial de 20 mgO₃/L e pH 7 (tamponado).

Tempo de reação (min)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	15	20
Razão DQO/COT	2,96	3	2,83	2,92	2,63	3,09	2,82	2,37	2,38	2,59	2,14	1,8	1,75

As concentrações de nitrogênio total, amônio e nitrato em diferentes tempos de ozonização para a concentração de 50 mg/L de VR 239 estão apresentadas na Figura 41. A partir dos resultados obtidos, pode ser observado que não houve a formação de íons nitrito. Entretanto, houve remoção de 26% e 21% de nitrogênio total e amônio, respectivamente, e um aumento na concentração de nitrato de 0,53 mg/L em 20 min de ozonização, o que indica a oxidação de amônio em nitrato. Também é possível verificar que a soma das concentrações de amônio e nitrato é inferior à concentração de nitrogênio total. As concentrações de amônio entre os tempos iniciais de 1 a 5 minutos para os tempos finais de 12, 15 e 20 minutos também foram estatisticamente diferentes (p-valor < 0,001), o que comprova a remoção de 21% de amônio. A conversão de amônio em nitrato via nitrificação também pode ser confirmada pela diferença significativa entre as concentrações de nitrato nos tempos de 0 a 6 min e 15 e 20 min de reação, com p-valor < 0,001. A remoção de nitrogênio total durante a ozonização sugere a formação de nitrogênio gasoso e de acordo com Karkmaz *et al.* (2004), esta formação é proporcionada pela reação do radical HO[•] com a ligação azo (-N=N-), presente na molécula do corante VR 239.

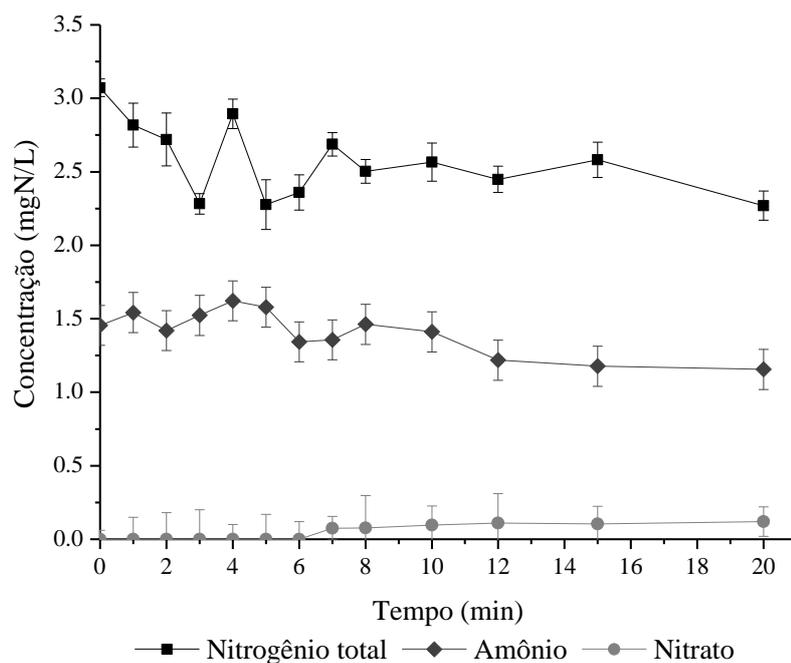


Figura 41 – Concentração de nitrogênio total, amônia e nitrato em função do tempo de ozonização. [VR 239]₀ de 50 mg/L e concentração de 20 mgO₃/L e pH 7 (tamponado).

5.1.3. Toxicidade

A toxicidade do corante VR 239 foi avaliada ao longo do processo de ozonização utilizando-se a bactéria *Vibrio fischeri*, proveniente de empresas comerciais Biolux e Ambriex. Os testes foram realizados para as concentrações de 50 mgVR 239/L, 20 mgO₃/L em pH 7.

Pode ser observado na Tabela 22 que o corante VR 239 não apresentou toxicidade após 4 min de ozonização, observada por meio da redução da luminescência emitida em relação à amostra padrão, quando utilizada a bactéria *Vibrio fisheri* proveniente da Ambriex. Resultado semelhante foi obtido por Khadhraoui *et al.* (2009), que observou ausência de toxicidade após 5 min de ozonização do corante vermelho Congo. Também pode ser verificado que após 1 a 3 min de ozonização, a toxicidade do VR 239 foi maior do que no início da reação, o que sugere a formação de produtos intermediários mais tóxicos que o corante.

Tabela 22 – Toxicidade do corante VR 239 em diferentes tempos de ozonização em pH 7 (tamponado), [VR 239]₀ = 50 mg/L, [O₃]₀ = 20 mg/L e uso de *Vibrio fischeri* proveniente da Biolux e Ambriex.

Tempo de reação (min)	CE ₅₀ – Ambriex (%)	CE ₅₀ – Biolux (%)
0	88	242
1	57	NO
2	60	203
3	66	Hormesis
4	100	131
5	100	NO
6	100	Hormesis
7	100	NO
8	100	Hormesis
10	100	Hormesis
12	100	NO
15	100	NO
20	100	Hormesis

NO: Não observada

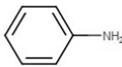
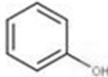
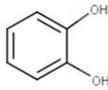
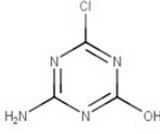
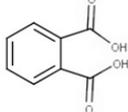
Para a bactéria *Vibrio fischeri* proveniente da Biolux, foi verificado o efeito de hormesis em determinados tempos de ozonização. De acordo com Fernández-Piñas *et al.* (2014) e Ma *et al.* (2014), a hormesis é um fenômeno de resposta caracterizado pelo estímulo, maior intensidade de luz, em concentrações baixas e inibição em concentrações elevadas do agente tóxico, nesse caso o corante VR 239. Assim, os resultados da bactéria *Vibrio fischeri* proveniente da Biolux serão desconsiderados devido à incerteza no resultado em função do efeito hormesis.

5.1.4. Identificação dos Produtos Intermediários da Ozonização

Inicialmente, foi realizada a análise por CG/MS da solução de VR 239 na concentração de 50 mg/L, entretanto, não foi possível identificar a molécula do VR 239 devido à sua elevada massa molar de 1.026,37 g/mol e a sua baixa volatilidade, mesmo após a derivatização da amostra de corante.

Os produtos intermediários da ozonização, realizada nas concentrações de 50 mg/L de VR 239, 20 mg/L de ozônio, pH 7 tamponado e tempo de reação de 12 e 20 min, estão apresentados na Tabela 23. Todos os compostos presentes na Tabela 23 foram identificados em trabalhos realizados por outros autores (TURHAN e OZTURKCAN, 2013; XIAN-BING *et al.*, 2014; SONG *et al.*, 2007; SHEN *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2015).

Tabela 23 – Produtos intermediários identificados após ozonização do corante VR 239 para [VR 239]₀ = 50 mg/L, 20 mg/L de ozônio, pH 7 tamponado, 12 min e 20 min de reação.

Composto	Fórmula molecular	Massa molar	Número CAS	Estrutura química	Método de identificação
Anilina	C ₆ H ₇ N	93,129	62-53-3		CG/MS
Fenol	C ₆ H ₆ O	94,113	108-95-2		CG/MS
Catecol	C ₆ H ₆ O ₂	110,112	120-80-9		CG/MS
4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol	C ₃ H ₂ ClN ₄ O	144,991	38862-29-2		ORBITRAP
Ácido ftálico	C ₈ H ₆ O ₄	166,132	88-99-3		CG/MS

Pode ser verificado que alguns compostos, como o ácido ftálico, catecol e fenol estão presentes no final dos mecanismos propostos por Zhang *et al.* (2015) e Shen *et al.* (2017), o que indica que após 12 e 20 min de ozonização, houve um elevado grau de degradação dos anéis naftalênicos e sulfonato aromático, bem como a quebra da ligação azo do corante VR 239. No entanto, não houve elevada degradação da estrutura anel triazínico semelhante à triazina. A dificuldade de abertura do anel triazínico por processo oxidativos também é reportada por Horikoshi & Hidaka (2003) e por Yixin *et al.* (2014), que avaliaram a degradação da atrazina por ozonização e por fotocatalise com TiO₂.

Um mecanismo com duas vias de degradação do VR 239, apresentado na Figura 42, é proposto com base nos produtos de ozonização identificados nessa pesquisa (Tabela 23) e nos mecanismos propostos por Shen *et al.* (2017) e Zhang *et al.* (2015).

Como a eficiência na remoção de cor foi de 100% em 12 min de ozonização, a ligação –N=N–foi quebrada ao longo do processo de ozonização. A redução do COT confirma que parte do corante foi mineralizada.

A degradação do VR 239 por ozônio ocorre por meio da quebra da ligação –N=N– e –C–N– em ambas as vias de degradação. A quebra da ligação –N=N– gerou os compostos naftalênicos, que foram oxidados a ácido ftálico, enquanto que a quebra da ligação –C–N– gerou os compostos triazínico e sulfonato aromático. A triazina foi

oxidada a 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol e o sulfonato aromático foi oxidado à fenol e catecol, na primeira via de degradação. Na segunda via de degradação, o sulfonato aromático foi oxidado a anilina e posteriormente a fenol e catecol.

Deve ser ressaltado que o principal objetivo do processo de ozonização foi a remoção de cor, atingida por meio da quebra da ligação azo do corante VR 239.

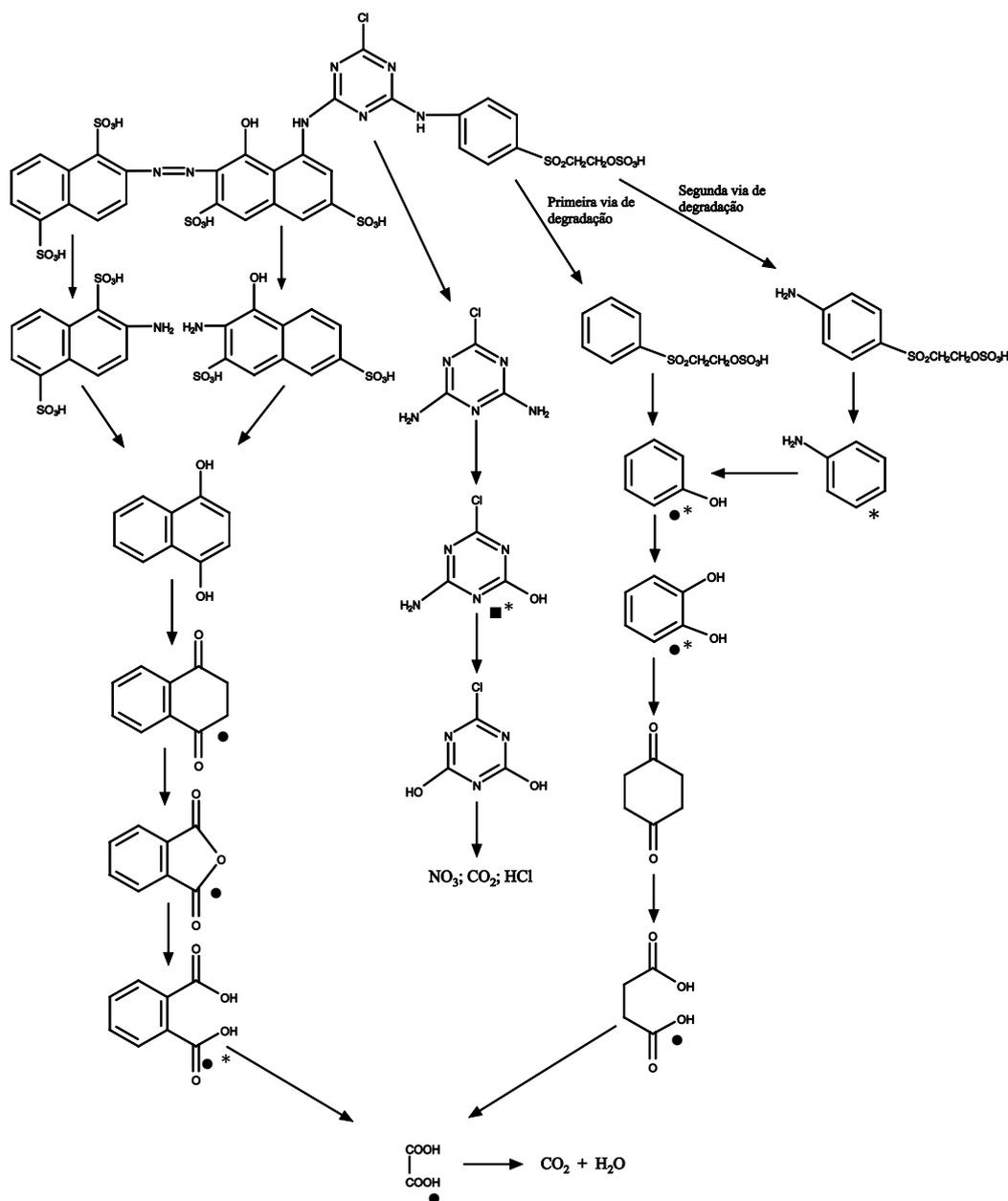


Figura 42 – Mecanismo proposto para a degradação do VR 239 por ozônio. Compostos identificados por Zhang et al. (2015) (■), Shen et al. (2017) (●) e pelo autor (*).

5.2. REATOR DE LEITO MÓVEL COM BIOFILME – FASE 1

Durante a Fase 1, o reator de leito móvel com biofilme (MBBR) teve inicialmente um período de aclimação de 160 dias, durante o qual o reator foi

alimentado somente com meio sintético desprovido de corante. Este período (regime 1) foi destinado à adaptação do biofilme ao meio sintético até se obter altas remoções de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal. Para a avaliação e comparação com os regimes subsequentes, o período considerado para o Regime 1 foi de 75 a 136 dias, período no qual foi obtida remoção acima de 80% tanto para matéria orgânica como para nitrogênio amoniacal.

Após o período de aclimatação dos micro-organismos ao meio sintético, o MBBR foi alimentado com efluente sintético (meio sintético misturado à solução de corante não ozonizada) (regime 2) para avaliar a remoção de cor pelo processo biológico aeróbio. No regime 3, o MBBR foi alimentado com efluente sintético ozonizado (meio sintético misturado à solução de VR 239 ozonizada por 12 min). Em função dos resultados e algumas perturbações (particularmente em relação à remoção de nitrogênio amoniacal), no regime 4 o reator passou a ser alimentado com o meio sintético. No regime 5, o reator foi alimentado novamente com efluente sintético contendo solução de VR 239 ozonizada de modo a confirmar os resultados obtidos no regime 3. Os regimes operacionais durante a Fase 1 estão apresentados na Tabela 24.

Tabela 24 – Condições operacionais do MBBR ao longo dos cinco regimes da Fase 1. O TRH foi mantido em 6 h.

Regime	Alimentação MBBR	Tempo de operação (dias)	Concentração inicial de corante (mg/L)	Tempo de ozonização do corante (min)
1	Meio sintético	136	0	0
2	Efluente sintético não ozonizado	50	50	0
3	Efluente sintético ozonizado	60	50	12
4	Meio sintético	20	0	0
5	Efluente sintético ozonizado	90	50	12

5.2.1. Remoção de Matéria Orgânica

A remoção de matéria orgânica, quantificada em termos de DQO e COD, no decorrer da operação do reator com meio sintético, efluente sintético e efluente sintético ozonizado, está apresentada nas Figuras 43 e 44.

Pode ser observado que, no regime 1, quando o reator foi alimentado com meio sintético desprovido de corante, o MBBR apresentou eficiência de remoção de DQO e

COD em torno de 90%. No regime 2, em que o corante VR 239 foi adicionado ao meio sintético e no regime 3, no qual o reator foi alimentado com o efluente sintético ozonizado, observa-se que houve uma pequena redução na remoção de DQO e de COD, atingindo remoção média de 80% para DQO e de 70% para COD. Tal diminuição está ligada a um possível efeito adverso imposto pelo corante (regime 2) ou pelos subprodutos da ozonização (regime 3) aos micro-organismos do biofilme. Também foi observado que a cor não foi removida pelo MBBR no regime 2, resultados semelhantes foram relatados em trabalhos anteriores no tratamento biológico de efluentes têxteis (PEARCE *et al.*, 2003). Diversos estudos focados na degradação de corantes azo por processo biológico obtiveram remoções de DQO na faixa de 60% a 90% (KOUAIE *et al.*, 2011; SPAGNI *et al.*, 2010; CIRIK *et al.*, 2013; NAIMABADI *et al.*, 2009; DA SILVA *et al.*, 2012; KARATAS *et al.*, 2010). Lu *et al.* (2009) obtiveram 90% de remoção de DQO para um efluente contendo corante vermelho reativo brilhante X-3B na concentração de 50 mg/L. Esses autores ozonizaram o efluente por 120 min ($[O_3] = 34$ mg/L, pH = 11 e T = 25°C), o qual seguiu para um reator aeróbio de fluxo ascendente com carga hidráulica volumétrica de 4,8 m³/m³.dia, mantido a 25°C. Deve-se ressaltar que no trabalho de Lu *et al.* (2009), a ozonização foi realizada aplicando uma concentração próxima a usada nesse trabalho embora por um tempo 10 vezes maior. A redução na eficiência de remoção da DQO e COD quando o reator foi alimentado com efluente sintético ozonizado pode ser devido à toxicidade do corante VR 239 e seus subprodutos gerados na ozonização aos micro-organismos presentes no MBBR, como estruturas complexas com grupamento -NH- (SOLIS *et al.*, 2012). No entanto, esse impacto foi observado no regime 2 e diminuiu com o tempo de operação no regime 3, chegando a uma remoção de DQO de 85% nessa última condição operacional. O aumento da eficiência de remoção de DQO ao longo do regime 3 sugere que o efluente sintético ozonizado é menos tóxico que o não ozonizado, resultado consoante com a ausência de toxicidade do VR 239 após 4 min de ozonização. Além disso, pode ter ocorrido uma adaptação gradual das bactérias heterotróficas ao efluente sintético ozonizado.

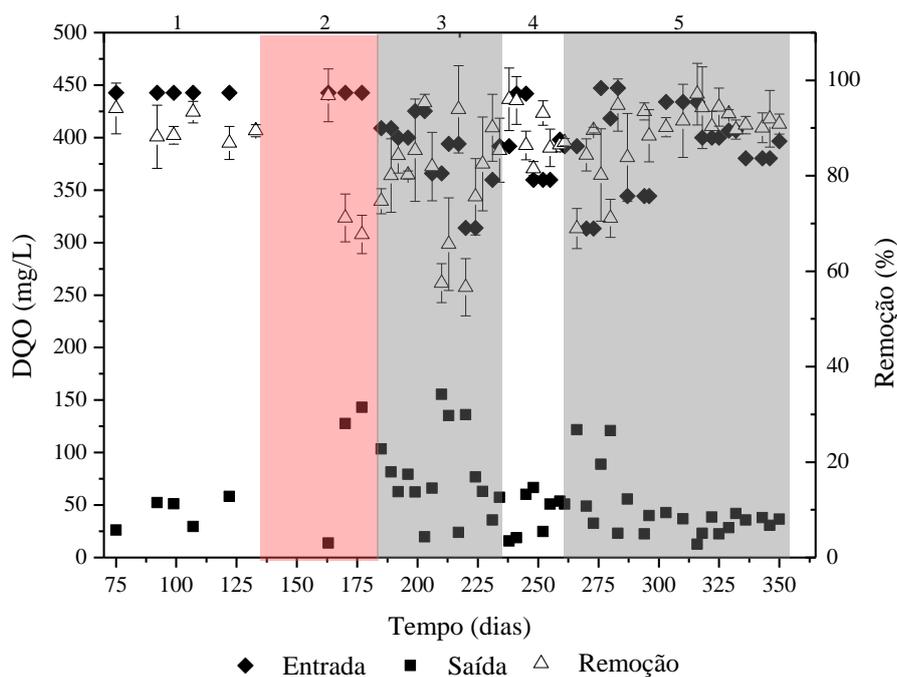


Figura 43 – DQO na entrada e saída do MBBR durante os 5 regimes de operação alimentados com meio sintético sem corante (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5). Os números indicados na parte superior da Figura indicam os regimes de operação.

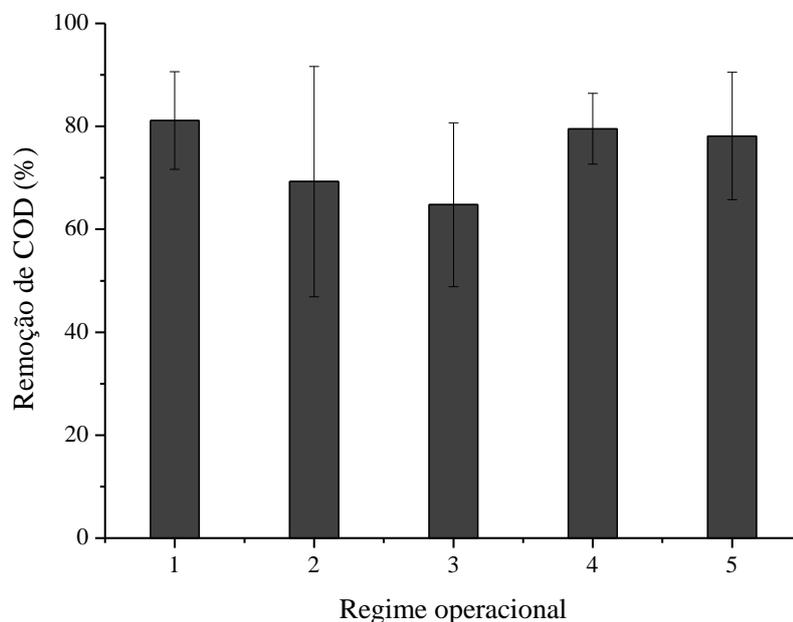


Figura 44 – Remoção de COD obtidos no MBBR para os 5 regimes de operação: meio sintético sem corante (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5).

Para confirmar que o corante não ozonizado (regime 2) ou ainda os subprodutos da ozonização (regime 3) estavam causando algum efeito adverso à microbiota do reator, o sistema MBBR foi novamente alimentado com meio sintético desprovido de corante no regime 4. De fato, a remoção de DQO e COD voltou a subir para 90% e 80%, respectivamente, tal como observado no regime 1. No regime 5, o MBBR foi submetido às mesmas condições do regime 3, isto é, alimentação com efluente sintético contendo os subprodutos da ozonização. Pode-se observar um aumento gradual na remoção de DQO, chegando a 90%, indicando que os micro-organismos presentes no MBBR se adaptaram ao efluente sintético previamente ozonizado para remoção de cor. Resultados semelhantes foram obtidos no que tange à remoção de COD. O regime 5 foi operado por 90 dias com o objetivo de proporcionar maior tempo para a adaptação dos micro-organismos. Em suma, os resultados evidenciam boa capacidade de adaptação da biomassa heterotrófica aos componentes do efluente ozonizado. Estudos que associaram a ozonização ao processo biológico no tratamento de corantes azo reportam que a eficiência de remoção de DQO variou em uma ampla faixa, de 60% a 94% (MONTAÑO *et al.*, 2008; LU *et al.*, 2009; PUNZI *et al.*, 2015; CASTRO *et al.*, 2016). Na análise estatística dos dados de remoção de DQO e COD, apresentados nas Figuras 43 e 44, foram observadas diferenças estatisticamente significativas (p -valor $< 0,00001$) entre os regimes 1 e 2, 1 e 3, 3 e 4, 2 e 5 e 3 e 5, indicando que houve um aumento na remoção de DQO do regime 3 para o regime 5 e, portanto, a adaptação das bactérias heterotróficas às águas residuais ozonizadas. No entanto, os resultados de COD não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os regimes de operação.

5.2.2. Remoção de Nitrogênio

As concentrações de nitrogênio nas formas de amônio, nitrito e nitrato durante a operação do MBBR com meio sintético, efluente sintético e efluente sintético ozonizado estão mostradas nas Figuras 45 e 46.

Observa-se que o MBBR apresentou eficiência média de remoção de amônio de 80% no regime 1, durante o qual foi alimentado com meio sintético desprovido de corante. Na Figura 46 pode ser observado que 62% e 11% do amônio afluente foi convertido em nitrato e nitrito, respectivamente. Desse modo, o produto principal da nitrificação foi o nitrato, evidenciando nitrificação completa. Além disso, observou-se perda de nitrogênio solúvel no sistema (4%), o que pode estar ligado ao seu uso para

crescimento celular, uma vez que remoção de nitrogênio via desnitrificação é pouco provável de ter ocorrido em função das condições operacionais do reator.

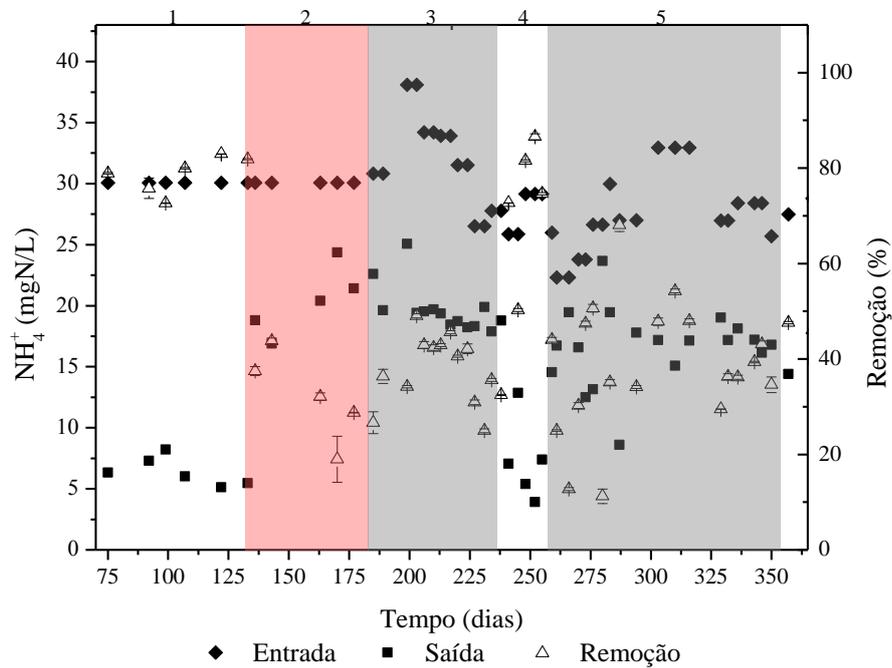


Figura 45 – Concentração de nitrogênio amoniacal na entrada e saída do MBBR durante os 5 regimes de operação alimentados com meio sintético (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5). Os números indicados na parte superior da Figura indicam os regimes de operação.

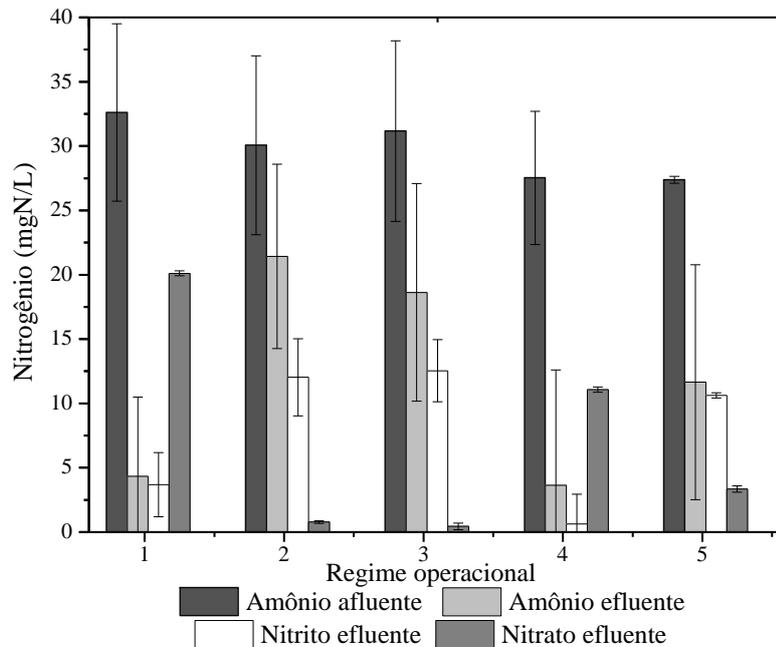


Figura 46 – Concentração de nitrogênio na entrada e na saída do sistema MBBR, nas formas de amônia, nitrito e nitrato para os 5 regimes de operação alimentados com meio sintético (regimes 1 e 4), efluente sintético (regime 2) e efluente sintético ozonizado (regimes 3 e 5).

No entanto, no regime 2, no qual o MBBR foi alimentado com efluente sintético contendo o corante VR 239, houve uma queda drástica da remoção de amônio, possivelmente em função da inibição das bactérias nitrificantes pelo corante. Nessa condição experimental, ocorreu inibição das bactérias oxidadoras de nitrito, de modo que o produto principal da nitrificação tenha sido o nitrito, que correspondeu a 40% do nitrogênio afluente. O nitrato foi detectado em pequena quantidade e representou apenas 3% do nitrogênio na saída do sistema.

Mesmo com a substituição do efluente não ozonizado pelo ozonizado no regime 3, o percentual de remoção de amônio permaneceu baixo, em torno de 30%. Desse modo, ao contrário da remoção de matéria orgânica, a nitrificação foi severamente afetada. Além disso, praticamente todo amônio oxidado foi convertido em nitrito e não em nitrato, da mesma forma que observado no regime 2. Esses resultados indicam uma completa inibição da nitratação. Estes resultados corroboram com aqueles obtidos por Ong *et al.* (2010) e He e Bishop (1994), que observaram uma redução na remoção de amônio em sistema *wetland* e lodos ativados, respectivamente, durante o tratamento de efluente contendo o corante Laranja Ácido 7 nas concentrações de 50 mg/L e 5 mg/L. Estes estudos afirmam que os corantes e os seus produtos de degradação, como as aminas aromáticas, inibem o processo de nitrificação, embora o crescimento das bactérias nitrificantes, tanto as oxidadoras de amônia como de nitrito pode ainda ser mantido. Desta forma, a baixa remoção de amônio obtida no MBBR pode ter sido ocasionada pelo decréscimo da atividade enzimática das bactérias nitrificantes em função da presença dos produtos da ozonização do corante VR 239. De fato, quando o reator passa a ser novamente alimentado com meio sintético desprovido de corante no regime 4, uma rápida recuperação da nitrificação foi observada. Nessa condição de operação, o percentual de remoção de amônio foi de 80% e a maior parte do amônio foi oxidado a nitrato, da mesma forma que no regime 1. Tais resultados evidenciam as vantagens de se trabalhar com processos com biofilmes, que podem fornecer um ambiente mais propício para o reestabelecimento do consórcio nitrificante após períodos de inibição, tal como observado nos regimes 2 e 3 (SINHA e ANNACHHATRE, 2007; ALMSTRAND, 2012).

No regime 5 foram repetidas as condições de alimentação do regime 3 para confirmação dos resultados, isto é, o MBBR voltou a ser alimentado com efluente sintético contendo o corante VR 239 previamente ozonizado. O percentual de remoção de amônio caiu para 40% e grande parte desse (39%) foi convertido em nitrito. Nesse

último regime, no entanto, o percentual de nitrato em relação ao nitrogênio efluente (12%) foi maior em relação ao regime 3, possivelmente devido ao fato de que no regime 4 houve uma recuperação do consórcio nitrificante em função da ausência de corante na alimentação. A análise estatística dos dados de remoção de amônio (Figura 45) apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os regimes 1, 2 e 3, 2 e 5, 3 e 4 e 4 e 5 com p -valor $< 0,00001$. Este resultado sugere que a menor remoção de amônio nos regimes 2, 3 e 5 é devido à inibição de bactérias nitrificantes causada por compostos presentes no VR 239 ozonizado. Spagni *et al.* (2010) obtiveram 85% de remoção de amônio para um efluente contendo corante laranja reativo 16 na concentração de 25 mg/L. Esses autores utilizaram três reatores biológicos em série, sendo um reator anaeróbio seguido de um reator anóxico e um reator aeróbio com TRH total de 3,85 d. Deve ser considerado que Spagni *et al.* (2010) observou picos de nitrito no efluente proveniente da inibição da segunda etapa do processo de nitrificação (nitratação), observada no período em que houve uma diminuição do TRH. Este resultado indica que a degradação do corante azo e a remoção de amônio pode ser obtida em elevados tempos de retenção hidráulica (acima de 2 d), o que repercute na necessidade de grandes volumes de reator, condição muitas vezes não atendida em sistemas de escala real, e/ou baixa capacidade volumétrica de tratamento.

Apesar do regime 5 ter sido operado por 90 dias com o objetivo de proporcionar a adaptação dos micro-organismos nitrificantes, ficou comprovado a dificuldade de se obter altos índices de nitrificação na presença dos produtos da ozonização do corante VR 239. O biofilme presente no sistema MBBR proporciona condições ótimas para uma eficiente atividade enzimática das bactérias nitrificantes devido à formação de micro nichos formados pelas BOA e BON em toda a matriz do biofilme (YOUNG, 2017). No entanto, as bactérias nitrificantes presentes no biofilme foram inibidas por compostos orgânicos gerados na ozonização do VR 239. Tomando como base alguns estudos da literatura (Ong *et al.*, 2010, He e Bishop, 1994, Tomlinson *et al.*, 1966, McCarthy, 1999), é possível que a inibição das bactérias nitrificantes tenha sido causada pela presença de compostos triazínicos contendo cloro, identificados após a ozonização do VR 239 e apresentados na Tabela 22 (item 5.1.4). Ensaios de respirometria realizados por Hong *et al.* (2012) utilizando biomassa de lodo ativado evidenciaram que o triclorometano é potencialmente inibidor da nitrificação na concentração de 0,25 mg/L. A inibição das bactérias nitrificantes também está relacionada principalmente com a presença de estruturas com o grupo $-NH-$ triazina, apresentadas na Figura 47.

Embora estudos acerca da inibição da nitrificação durante o tratamento biológico de corantes azo sejam escassos, pode-se supor que o composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol, produto da ozonização do VR 239 e semelhante à atrazina, possa estar exercendo alguma inibição ao consórcio nitrificante. A atrazina, de acordo com Solis *et al.* (2012) e Yixin *et al.* (2014), é um herbicida e poluente orgânico persistente. Ghosh e Philip (2006) relatam diversos estudos relacionados à biodegradação da atrazina. Resultados mencionados apresentam elevada biodegradação da atrazina em meio de culturas bacterianas isoladas e em sistemas com consórcio microbiano anaeróbio. Resultados de respirometria realizados por Sanchis *et al.* (2014) utilizando lodo ativado não aclimatado na degradação da atrazina indicaram o comprometimento da atividade endógena microbiana devido à toxicidade da atrazina. Pathak *et al.* (2018) avaliou a degradação da atrazina em um sistema híbrido de microfiltração e reator biológico de membrana osmótica, com tempo de retenção hidráulica e de sólidos de 30 h e 70 dias, respectivamente. A baixa remoção da atrazina indica que a mesma é um composto persistente para a biodegradação e que a atrazina possui grupos com elevada remoção de elétrons, como as ligações –Cl, que pode ser responsável pela inibição do processo biológico. A presença de cloro ligado ao anel aromático com nitrogênio pode potencializar a inibição da nitrificação, devido ao cloro ser ativado por substituição nucleofílica e o pka do nitrogênio adjacente ser reduzido. Estes compostos competem pelo sítio ativo da enzima que se liga a amônia, inibindo-as (MCCARTHY, 1999). No entanto, Derakhshan *et al.* (2018) e Swissa *et al.* (2015) observaram a degradação da atrazina em MBBR anaeróbio com TRH de 24 h e concentração de atrazina de 0,1 mg/L e em um reator aeróbio com consórcio bacteriano imobilizado (*P. nitroreducens*, *Raoutella planticola* e *Stenotrofomonas acidaminifila*) e concentração de atrazina de 75 mg/L, respectivamente. Os resultados desses estudos indicam que a degradação da atrazina pode ser obtida em elevados tempos de retenção hidráulica (acima de 12 h), usando culturas heterogêneas e consórcios de bactérias oriundas de lodo usado no tratamento de herbicidas. No entanto, tais condições podem não estar presentes em um reator biológico em escala real/industrial.

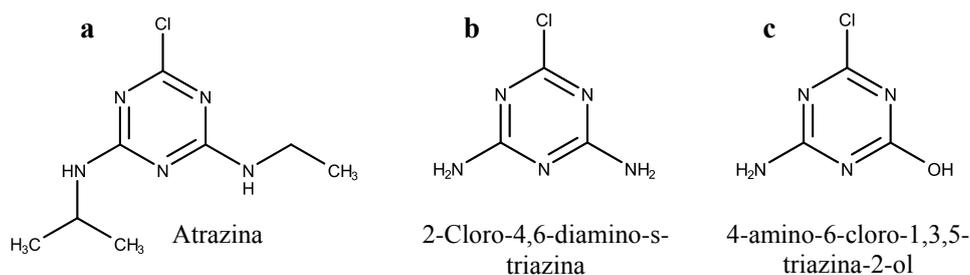


Figura 47 – Compostos triazínicos, a: possuem propriedade herbicida, b e c: inibidores das bactérias nitrificantes.

5.2.3. Concentração de Sólidos Suspensos e Aderidos

As concentrações de sólidos suspensos, fixos e voláteis, apresentadas na Figura 48, foram quantificadas após a alimentação do MBBR com meio sintético e efluente sintético nos regimes 3, 4 e 5. A quantificação dos sólidos aderidos ao suporte (biofilme) foi realizada nos regimes 3 e 5, nos quais o MBBR foi alimentado com efluente sintético contendo o corante VR 239 previamente ozonizado. A determinação dos sólidos aderidos foi feita apenas uma vez para evitar a retirada de um número muito grande de suportes do reator, uma vez que seu volume era pequeno, e continha apenas 96 biomedias.

Nos regimes 3 e 5 pode ser observado que o MBBR apresentou maior desprendimento de biofilme, o que refletiu em maior quantidade de sólidos suspensos no efluente (Figura 48). A maior concentração de sólidos suspensos voláteis e totais no efluente foram justamente obtidas quando a remoção de amônio foi menor, o que sugere que o desprendimento de agregados celulares do biofilme e a baixa remoção de amônio podem estar relacionados à presença de compostos provenientes da ozonização do VR 239, potencialmente inibidores às bactérias nitrificantes presentes no biofilme.

No regime 4, durante o qual o MBBR foi alimentado somente com efluente sintético desprovido de corante, foram observadas baixas concentrações de sólidos suspensos no efluente. Concomitantemente, a remoção de DQO (90%) e de amônia (80%) foram mais elevadas, o que confirma que o MBBR retornou às condições ótimas de operação devido à ausência dos produtos da ozonização do VR 239. A relação SSV/SST variou entre 33 e 72%.

No MBBR pode ser verificado um aumento na concentração de sólidos aderidos totais de 1,24 g/L no regime 3 para 2,39 g/L no regime 5. Já Koupaie *et al.* (2011) reportaram uma redução na espessura do biofilme contido em um MBBR devido à toxicidade dos metabólitos provenientes do corante vermelho ácido 18, formados em

um reator biológico anaeróbio. Na Tabela 25 pode ser observado que a concentração de sólidos aderidos totais em sistemas MBBR operados com diferentes matrizes pode variar de 0,06 g/L a 11,7 g/L. Estes resultados indicam que os valores de sólidos aderidos obtidos nos regimes 3 e 5 estão dentro da faixa de concentração apresentada na literatura. O aumento na concentração de sólidos aderidos e na remoção de DQO de 85% no regime 3 para 90% no regime 5 demonstram que houve a adaptação dos micro-organismos presentes no MBBR ao corante VR 239 ozonizado.

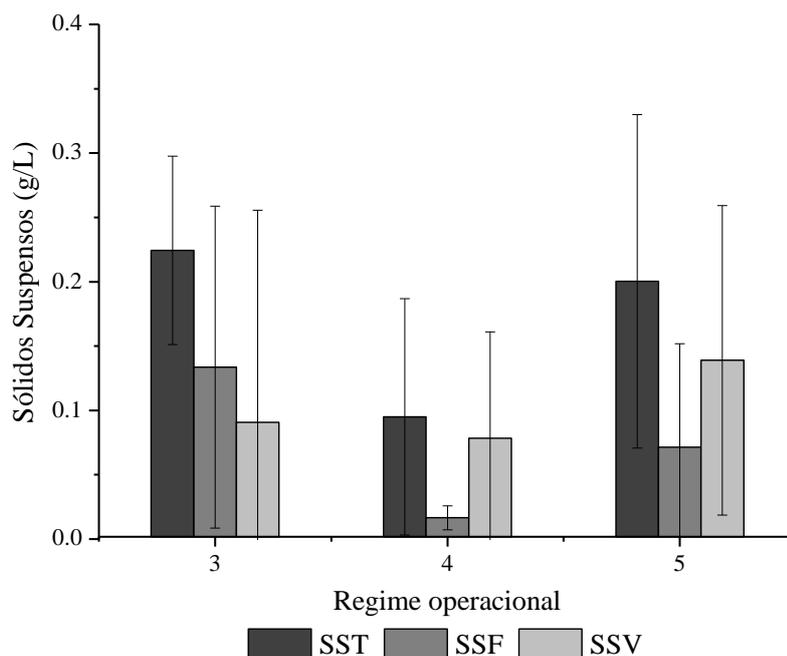


Figura 48 – Concentração de sólidos suspensos, fixos e voláteis no efluente ao longo da operação do MBBR: regimes 3 e 5 (efluente sintético ozonizado) e regime 4 (meio sintético).

Tabela 25 – Concentração de sólidos aderidos totais para diferentes efluentes em MBBR

Referência	Efluente	SAT	DQO (mg/L)	Amônia (mg/L)	MBBR
Fonseca (2016)	Efluente sintético	1,0 a 2,6 g/L	400	35	Reator aeróbio, suporte MOD940
Lima (2015)	Efluente sintético	5,5 a 8 g/L	400 a 1.200	80 e 240	Reator aeróbio, suporte Kaldnes K1
Cao (2014)	Efluente industrial com presença de defensivos agrícolas	7,6 a 11,7 g/L	240 a 728	13 a 46	Reator Aeróbio, suporte Kaldnes K1
Castro (2016)	Efluente sintético com adição de corante azo ozonizado	1,29 a 2,4 g/L	400	30	Reator Aeróbio, suporte Kaldnes K1

Na Figura 49 pode ser observada a diversa microbiota contida no biofilme durante o regime 5, apesar da presença dos produtos da ozonização do VR 239. Pode-se

observar, dentre outros micro-organismos, a presença de nematoides (Figura 49a), protozoários livre-natantes (Figura 49b) e rotíferos (Figura 49c).

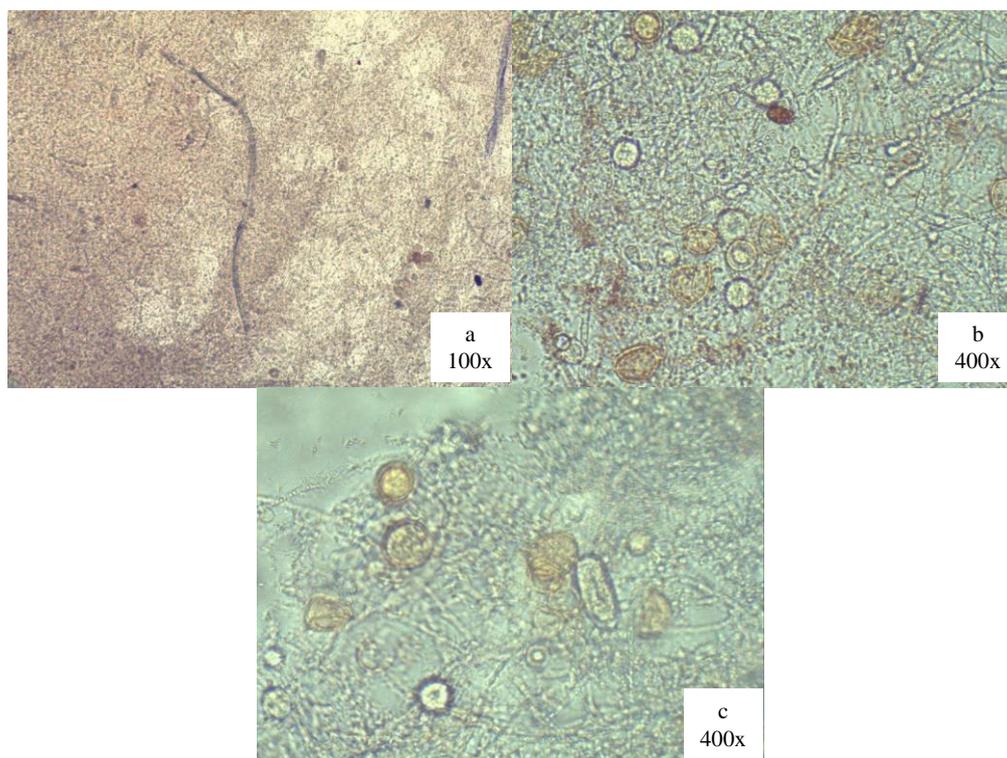


Figura 49 – Micrografia da biomassa aderida a biomedida no regime 5 de operação do MBBR alimentado com efluente sintético ozonizado (aumento de 100x e 400x)

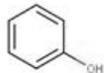
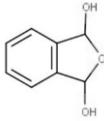
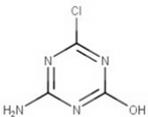
5.2.4. Identificação dos Intermediários formados na ozonização do VR 239 no efluente após o MBBR

Os intermediários formados na ozonização do VR 239 que não foram ou foram parcialmente metabolizados no tratamento biológico (MBBR) são apresentados na Tabela 26. A identificação desses intermediários após a passagem pelo MBBR teve como objetivo avaliar se estes compostos foram ou não metabolizados pelo sistema biológico. Essas substâncias foram identificadas por CG/MS no efluente do MBBR nos regimes 3 e 5 da Fase 1.

Pode ser observado que os compostos fenol, 1,3-dihidro-2-benzofurano-1,3-diol e 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol, produtos da ozonização do VR 239, foram identificados no efluente do MBBR. A identificação desses compostos sugere que não houve a metabolização dos produtos intermediários provenientes da ozonização do VR 239 pelo biofilme. A presença desses compostos pode estar relacionada com a baixa remoção de amônio (40%) e o aumento na concentração de sólidos suspensos nos regimes 3 e 5. A metabolização ineficiente pode ter ocorrido devido à elevada toxicidade do 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol, que pode ter inibido as bactérias

nitrificantes, como já mencionado no item 5.2.2. McCarthy (1999), Tomlinson *et al.* (1966) e Hockenburu e Grady (1977) afirmam que compostos nitrogenados heterocíclicos, aminas, anilinas e fenóis são potencialmente inibidores às bactérias nitrificantes. Embora o MBBR contenha biomassa na forma de biofilme que proporciona boas condições para a manutenção de bactérias nitrificantes mesmo em situações desfavoráveis, é provável que tenha ocorrido a inibição das bactérias nitrificantes pela presença do anel triazínico no VR 239, o que não foi observado para o consórcio heterotrófico, uma vez que a eficiência de remoção de DQO foi majoritariamente elevada (90%).

Tabela 26 – Intermediários formados na ozonização do VR 239 e identificados após tratamento biológico no MBBR da Fase 1.

Composto	Fórmula molecular	Massa molar	Número CAS	Estrutura química
Fenol	C ₆ H ₆ O	94,113	108-95-2	
1,3-dihidro-2-benzofurano-1,3-diol	C ₈ H ₈ O ₃	152,149	63883-90-9	
4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol	C ₃ H ₂ ClN ₄ O	144,991	38862-29-2	

5.3. REATORES DE LEITO MÓVEL COM BIOFILME EM SÉRIE – FASE 2

Os resultados obtidos ao longo do monitoramento do MBBR na Fase 1 mostraram uma baixa eficiência média de remoção de amônio de 36% nos regimes 3 e 5. A baixa eficiência do reator biológico pode ter sido ocasionada por compostos gerados na degradação do corante por ozônio, como o 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol.

Na Fase 2, o MBBR foi dividido em dois reatores em série (MBBR₁ e MBBR₂), com metade do volume do reator original, no intuito de favorecer a remoção de matéria orgânica no MBBR₁ e a nitrificação no MBBR₂. A mudança foi realizada para que se criasse um ambiente mais protegido de substâncias inibidoras no segundo reator para o consórcio nitrificante, uma vez que o primeiro reator da série receberia a carga afluente contendo compostos potencialmente inibidores.

As condições operacionais da Fase 2 foram iguais às da Fase 1, isto é, o TRH total foi mantido em 6 h, a concentração inicial de VR 239 foi de 50 mg/L e os tempos de ozonização foram de 12 e 20 min. Os reatores, com volume de 150 mL cada reator, foram alimentados no regime 6 com efluente sintético ozonizado por 12 min, e posteriormente, no regime 7, com efluente sintético ozonizado por 20 min. Por fim, no regime 8, foram alimentados somente com meio sintético isento de VR 239. Os regimes operacionais da Fase 2 estão apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 – Condições de operação do MBBR durante os regimes 6, 7 e 8 (Fase 2).

Regime	Alimentação MBBR	Tempo de operação (dias)	Concentração inicial de corante (mg/L)	Tempo de ozonização (min)
6	Efluente sintético ozonizado por 12 min	95	50	12
7	Efluente sintético ozonizado por 20 min	40	50	20
8	Meio sintético	70	0	0

5.3.1 Remoção de Matéria Orgânica

Os perfis de matéria orgânica quantificada como DQO e COT ao longo do tempo de alimentação do sistema MBBR de dois estágios (MBBR₁ e MBBR₂) com efluente sintético ozonizado, efluente sintético ozonizado por 20 min e meio sintético estão apresentados nas Figuras 50 e 51.

No regime 6, quando os reatores MBBR foram alimentados com efluente sintético ozonizado, foi verificada uma eficiência média de remoção de DQO de 92% após o MBBR₁ e de 94% após o MBBR₂. Também foi observado um aumento na remoção de COD de 87% após o primeiro reator para 92% após o segundo reator. Não houve um acréscimo significativo na eficiência de remoção de DQO e de COD do MBBR₁ para o MBBR₂, de modo que o primeiro reator tenha sido responsável por abater grande parte da carga orgânica afluenta. Tais resultados estão possivelmente relacionados à baixa concentração de matéria orgânica presente na saída do MBBR₁. De qualquer modo, a mudança na configuração do sistema MBBR na fase 2 proporcionou um aumento da eficiência de remoção de matéria orgânica, mesmo em condições de operação semelhantes ao sistema anterior, isto é, TRH de 6 h e volume útil total dos reatores de 300 mL.

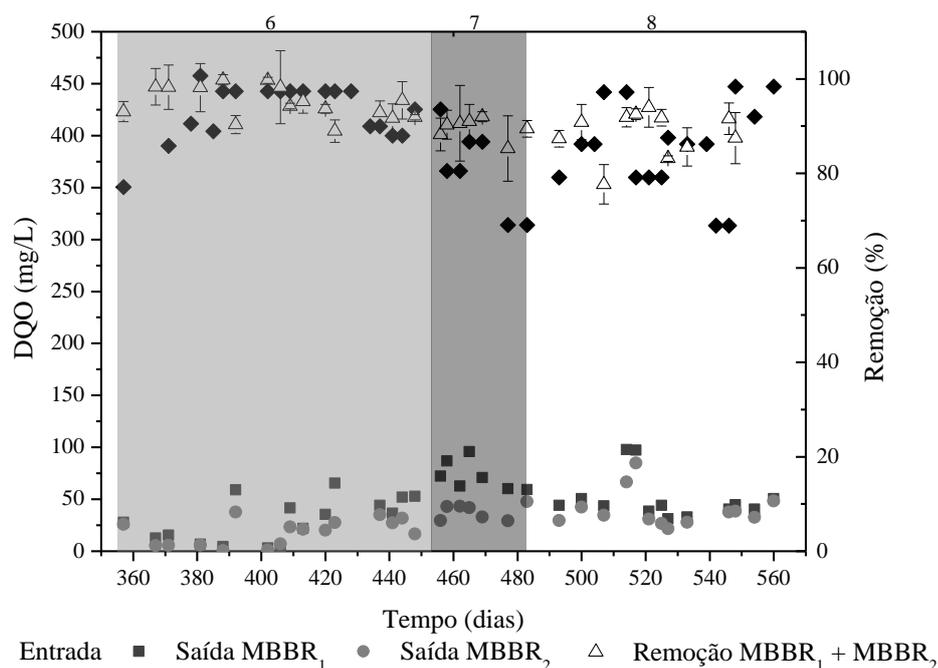


Figura 50 – DQO na entrada e saída do MBBR₁ e MBBR₂ durante os três regimes de operação alimentados com efluente sintético ozonizado por 12 min (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8). Os números indicados na parte superior da Figura indicam os regimes de operação.

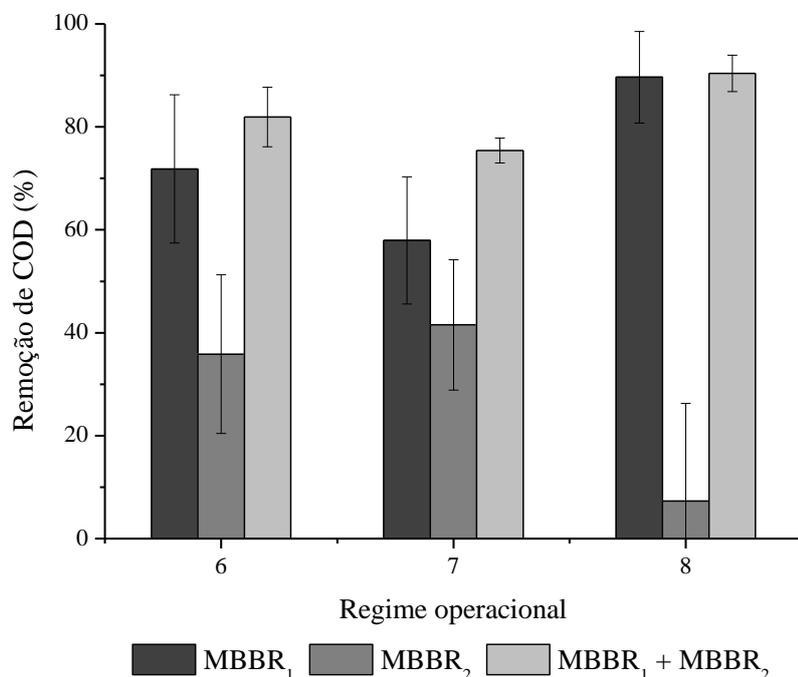


Figura 51 – Remoção de COD para os regimes 6, 7 e 8 de operação dos MBBR₁ e MBBR₂ alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).

No regime 7, a alimentação dos dois reatores em série foi realizada com efluente sintético ozonizado por 20 min. Observa-se uma redução na remoção de DQO e COD, tendo sido obtidas remoções de DQO de 83% após o MBBR₁ e de 90% após o MBBR₂, e remoções de COD de 58% após o MBBR₁ e de 72% após o MBBR₂. Estes resultados estão condizentes com os resultados obtidos por Zhang *et al.* (2007), que observaram o aumento do potencial tóxico de 1,86% para 36,65% na inibição de *Vibrio fischeri* após 60 min de ozonização do corante vermelho reativo 120 com concentrações iniciais de ozônio e de corante de 12,8 mg/L e 200 mg/L, respectivamente, em pH 10. No entanto, estes resultados divergem daqueles obtidos nesse trabalho, particularmente no ensaio de toxicidade utilizando *Vibrio fischeri*, o qual indicou que quanto maior o tempo de ozonização do VR 239, maior a degradação do mesmo em produtos menos tóxicos ao organismo teste. Contudo, a diminuição da remoção de DQO e COD indica que maiores tempos de ozonização do VR 239 formam produtos inibidores às bactérias heterotróficas.

A alimentação do MBBR₁ e MBBR₂ no regime 8 foi realizada somente com efluente sintético de modo a comprovar os efeitos adversos ocasionados pela presença do corante. Foi possível observar um aumento na remoção de DQO, que passou a 87% e 90% após o MBBR₁ e MBBR₂, respectivamente. Já a remoção de COD aumentou para 90% após passagem pelos dois reatores. Os resultados de remoção de DQO, apresentado na Figura 50, são estatisticamente diferentes entre todos os regimes de operação, exceto entre os regimes 7 e 8, com p-valor < 0,00001.

A alimentação dos MBBRs foi realizada somente com o efluente sintético no regime 8, com o objetivo de verificar a presença de bactérias nitrificantes no biofilme dos MBBRs. Resultados apresentados e discutidos no item 5.3.2 apontam uma elevada remoção de NH₄⁺, o que indica que as bactérias nitrificantes estão presentes no biofilme e que a reação de nitrificação foi inibida por produtos da ozonização do VR 239 nos regimes 3 e 5 da Fase 1 e regimes 6 e 7 da Fase 2.

5.3.2 Remoção de Nitrogênio

O nitrogênio na forma de amônio, nitrito e nitrato, apresentados nas Figuras 52 e 53, foi quantificado no afluente e efluente do MBBR₁ e MBBR₂ durante os regimes 6, 7 e 8.

Conforme mencionado anteriormente, a proposta dos reatores em série foi proporcionar maior eficiência de remoção de amônio pela nitrificação, uma vez que o

MBBR₁ seria responsável pela remoção de maior parte da matéria orgânica e o MBBR₂ seria responsável pela remoção do nitrogênio amoniacal.

No regime 6, em que o MBBR₁ foi alimentado com efluente sintético ozonizado por 12 min, pode ser observada uma remoção de amônio de 40% após o MBBR₁ e de 44% após o MBBR₂. Quando os reatores foram alimentados com efluente sintético ozonizado por 20 min, no regime 7, também foi obtido baixa remoção de amônio, de 34% após o primeiro reator e 40% após passagem pelo segundo reator. Estes resultados indicam que a mudança de um único reator na Fase 1 para dois reatores em série na Fase 2, bem como o aumento no tempo de ozonização do VR 239, não foram capazes de propiciar maior remoção de amônio em relação à Fase 1.

Na Figura 53, pode ser verificado que nos regimes 6 e 7 ocorreu a nitrificação incompleta, ou seja, o amônio oxidado foi convertido apenas a nitrito e não a nitrato. Tal resultado está ligado à inibição das bactérias oxidadoras de nitrito pelos produtos da ozonização do VR 239. A quantificação das concentrações de nitrito e nitrato no efluente do MBBR₂ não foi realizada devido à baixa remoção de amônio nesse reator (Figura 52). Assim, a formação de nitrito e nitrato foi mínima no MBBR₂.

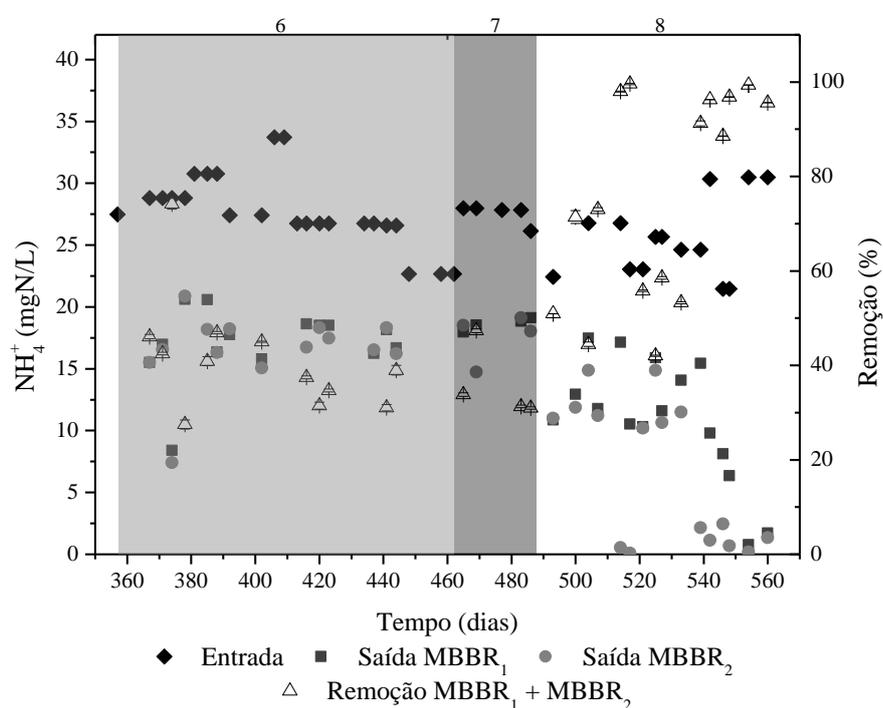


Figura 52 – Concentração de nitrogênio amoniacal de entrada e saída dos MBBR₁ e MBBR₂ durante os 3 regimes de operação alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).

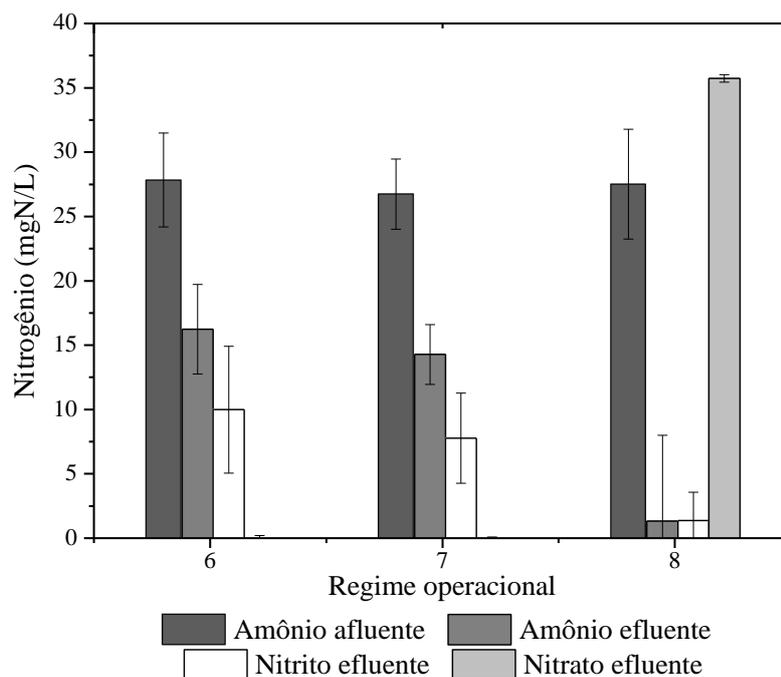


Figura 53 – Concentração de amônio na entrada do sistema e de nitrito e nitrato na saída do MBBR₁ para os 3 regimes de operação alimentados com efluente sintético ozonizado por 12 min (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).

A partir dos resultados apresentados, pode-se constatar que o sistema de MBBRs em série foi ineficiente no que tange à nitrificação. A baixa remoção de amônio obtida esteve possivelmente relacionada à redução da atividade enzimática das bactérias nitrificantes ocasionada pela presença de estruturas com o grupo $-NH-$ ligadas ao cloro (TOMNLINSON *et al.*, 1966, MCCARTHY, 1999), como o anel triazínico (SOLIS *et al.*, 2012 e YIXIN *et al.*, 2014), apresentado no item 5.2.2 e apresentado na Figura 47.

No regime 8, a alimentação dos MBBRs foi realizada somente com efluente sintético, tendo sido obtido um aumento gradual na remoção global de amônio, que atingiu 90% após passagem pelos dois reatores (Figura 52). Os resultados ainda indicam que o amônio afluente foi oxidado completamente a nitrato e conseqüentemente ocorreu a nitrificação completa (Figura 53). Pode ser observado que a recuperação do sistema no regime 8 foi extremamente lenta em comparação ao regime 4 da Fase 1 devido ao longo período de alimentação com efluente ozonizado (135 dias de operação nos regimes 6 e 7), o que ocasionou um impacto severo na inibição das bactérias nitrificantes. O regime 8 foi operado por 70 dias e realizado com o objetivo de confirmar o restabelecimento da atividade nitrificante no biofilme dos MBBRs após a retirada do corante VR 239 da alimentação. Na análise estatística dos dados de remoção de amônio, apresentado na Figura 52, foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre todos os

regimes de operação, com p-valor < 0,00001. Mais uma vez, os resultados apontam para a impossibilidade de se obter boas eficiências de nitrificação na presença dos produtos de ozonização do corante em estudo. Acredita-se que a presença do composto triazínico foi o fator principal inibidor da atividade das bactérias oxidadoras de amônia e de nitrito. Como exposto anteriormente, trabalhos acerca da remoção de nitrogênio e inibição da nitrificação no tratamento biológico de corantes azo são escassos. Contudo, estudos evidenciam que compostos triazínicos contendo cloro são potencialmente inibidores do processo nitrificante (ONG *et al.*, 2010, HE e BISHOP, 1994, TOMNLINSON *et al.*,1966, MCCARTHY,1999; HONG *et al.*,2012; SANCHIS *et al.*,2013).

5.3.3 Concentração de Sólidos Suspensos e Aderidos

As concentrações de sólidos suspensos para o MBBR₁ e para o MBBR₂ estão apresentadas nas Figuras 54 e 55 para os regimes 6, 7 e 8. A quantificação dos sólidos aderidos ao suporte (biofilme) foi realizada somente uma vez e nos regimes em que o VR 239 ozonizado foi adicionado ao efluente sintético. A determinação dos sólidos aderidos foi feita apenas uma vez para evitar a retirada de um número muito grande de biomedias do reator, uma vez que o volume dos reatores era pequeno, com 48 biomedias em cada reator. Na Fase 2 também foram determinadas as concentrações de sólidos aderidos fixos e voláteis devido à mudança do método de análise de sólidos aderidos, que foi adaptada de acordo com Fonseca, 2016.

Nos regimes 6, 7 e 8 os MBBRs foram alimentados com efluente ozonizado, efluente ozonizado por 20 min e meio sintético, respectivamente. Resultados obtidos para o MBBR₁ e MBBR₂ indicam que houve uma maior concentração de sólidos suspensos totais nos regimes 6 e 7 em relação ao regime 8, o que indica um maior desprendimento de biomassa devido à presença de compostos provenientes da ozonização do VR 239, que são inibidores as bactérias nitrificantes presentes no biofilme.

No regime 8, pode ser observado que houve a redução na concentração de sólidos suspensos totais e o aumento na razão entre sólidos suspensos voláteis e suspensos, o que indica o aumento de matéria orgânica, que corresponde a quantidade de micro-organismos presentes no MBBR₁ e no MBBR₂. Estes resultados confirmam aqueles obtidos para a remoção de matéria orgânica e amônia, em que foi observado o aumento da remoção de DQO (90%) e amônia (90%). Contudo, pode ser observado que

no MBBR2 a razão entre sólidos suspenso voláteis e totais é menor devido à redução no aporte de matéria orgânica proveniente do MBBR₁.

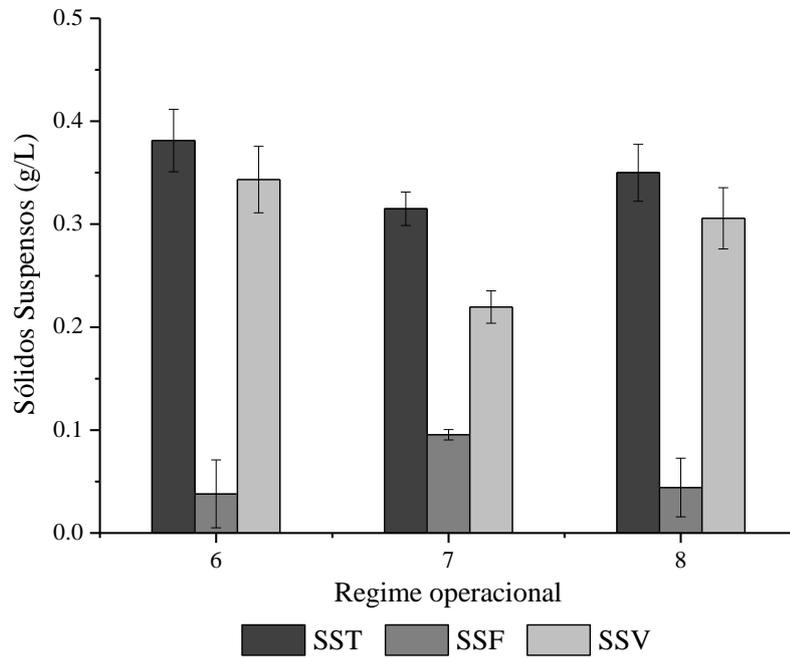


Figura 54 – Concentração de sólidos suspensos para os 3 regimes do MBBR₁ alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).

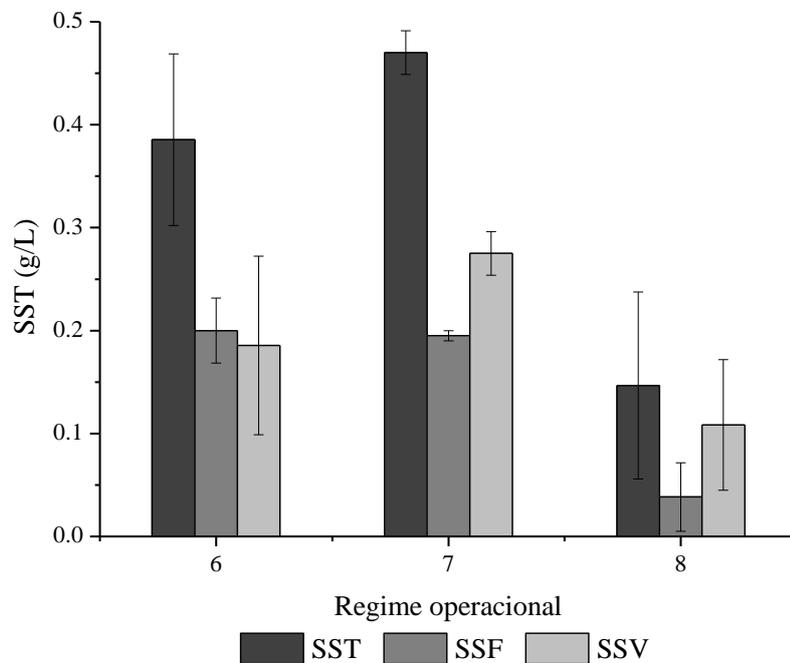


Figura 55 – Concentração de sólidos suspensos para os 3 regimes do MBBR₂ alimentados com efluente sintético ozonizado (regime 6), efluente sintético ozonizado por 20 min (regime 7) e meio sintético (regime 8).

Os resultados obtidos para a concentração de sólidos aderidos totais, fixos e voláteis do MBBR₁ e MBBR₂ estão apresentados nas Figuras 56 e 57. Nos regimes 6 e 7 do MBBR₁ e do MBBR₂ pode ser observada a redução de sólidos aderidos totais de 1,56 g/L para 0,44 g/L no MBBR₁ e de 0,82 g/L para 0,48 g/L no MBBR₂. A redução na concentração de sólidos aderidos pode ter ocorrido devido ao aumento no tempo de ozonização do VR 239 de 12 min para 20 min. Estes resultados indicam que a presença de produtos da ozonização de corantes pode ocasionar o desprendimento de biomassa. Zhang et al. (1995) e Castro (2016) observaram a redução na espessura do biofilme em reatores biológicos alimentados com corantes azo e corante azo ozonizado, respectivamente, o que corrobora os resultados obtidos.

A alimentação do MBBR₁ no regime 8 foi realizada com meio sintético, com isso, foi possível observar um aumento na concentração de sólidos aderidos totais no MBBR₁. A maior concentração de sólidos aderidos pode ser devido à alimentação do reator com efluente sintético, que proporcionou o crescimento de micro-organismos e reduziu o desprendimento do biofilme. Contudo, o MBBR₂ apresentou um pequeno decaimento na concentração de sólidos aderidos, que pode ser devido ao VR 239 ozonizado remanescente do MBBR₁ e a baixa carga orgânica proveniente do MBBR₁.

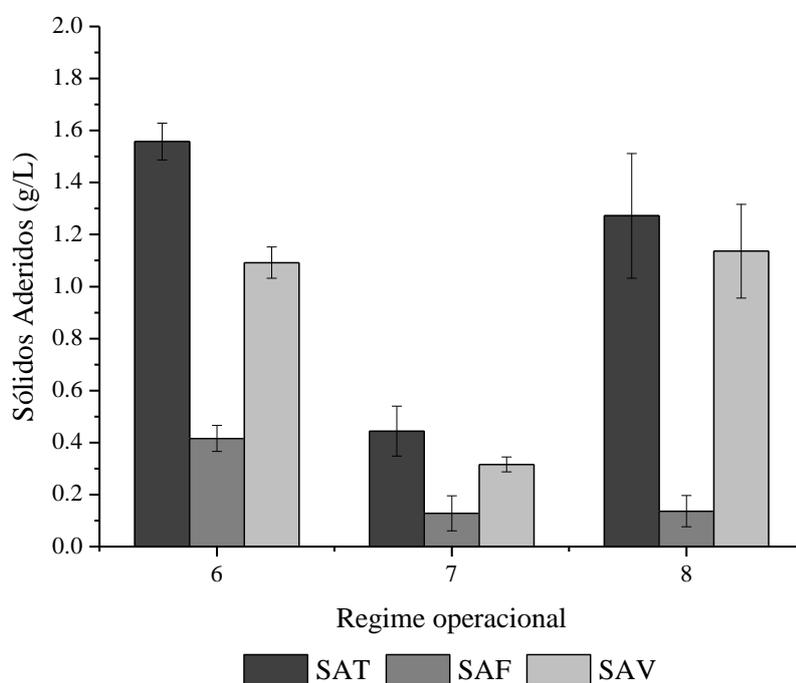


Figura 56 – Concentração de sólidos aderidos para o MBBR₁ nos regimes 6, 7 e 8 de operação alimentado com efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada por 12 min, efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada 20 min e efluente sintético.

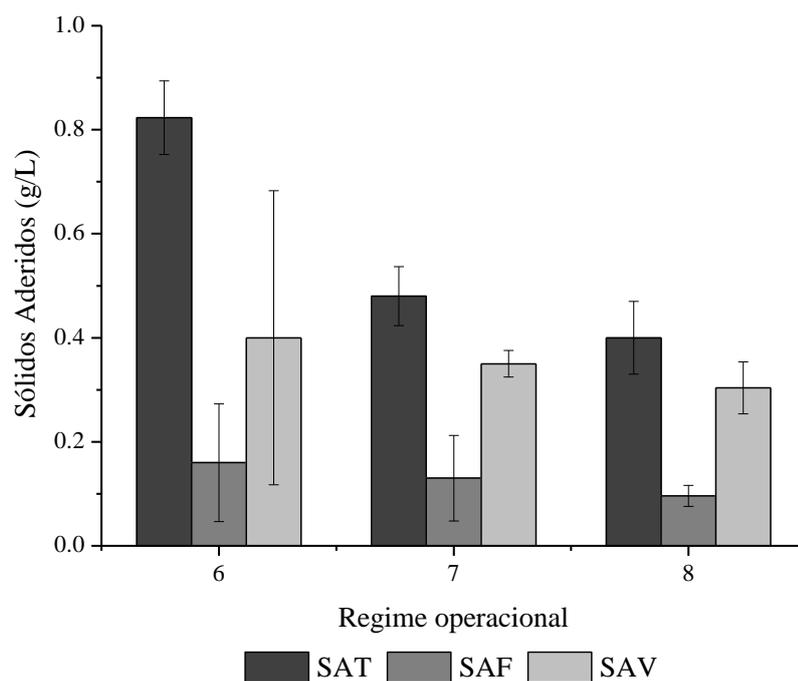


Figura 57 – Concentração de sólidos aderidos para os regimes 6, 7 e 8 de operação do MBBR₂ alimentado com efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada por 12 min, efluente sintético + solução de VR 239 ozonizada 20 min e efluente sintético.

A razão entre os sólidos aderidos voláteis e sólidos aderidos totais indicam a quantidade de matéria orgânica não mineralizada, o que corresponde à quantidade de micro-organismos no reator. Na Tabela 28, podem ser verificados valores para a razão entre os sólidos aderidos voláteis e sólidos aderidos totais de 0,70 a 0,89 para o MBBR₁ e de 0,40 a 0,76 para o MBBR₂ nos regimes 6, 7 e 8 da Fase 2. Castro (2016) estudou a degradação de produtos da ozonização do corante laranja reativo 16 e obteve resultado semelhante, com valores de 0,6 a 0,9 para a razão entre sólidos aderidos voláteis e totais. Estes resultados, quando obtidos valores acima de 0,6, sugerem que há uma quantidade suficiente de micro-organismos nos biofilmes para a degradação de matéria orgânica e inorgânica, exceto no regime 6 do MBBR₂.

Tabela 28 – Razão entre sólidos aderidos voláteis e totais para os regimes 6,7 e 8 do MBBR₁ e MBBR₂

Regime operacional	Razão SAV/SAT MBBR ₁	Razão SAV/SAT MBBR ₂
6	0,70	0,49
7	0,71	0,73
8	0,89	0,76

Pode ser observado que estes resultados refletem os resultados obtidos para os sólidos suspensos, ou seja, nos regimes em que houve o aumento na concentração de sólidos suspensos, houve o decréscimo na concentração de sólidos aderidos. Desta forma, os resultados obtidos para os sólidos suspensos validam e estão de acordo com os resultados obtidos para os sólidos aderidos.

Na Figura 58 pode ser observada a diversa biota contida no MBBR₁ com a presença de micro-organismos, como nematóides e protozoários. No MBBR₂ não foi possível realizar as microfotografias devido à pequena quantidade de biomassa contida no biofilme.

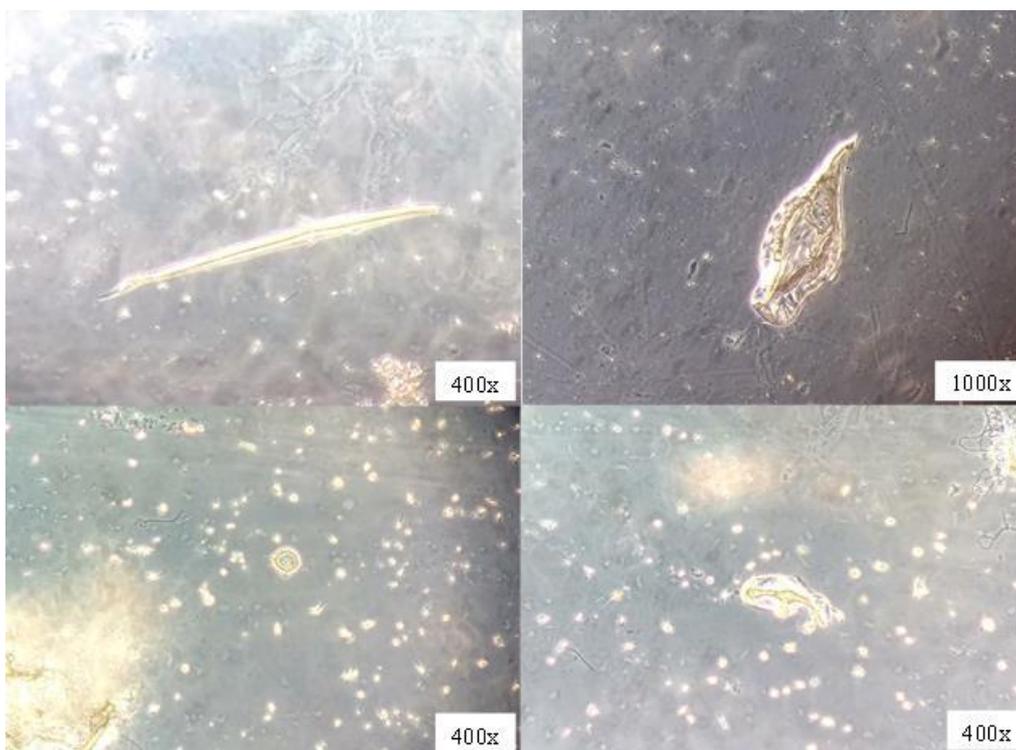


Figura 58 – Microfotografia da biomassa aderida no regime 6 de operação do MBBR₁ alimentado com efluente sintético ozonizado (aumento de 400x e 1000x)

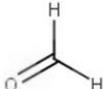
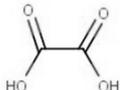
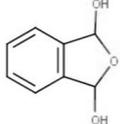
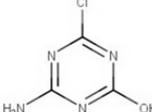
5.3.4 Identificação dos Intermediários formados na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelos MBBRs em série

O efluente proveniente dos MBBRs da Fase 2 nos regimes 6 e 7 foi analisado por meio de CG/MS para avaliar se houve a metabolização dos produtos da ozonização do VR 239. Os produtos identificados estão apresentados na Tabela 29.

Nos regimes 6 e 7 foram identificados os compostos 1,3-dihidro-2-benzofurano-1,3-diol, 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol, formaldeído e ácido oxálico. A presença do 1,3-dihidro-2-benzofurano-1,3-diol sugere que não houve a metabolização do ácido

ftálico, proveniente da ozonização dos anéis naftalênicos presentes na estrutura do VR 239. Contudo, a presença dos compostos formaldeído e ácido oxálico indicam que o sistema MBBR com dois reatores em série e o aumento do tempo de ozonização do VR 239 proporcionou a metabolização dos intermediários a Ácido Oxálico e Formaldeído. Como já verificado por Castro (2016).

Tabela 29 – Intermediários da solução de VR 239 ozonizada identificados no efluente após o processo biológico pelos MBBRs em série - Fase 2

Composto	Fórmula molecular	Massa molar	Número CAS	Estrutura química	Regime operacional	
					6	7
Formaldeído	CH ₂ O	30,026	1664-98-8		X	X
Ácido Oxálico	C ₂ H ₂ O ₄	90,034	144-62-7		-	X
1,3-dihidro-2-benzofurano-1,3-diol	C ₈ H ₈ O ₃	152,149	63883-90-9		X	X
4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol	C ₃ H ₂ ClN ₄ O	144,991	38862-29-2		X	X

A ineficiência do MBBR na metabolização de alguns produtos da ozonização pode ter ocorrido devido a sua estrutura, como o composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol. Este composto, que contém um anel triazínico, possui característica recalcitrante (COSTA *et al.*, 2012) e é semelhante a atrazina, que tem propriedades herbicidas e cancerígenas (YIXIN *et al.*, 2014).

5.4. ANÁLISE DA COMUNIDADE MICROBIANA DO MBBR NAS FASES 1 e 2

A degradação do corante VR 239 previamente ozonizado foi realizada com um MBBR e dois MBBRs em série. Para isso, foi avaliada a remoção de matéria orgânica e nitrogênio em diferentes regimes de operação. Foi verificado que em todos os regimes em que o sistema MBBR foi alimentado com efluente ozonizado (VR 239 ozonizado + meio sintético), foram obtidas remoções médias de 90% e 40% de matéria orgânica (DQO) e amônio, respectivamente. Os resultados indicam que os produtos da

ozonização do VR 239 afetaram drasticamente a remoção de nitrogênio amoniacal, a qual foi possivelmente ocasionada pela presença do composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol, que possui características tóxicas às bactérias nitrificantes e passou incólume por todo o processo biológico. Assim, a análise da comunidade microbiana teve como objetivo de melhor compreender o efeito dos compostos presentes na alimentação na dinâmica das comunidades microbianas no MBBR.

O estudo da caracterização dos perfis bacterianos no MBBR₁ e MBBR₂ foi realizado a partir das amostras de DNA extraídas do biofilme nos regimes 5 a 8, em que os MBBRs foram alimentados com efluente ozonizado por 12 min, efluente ozonizado por 20 min e meio sintético desprovido de corante. As sequências nucleotídicas foram obtidas por sequenciamento massivo de DNA e, após a remoção de resultados de baixa qualidade e de tamanho inadequado, foram obtidas 22.305 leituras satisfatórias para todas as amostras dos MBBRs, como pode ser observado na Figura 59. As curvas de rarefação obtidas para todos os regimes operacionais se aproximaram da saturação, demonstrando que o número de sequências obtidas foi suficiente para revelar a maior parte da comunidade bacteriana dos MBBRs.

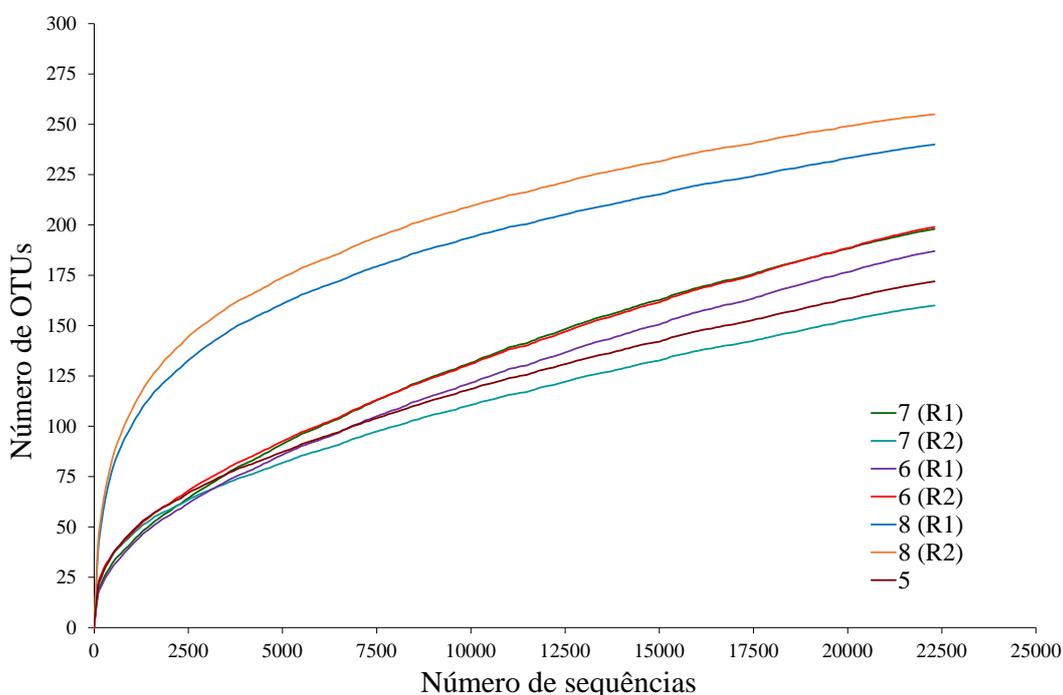


Figura 59 – Curvas de rarefação para os MBBRs nos regimes operacionais analisados

A riqueza e a diversidade bacteriana em diferentes regimes operacionais dos MBBRs foram determinadas por meio do número de unidades taxonômicas (UTOs), do estimador de riqueza baseado em abundância de Chao1 e dos índices de diversidade de Shannon e Simpson, apresentados na Tabela 30.

Tabela 30 – Índices de diversidade α do MBBR₁ e MBBR₂ em diferentes regimes operacionais

Regime operacional	MBBR	Índices de riqueza		Índices de diversidade	
		Número de UTOs ^a	Chao 1	Shannon (H)	Simpson (D)
5	1	172	279,25	2,56	0,14
6	1	187	359,44	2,08	0,25
6	2	199	324,84	2,52	0,18
7	1	198	279,33	2,29	0,17
7	2	160	259,40	2,54	0,15
8	1	240	346,11	3,35	0,11
8	2	255	294,75	3,81	0,04

^a Nível de corte de 3%

Levando em conta o número de UTOs e o índice Chao1, observou-se aumento da riqueza bacteriana quando houve a mudança do sistema MBBR de único estágio (regime 5) para dois estágios (MBBR₁ e MBBR₂) (regimes 6 e 7) e também quando os MBBRs foram alimentados somente com meio sintético (regime 8). Contudo, quando os MBBRs foram alimentados com efluente ozonizado por 20 min (regime 7), houve uma pequena queda nos índices de Chao1 e no número de UTOs, o que pode estar relacionado à formação de outros subprodutos que foram inibidores a determinados organismos.

Para os índices de diversidade, deve ser considerado que quanto maior o índice de Shannon e quanto menor o índice de Simpson, maior a diversidade bacteriana. Uma maior diversidade implica uma maior uniformidade na quantidade de UTOs no sistema MBBR e uma distribuição mais equitativa das mesmas (KIM *et al.*, 2017). De um modo geral, a diversidade aumentou com mudança do sistema de um para dois reatores e especialmente quando o meio sintético desprovido de subprodutos da ozonização do VR 239 foi alimentado aos reatores, no regime 8. Nessa condição o índice de Shannon (H) atingiu valores máximos de 3,35 e 3,81 no MBBR₁ e MBBR₂, respectivamente, e o índice de Simpson atingiu valores mínimos de 0,11 e 0,04 nesses respectivos reatores.

Interessante observar que os índices de riqueza foram maiores no primeiro reator da série nos regimes 6, 7 e 8, possivelmente em função da maior quantidade de matéria orgânica e subprodutos oriundos da ozonização alimentados a esses reatores. Já os índices de diversidade, que expressam a equitabilidade e a distribuição relativa das UTOs, foram maiores no segundo reator da série nos mesmos regimes, o que pode estar relacionado a um ambiente mais favorável à diversidade bacteriana e menos propício a ocorrer dominância por parte de determinados grupos microbianos.

5.4.1 Análise dos Perfis Bacterianos das Fases 1 e 2

A abundância relativa da comunidade bacteriana no nível de filo é apresentada na Figura 60. Pode ser observado que em todos os regimes operacionais os filos mais abundantes foram Proteobacteria, Bacteroidetes, Planctomycetes e Actinobacteria, que representaram um total de 59%, 33%, 3% e 2%, respectivamente, do total de sequências. Ao longo dos regimes operacionais, pode ser observado um declínio da abundância de Proteobacteria e o aumento da abundância de Bacteroidetes, ocasionada pela mudança na configuração do sistema de um para dois reatores em série (regimes 6 e 7) e também pela ausência dos produtos da ozonização do VR 239 no afluente (regime 8). Nos regimes 5, 6 e 7, em que o sistema MBBR foi alimentado com efluente ozonizado, houve uma maior do filo Proteobacteria. Já o filo Actinobacteria esteve presente em porcentagens semelhantes em todos os regimes operacionais, independente do sistema biológico ser operado em estágio único ou duplo estágio. Jiang et al. (2019) também identificou maior predominância de Proteobacteria no efluente de RBS utilizado na degradação de anilina. Organismos pertencentes ao filo Proteobacteria são, em geral, heterotróficos que podem contribuir para a remoção de compostos aromáticos e produção de EPS, auxiliar na coesão de flocos de lodo para a formação de biofilmes e também são predadores, podendo consumir outras bactérias (DEVPURA *et al.*, 2017; JIANG *et al.*, 2019; MADIGAN *et al.*, 2016). No MBBR₂, particularmente nos regimes 6 e 7, foi observado que um aumento expressivo na proporção de Bacteroidetes no MBBR₂ em comparação ao MBBR₁, com esses organismos representando um total de 15% e 52% da comunidade bacteriana no segundo reator da série, o que possivelmente se deve à redução no aporte de matéria orgânica, em grande parte metabolizada no MBBR₁, e à promoção de um ambiente mais protegido de substâncias inibidoras para o consórcio microbiano. Durante o regime 8, em que os MBBRs foram alimentados somente com meio sintético, além dos filos Bacteroidetes e Proteobacteria, o filo

Planctomycetes também foi detectado em frequência elevada de 7% e 15% no MBBR₁ e MBBR₂, respectivamente. A abundância relativa do filo Planctomycetes foi muito pequena nos demais regimes (5, 6 e 7). Os filios Proteobacteria e Bacteroidetes também foram identificados em um reator de hidrólise ácida utilizado na degradação de águas residuárias contendo corante azo e em águas residuárias domésticas, industrial e hospitalar, após tratamento por lodos ativados (XIE *et al.*, 2016; SIGALA e UNC, 2013). De acordo com Madigan *et al.* (2016) e Zhang *et al.* (2014), o filo Bacteroidetes tem como característica funcional a fixação do nitrogênio, desnitrificação, participa da degradação de polímeros, de substâncias orgânicas complexas e decompõe células mortas e EPS.

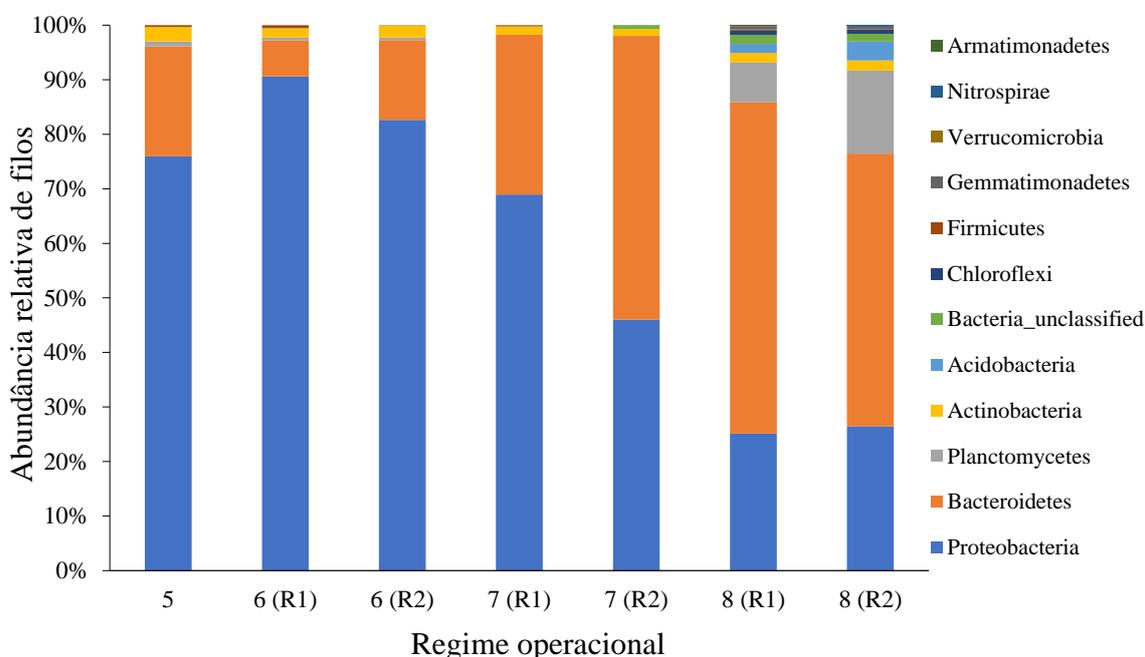


Figura 60 – Abundância relativa dos filios bacterianos nos MBBRs nos diferentes regimes operacionais nas Fases 1 (regime 5) e 2 (regimes 6, 7 e 8).

A comunidade bacteriana também foi avaliada em níveis taxonômicos mais específicos, como ordem e gênero, sendo os resultados apresentados nas Figuras 61 e 62, respectivamente. Foram consideradas 26 ordens e 69 gêneros mais importantes e as ordens (28) e gêneros restantes (123), com frequências relativas inferiores a 0,05%, foram agrupadas na categoria outros. As ordens mais abundantes e presentes em todos os regimes operacionais foram Burkholderiales, Sphingobacteriales, e Rhizobiales, correspondendo a um total de 29%, 26%, 15% da comunidade bacteriana, respectivamente. Pode ser observado que ao longo dos regimes 5 a 8, houve uma

diminuição de Burkholderiales e um aumento de Sphingobacteriales, pertencentes aos filos Proteobacteria e Bacteroidetes, respectivamente. A frequência relativa da ordem Rhizobiales foi maior no regime 6, e organismos da ordem Enterobacteriales estiveram praticamente ausentes no regime 8 embora estivessem presentes em quantidade significativa nos regimes 5 e 7. Organismos das ordens Burkholderiales e Rhizobiales possuem como característica funcional a fixação do nitrogênio e são quimiorganotróficas (MADIGAN *et al.*, 2016). De acordo com Forss *et al.* (2017), bactérias da ordem Burkholderiales foram observadas em consórcios microbianos no tratamento de águas residuárias com corante azo e podem degradar compostos recalcitrantes como 4-nitrobenzoato e aromáticos sulfonados. Organismos da ordem Rhizobiales também podem realizar a metabolização de compostos aromáticos e são comumente encontrados em biofilmes onde o substrato é limitante, podendo se estabelecer facilmente nesses ambientes de competição bacteriana (DEVPURA *et al.*, 2017, KEMRU *et al.*, 2012). Já as bactérias da ordem Enterobacteriales podem reduzir o nitrato a nitrito e fermentam açúcares a diversos produtos finais, sendo também encontradas em águas residuárias contendo antibióticos (SIGALA e UNC, 2013; MADIGAN *et al.*, 2016).

No regime 8, devido à ausência dos produtos da ozonização no afluente, a comunidade microbiana dos MBBRs apresentou maior predominância de Sphingobacteriales (45%), Planctomicetales (15%), Flavobacteriales (7%), e Cytophagales (7%), além da presença de Nitrospirales (0,03%). Zhang *et al.*, 2018 observaram que na comunidade microbiana de lodo ativado de estações de águas residuárias, organismos da ordem de Sphingobacteriales e Nitrospirales realizam a degradação e desnitrificação de compostos aromáticos, podem se adaptar a águas residuárias contendo baixa carga orgânica e poluentes orgânicos perigosos, como efluentes da indústria têxtil.

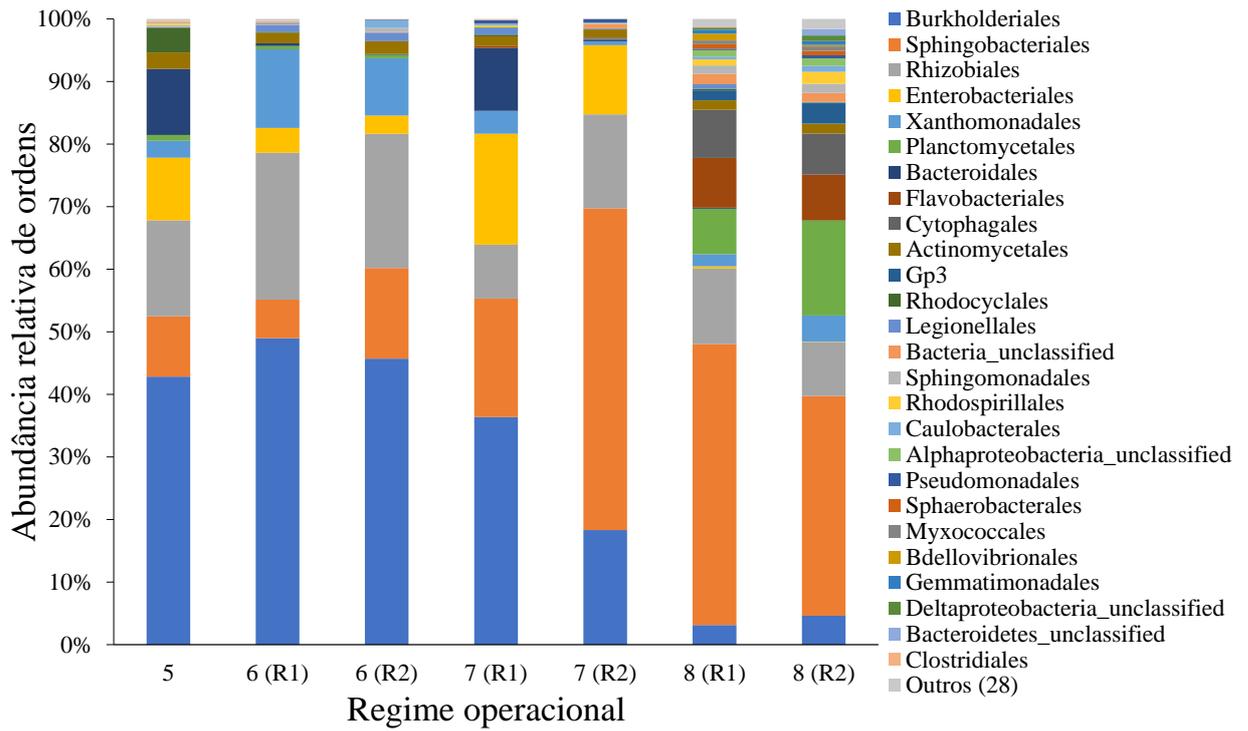


Figura 61 – Comunidade bacteriana em nível de ordem nos MBBRs para os diferentes regimes operacionais nas Fases 1 (regime 5) e 2 (regimes 6, 7 e 8). Ordens menos abundantes foram agrupadas na categoria “Outros”.

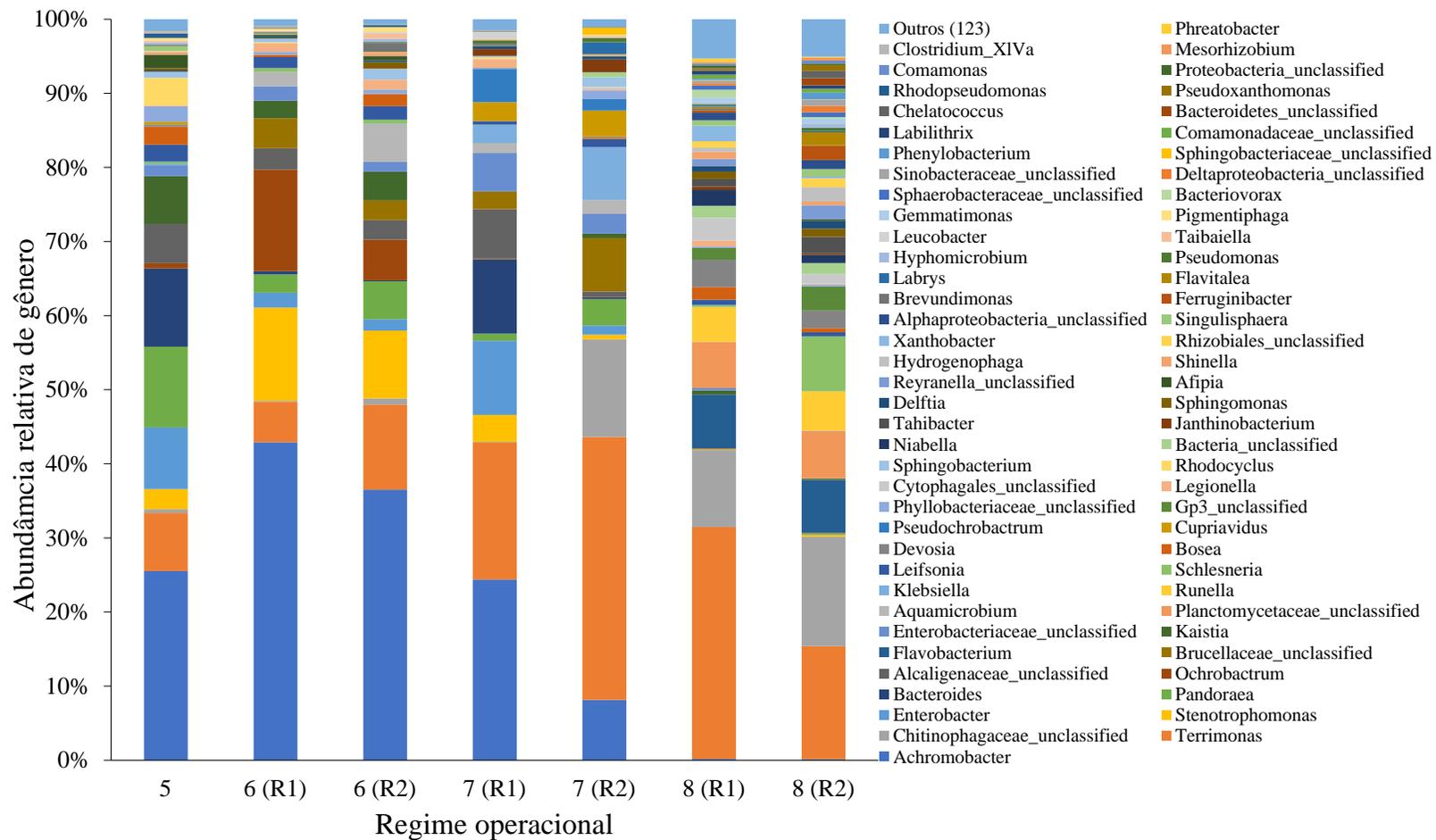


Figura 62 – Abundância relativa dos gêneros bacterianos nos MBBRs para os diferentes regimes operacionais nas Fases 1 (regime 5) e 2 (regimes 6, 7 e 8). Gêneros menos abundantes foram agrupados na categoria “Outros”.

Na Figura 62 está ilustrada a abundância relativa dos gêneros bacterianos nos MBBRs ao longo dos regimes operacionais. Conforme observado para os outros níveis taxonômicos (filó e ordem), uma maior diversidade bacteriana no nível de gênero também foi observada no regime 8, no qual a alimentação dos MBBRs foi desprovida dos subprodutos de ozonização.

Os gêneros mais abundantes foram *Achromobacter* e *Terrimonas*. O primeiro gênero foi detectado somente quando havia os subprodutos da ozonização na alimentação, isto é, regimes 5, 6 e 7, enquanto a proporção do segundo foi aumentando ao longo dos regimes, atingindo frequência máxima de aproximadamente 31% (MBBR₁) e 15% (MBBR₂) no regime 8. O gênero *Achromobacter* foi identificado no biofilme de um reator aeróbio usado para o tratamento de águas residuárias têxteis e foi isolado para a descoloração do corante Verde Malaquita (IBRAHIM *et al.*, 2009, WANG *et al.*, 2011). O estudo realizado por Kundu *et al.* (2011) revelou que bactérias do gênero *Achromobacter*, particularmente *Achromobacter xylosoxidans*, isoladas de sistema de tratamento de abatedouro, apresentaram capacidade de nitrificação heterotrófica, realizando a oxidação de carbono e amônio ao mesmo tempo.

Já o gênero *Terrimonas* pode contribuir na remoção de nitrogênio por meio da biossíntese de EPS e agregação do biofilme, conforme reportado em estudos realizados recentemente (ZHAO *et al.*, 2019). Esses organismos já foram identificados no lodo de reatores anóxico-anaeróbio-aeróbio de uma estação de tratamento de águas residuárias municipais (JIN *et al.*, 2013).

Chitinophagaceae_unclassified é outro gênero cuja abundância relativa foi aumentando, especialmente nos regimes 7 (no MBBR₂) e 8 (no MBBR₁ e MBBR₂). Tais organismos possivelmente foram inibidos pelos subprodutos da ozonização do corante VR 239, aparecendo em maior quantidade quando o tempo de ozonização foi maior (regime 7) e no segundo reator da série (frequência de 13%), após metabolização desses subprodutos no MBBR₁, ou ainda na ausência desses subprodutos no regime 8, quando sua frequência relativa foi 10 a 14% no MBBR₁ e MBBR₂, respectivamente. Estudo realizado por Chen *et al.* (2018) mostram que organismos pertencentes à família *Chitinophagaceae* foram responsáveis pela atividade nitrificante no tratamento de águas residuárias domésticas em um biorreator com membranas submetido a baixas concentrações de oxigênio dissolvido. Como os resultados do sequenciamento

indicaram que a frequência relativa dos organismos pertencendo ao gênero *Chitinophagaceae_unclassified* aumentou substancialmente no regime 8, tanto no MBBR₁ (proporção de 10,4%) como no MBBR₂ (proporção de 14,8%), quando a nitrificação foi completa, é possível que que esses organismos possam ter contribuído para a oxidação do amônio no sistema MBBR. *Planctomycetaceae_unclassified* também foram detectados em maior quantidade no regime 8, com porcentagens em torno de 6% nos MBBR₁ e MBBR₂.

Comamonas é um gênero que possui a capacidade de oxidar amônio a nitrito, e até mesmo desnitrificar sob condições aeradas, reduzindo nitrato a nitrogênio gasoso (PATUREAU *et al.*, 1994), e foi somente detectado na ausência dos subprodutos da ozonização do corante VR 239, quando a remoção de amônio foi completa. Como não foram encontrados outros gêneros de bactérias oxidadoras de amônio (BOA), dentro os quais o *Nitrosomonas* é o mais conhecido e reportado em estudos com biorreatores nitrificantes (ALMSTRAND, 2012), acredita-se que organismos do gênero *Comamonas* tenham sido responsáveis pela oxidação de amônio nos MBBRs. Sua presença passou a ser detectada no regime 7 (frequência de 0,009% no MBBR₂), aparecendo em maior proporção no regime 8 (0,25% e 0,41% no MBBR₁ e MBBR₂, respectivamente).

Outro gênero detectado em maiores proporções no regime 8 (correspondendo a aproximadamente 1% do total de sequências no MBBR₁ e MBBR₂) e que também foi reportado em estudos anteriores com potencial de oxidar amônio é *Sphingomonas*. Tal *et al.* (2003) detectou *Sphingomonas* spp. no consórcio microbiano de um reator de leito móvel juntamente com BOA e BON, sugerindo a sua capacidade de nitrificação. Fitzgerald *et al.* (2015) também observaram que *Sphingomonas* contribuiu para a oxidação de amônio em reatores biológicos mantidos sob baixas concentrações de oxigênio dissolvido (<0,3 mg/L). Já Yun *et al.* (2019) especularam que pelo menos alguns membros do gênero *Sphingomonas* são capazes de transformar diferentes formas de nitrogênio inorgânico, tais como amônio, em estudo focado no tratamento de água residuária oriunda de áreas agrícolas.

É interessante observar que as bactérias oxidadoras de nitrito (BON) foram detectadas somente no regime 8, coincidindo com o fato de não ter havido acúmulo de nitrito. Os resultados de sequenciamento reforçam a hipótese de que o composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol pode ter ocasionado a inibição de bactérias nitrificantes nos regimes 5, 6 e 7. Um dos gêneros de BON detectados foi *Nitrospira*, do filo Nitrospirae e família Nitrospiraceae, cuja frequência foi de 0,027% no MBBR₂.

Outro gênero de BON detectado apenas no regime 8 foi a *Nitrolancea*, pertencente ao filo Chloroflexi e família Sphaerobacteraceae. Esse gênero foi ainda mais abundante do que *Nitrospira*, apresentando uma frequência relativa de 0,15% e 0,11% no MBBR₁ e MBBR₂, respectivamente. Há apenas uma espécie reportada para esse gênero, conhecida como *Nitrolancea hollandica*, isolada de biorreator nitrificante com alta carga de bicarbonato de amônio como meio mineral e nitrito como fonte de energia (Sorokin *et al.*, 2014). *Nitrobacter*, gênero de BON frequentemente encontrado em sistemas de tratamento biológico (CERVANTES, 2009), não foram detectadas nesse estudo.

Com o objetivo de relacionar as UTOs detectadas com as eficiências de remoção de matéria orgânica (DQO e COD) e de amônio, concentrações de nitrato e nitrito no efluente, e tempo de ozonização do VR 239, uma análise multivariada por escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) é apresentada na Figura 63. Pode ser observado que o aumento da remoção de amônio e da concentração de nitrato (produto final da nitrificação) está relacionada com as UTOs no regime 7 e especialmente no regime 8, enquanto que o aumento da concentração de nitrito está relacionado aos perfis dos regimes 5 e 6, indicando a predominância de uma nitrificação parcial nesses regimes.

Os resultados enfatizam que a ausência dos produtos da ozonização do VR 239 no regime 8 proporciona um consórcio microbiano favorável à nitrificação, o que condiz com os resultados observados na análise dos perfis bacterianos dos regimes estudados e na elevada remoção de amônio (90%) obtida no regime 8.

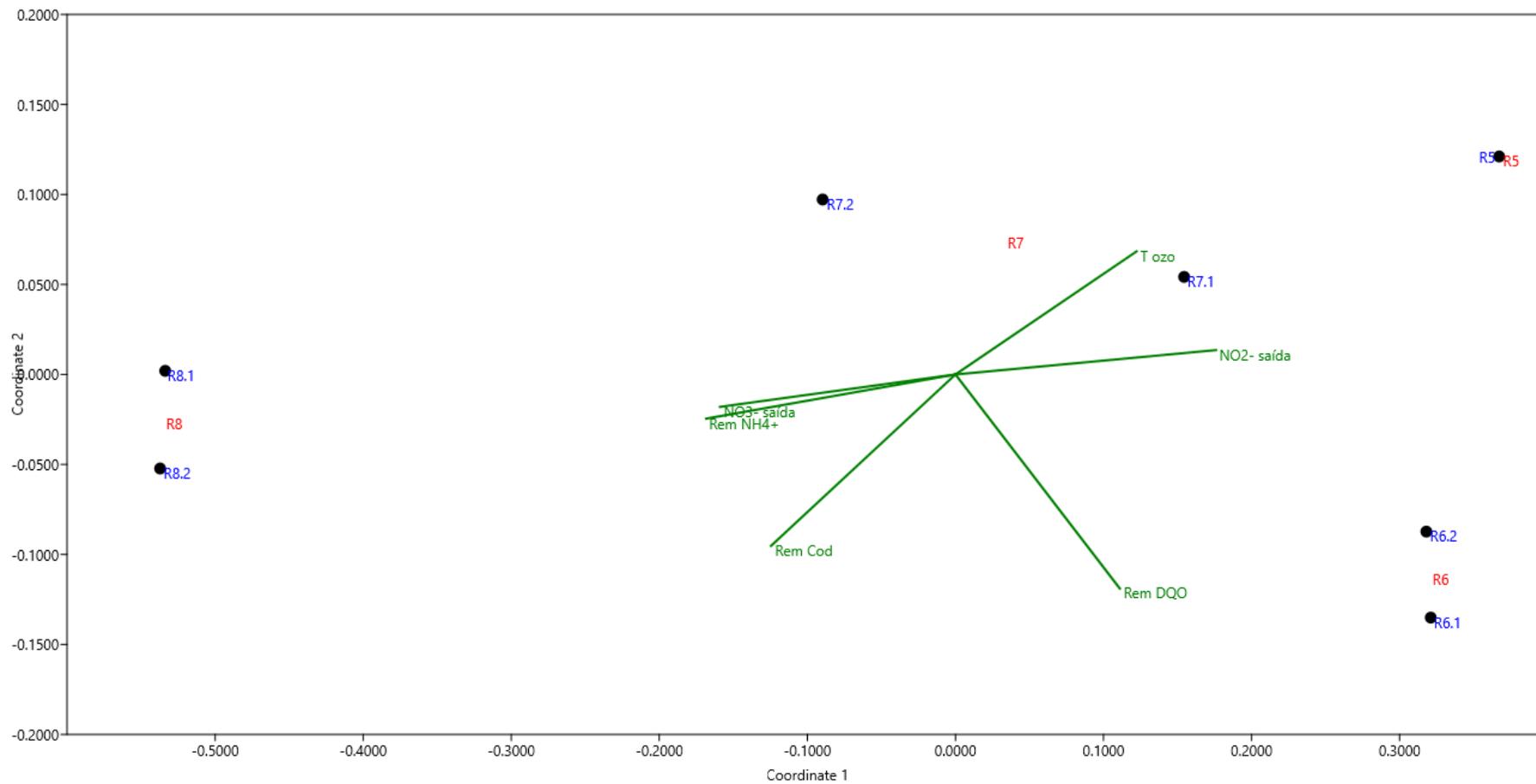


Figura 63 – Análise multivariada por escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) para os diferentes regimes operacionais nas Fases 1 e 2

6. CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES

Neste trabalho foi estudada a metabolização dos produtos gerados na ozonização do corante vermelho reativo 239 por processo biológico empregando a tecnologia MBBR.

A ozonização do corante VR 239 apresentou eficiência elevada, tendo sido obtida remoção completa de cor. O processo de ozonização apresentou remoções de DQO (62%) e COT (35%). Também foi observado um consumo crescente de O_3 após a remoção total de cor da solução de VR 239. Isso implica que a ozonização levou à decomposição da estrutura do corante e à quebra da ligação azo $-N=N-$, embora não tenha propiciado a mineralização completa dos compostos orgânicos a CO_2 e H_2O . Os percentuais de remoção de nitrogênio total (26%) e amônio (21%) sugerem a formação de nitrogênio gasoso, enquanto que o aumento na concentração de nitrato indica a formação oriunda da oxidação de amônio. A toxicidade da solução do corante VR 239 foi ausente após 4 min de ozonização. Os produtos da ozonização do corante VR 239, formados a partir da quebra das ligações $-N=N-$ e $-C-N-$, foram a anilina, fenol, catecol e 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-ol. A partir dos produtos de ozonização identificados, um mecanismo de reação com duas vias de degradação foi proposto.

Na Fase 1 de operação do MBBR, foi observado que o corante e seus produtos da ozonização causaram um efeito adverso aos micro-organismos do biofilme e houve uma pequena redução na remoção de matéria orgânica. Contudo, após determinado período, foi obtida uma remoção de DQO de 90%, indicando que o efluente sintético ozonizado é menos tóxico que o não ozonizado e que houve a adaptação das bactérias heterotróficas ao efluente ozonizado. Foi observada uma redução na remoção de amônio (40%) e grande parte desse (39%) foi convertido a nitrito, demonstrando que houve a completa inibição da nitratação. A nitrificação foi severamente afetada pelo corante VR 239 e seus produtos da ozonização, como os compostos triazínicos contendo cloro. No efluente do MBBR na Fase 1, foram identificados os compostos fenol, 1,3-dihidro-2-benzofurano-1,3-diol e o 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-ol, confirmando que os produtos da ozonização do VR 239 não foram metabolizados no MBBR. A metabolização ineficiente pode ter ocorrido devido à presença de compostos com elevada toxicidade no produto da ozonização do VR 239.

Na Fase 2, em que o sistema biológico foi dividido em dois reatores em série, a eficiência de remoção de matéria orgânica aumentou para 92% após o MBBR₁ e 94% após o MBBR₂. Contudo, quando o sistema foi alimentado com efluente sintético ozonizado por 20 min, as bactérias heterotróficas foram afetadas, havendo uma redução na remoção de DQO e COD. A remoção de nitrogênio amoniacal foi, em média, de 40%. Portanto, constatou-se que a mudança de um único reator na Fase 1 para dois reatores em série na Fase 2 e o aumento no tempo de ozonização não propiciaram melhorias no que tange à nitrificação. Testes posteriores com meio sintético desprovido de corante comprovaram que as bactérias nitrificantes foram inibidas por compostos oriundos da ozonização do corante VR 239, tais como o composto triazínico contendo cloro. Os produtos identificados no efluente dos MBBRs na Fase 2 indicam que houve a metabolização de alguns produtos da ozonização do corante VR 239 a ácido oxálico e formaldeído. Contudo, o ácido ftálico não foi degradado.

Os resultados da comunidade microbiana nos MBBRs das Fases 1 e 2 mostraram que os regimes durante os quais o sistema foi alimentado com os produtos da ozonização do corante VR 239 foram caracterizados por uma menor diversidade microbiana em relação ao regime usando apenas meio sintético. Também foi possível verificar a ausência de bactérias nitrificantes quando os MBBRs foram alimentados com os produtos da ozonização do corante VR 239.

No regime em que os MBBRs foram alimentados somente com meio sintético, foi observada a presença de organismos do gênero *Comamonas*, possivelmente relacionados à oxidação de amônio, e maior quantidade de organismos oxidadores de nitrito, particularmente do gênero *Nitrospira* e *Nitrolancea*, reforçando a hipótese que os subprodutos da ozonização do corante VR 239, especialmente o composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol, pode ter ocasionado inibição de bactérias nitrificantes quando os mesmos estiveram presentes na alimentação do sistema MBBR.

Considerando todos os resultados obtidos para o sistema MBBR nas Fases 1 e 2, o sistema de MBBRs em série apresentou melhores remoções de DQO, metabolização de alguns subprodutos da ozonização do VR 239 identificados e maior riqueza e diversidade microbiana.

Em suma, o estudo acerca da ozonização do corante VR 239 e a metabolização dos produtos da ozonização do VR 239 em reator biológico com biofilme mostrou que essa alternativa é eficiente para a remoção do corante VR 239. Contudo, o processo biológico aeróbio se mostrou frágil na presença de compostos como o 4-amino-6-cloro-

1,3,5-triazina-2-ol, que apresentou ser tóxico e inibidor da atividade das bactérias nitrificantes.

Para a continuidade aos estudos nesta linha de pesquisa, recomenda-se a realização de novos trabalhos com os seguintes objetivos:

- Avaliar a toxicidade do VR 239 após ozonização com outros organismos teste;
- Avaliar a toxicidade do efluente após o tratamento biológico;
- Quantificar a concentração do composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol após a ozonização do VR 239;
- Estudar a metabolização em sistema MBBR dos produtos do VR 239 com maior tempo de ozonização;
- Estudar a metabolização dos produtos da ozonização do VR 239 em sistema MBBR empregando tempos de retenção de hidráulica maiores;
- Fazer testes de inibição com o composto 4-amino-6-cloro-1,3,5-triazina-2-ol em diferentes concentrações para comprovação do seu efeito adverso ao consórcio nitrificante.

REFERÊNCIAS

- ABELING, U., SEYFRIED, C. F., 2012. Anaerobic-Aerobic treatment of high-strength ammonium wastewater – nitrogen removal via nitrite. *Water Science & Technology*, v. 26, n., 5-6, pp. 1007-1015.
- ABIT – Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção, 2013. Indústria Têxtil e de Confecção Brasileira – Cenário, desafios, perspectivas e demandas. Disponível em: < <http://abit-files.abit.org.br/site/publicacoes/cartilha.pdf>>. Acesso em: set. 2016.
- ABIT – Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção, 2013. Brasil: Consumo industrial de fibras e filamentos – 1970 a 2018. Disponível em: < <https://www.abit.org.br/uploads/arquivos/Consumo%20Industrial%20de%20Fibras%20e%20Filamentos%20-%201970%20a%202018%20-.pdf>>. Acesso em: out. 2019.
- ABNT, 2012. NBR 15411-3. Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão da bioluminescência de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente. Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas. Norma Brasileira, Rio de Janeiro, Brasil.
- ADABJU, S., 2013. Specific Moving Bed Biofilm Reactor for Organic Removal from Synthetic Municipal Wastewater. M.Sc. Thesis, University of Technology, Sydney, USA.
- ALMSTRAND, R. 2012. Biofilms in nitrogen removal: bacterial population dynamics and special distribution. Tese de Doutorado. Departamento de Química e Biologia Molecular. Universidade de Gotemburgo, Gotemburgo, Suécia.
- ALVARES, A. B. C., DIAPER C., PARSONS S.A., 2001. Partial Oxidation by Ozone to Remove Recalcitrance from Wastewaters - a Review *Environmental Technology*, v. 22, n.4, pp. 409-427.
- AMORIM, C. C., LEÃO, M. M. D., MOREIRA, R. F. P. M., 2009. Comparação entre diferentes processos oxidativos avançados para degradação de corante azo. *Eng. Sanit. Ambient.*, v. 14, n. 4, 543-550.
- ANTHONISEN, A. C., LOEHR, R. C., PRAKASAM, T. B. S., SRINATH, E. G. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control Fed*, v. 48, n. 5, pp. 835-852.
- APHA – American Public Health Association, 2005. Standard methods for examination of water and wastewater. 21^a ed., Washington D.C., USA.
- ARAVIND, P., SELVARAJ, H., FERRO, S., SUNDARAM, M., 2016. An integrated (electro and bio-oxidation) approach for remediation of industrial wastewater

containing azo-dyes: Understanding the degradation mechanism and toxicity assessment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 318, pp. 203-215.

- AYADI, I., SOUISSI, Y., Jlassi, I., PEIXOTO, F., MNIF, W., 2016. Chemical synonyms, molecular structure and toxicological risk assessment os synthetic textile dyes: A critical review. *Journal of Developing Drugs*, v. 5, pp. 151.
- BABU, B. R., PARANDE, A. K., RAGHU, S., KUMAR, T. P., 2007, Cotton Textile Processing: Waste Generation and Effect Treatment. *Journal of Cotton Science*, v. 11, pp. 141-153.
- BAÉZ, M.C.D., GRANADOS, Y.P., RONCO, A., SOBRERO, C., ROSSINI, G.B., FEOLA, G., FORGET, G., SÁNCHEZ-BAIN. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. pp. 179.
- BAHIA, M., PASSOS, F., ADARME, O. F. H., AQUINO, S. F., SILVA, S. Q., 2018. Anaerobic-aerobic combined system for the biological treatment of azo dye solution using residual yeast. *Water Enviroment Research*, v. 90, n. 8, pp. 729-737.
- BASSIN, J. P., KLEEREBEZEM, R., ROSADO, A. S., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., DEZOTTI, M., 2012. Effect of Different Operational Conditions on Biofilm Development, Nitrification, and Nitrifying Microbial Population in Moving-Bed Biofilm Reactors. *Environ. Sci. Technol.*, v. 46, pp. 1546-1555.
- BASSIN, J.P., DEZOTTI, M., 2008. Tratamento primário, secundário e terciário de efluentes. In: DEZOTTI M. Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos. Rio de Janeiro: E-papers.
- BAZIN, I., HASSINE, A., I. H., HAMOUDA, Y., H., MNIF, W., BARTEGI, A., LOPEZ-FERBER, M., WAARD, M. D., GONZALEZ, C. 2012. Estrogenic and anti-estrogenic activity of 23 commercial textile dyes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 85, pp. 131-136.
- BERNET, N., SPÉRANDIO, M. 2009. Principles of nitrifying processes. In: CERVANTES, F. J. Environmental technologies to treat nitrogen pollution. Londres, Inglaterra: IWA Publishing.
- BOCK, E., WAGNER, M. 2013. Oxidation of inorganic nitrogen compounds as an energy source. ROSENBERG, E., DELONG, E. F., LORY, S., STACHEBRANDT, E., THOMPSON, F. In: The prokaryotes: prokaryotic physiology and biochemistry. 4 ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- CALDERÓN, K., MARTÍN-PASCUAL, J., POYATOS, J. M., RODELAS, B., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, A., GONZÁLEZ-LÓPEZ, J., 2012. Comparative analysis of the bacterial diversity in a lab-scale moving bed biofilm reactor (MBBR) applied to treat urban wastewater under different operational conditions. *Bioresource Technology*, v. 121, pp. 119-126.

- CAO, S. M. S. 2014. Remoção biológica de matéria orgânica e nitrogênio de um efluente industrial em sistema de leito móvel com biofilme de dois estágios. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.
- CASTRO, F. D., BASSIN, J. P., DEZOTTI, M., 2016. Treatment of a simulated textile wastewater containing the Reactive Orange 16 azo dye by a combination of ozonation and moving-bed biofilm reactor: evaluating the performance, toxicity, and oxidation by-products. *Environ Sci. Pollut. Res*, v. 24, pp. 6307-6316.
- CERVANTES, F. J., 2009. Environmental technologies to treat nitrogen pollution. IWA Publishing.
- CHAGAS, M. A., 2009. Tratamento de efluente têxtil por processo físico-químico e biológico. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.
- CHEN, C., OUYANG, W., HUANG, S., PENG, X. 2018. Microbial community composition in a simultaneous nitrification and denitrification bioreactor for domestic wastewater treatment. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, v. 112, pp. 1-10.
- CHENGALROYEN, M. D., DABBS, E. R., 2013. The microbial degradation of azo dyes: mini review. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 29, pp. 389-399.
- CIRIK, K., KITAS, M., ÇINAR, Ö., 2013. Effect of nitrate on anaerobic azo dye reduction. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, v. 36, pp. 69-79.
- COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. 1997. Introdução a métodos cromatográficos. 7 ed. Campinas, SP: Editora da UNICAMP.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005. Resolução nº 357 de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente, Brasil.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2011. Resolução nº 430 de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Ministério do Meio Ambiente, Brasil.
- COSTA, M. C., MOTA, F. S. B., DOS SANTOS, A. B. 2012. Effect of dye structure and redox mediators on anaerobic azo and anthraquinone dye reduction. *Quim. Nova*, v. 35, nº 3, pp. 482-486.
- CRC HANDBOOK, 1985. Handbook of Chemistry and Physics. WEST, R. C., ASTLE, M. J., BEYER, W. H. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.

- DA SILVA, M. E. R., FIRMINO, P. I. M., DE SOUZA, M., R., DOS SANTOS, A. B., 2012. Sequential Anaerobic/Aerobic Treatment of Dye-Containing Wastewaters: Colour and COD Removals, and Ecotoxicity Tests. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v. 166, pp. 1057-1069.
- DE SOUZA, S. M. A. G. U., BONILLA, K. A. S. DE SOUZA, A. A. U., 2010. Removal of COD and color from hydrolized textile azo dye by combined ozonation and biological treatment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 179, pp. 35-42.
- DERAKHSHAN, Z., EHRAPOUSH, M. H., MAHVI, A. H., GHANEIAN, M. T., MAZLOOMI, S. M., FARAMARZIAN, M., DEGHANI, M., FALLAHZADEH, H., YOUSEFINEJAD, S., BERIZI, E., BAHRAMI, S. 2018. Biodegradation of Atrazine from Wastewater using moving bed biofilm reactor under nitrate-reducing conditions: a kinetic study. *Journal of Environ. Management*, v. 212, pp. 506-513.
- DEVPURA, N., JAIN, K., PATEL, A., JOSHI, C. G., MADAMWAR, D., 2017. Metabolic potential and taxonomic assessment of bacterial community of an environmental to chronic industrial discharge. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 123, pp. 216-227.
- EDEFELL, E., 2017. Challenges during start-up of urine nitrification in na MBBR. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química, Universidade de Lund, Lund, Suécia.
- EPA, 2013. Atrazine Updates. Disponível em: https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/html/atrazine_update.html. Acesso em: dez 2016.
- FERNÁNDEZ-PIÑAS, F., RODEA-PALOMARES, I., LEGANÉS, F., GONZÁLEZ-PLEITER, M., MUÑOZ-MARTÍN, A., 2014. Evaluation of the Ecotoxicity of Pollutants with Bioluminescent Microorganisms. *Bioluminescence: Fundamentals and Applications in Biotechnology*. In: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v. 2, pp. 65-135.
- FERREIRA, E. S. 2000. Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e denitrificação biológica. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre.
- FITZGERALD, C.M., CAMEJO, P., OSHLAG, J.Z., NOGUERA, D.R., 2015. Ammonia-oxidizing microbial communities in reactors with efficient nitrification at low-dissolved oxygen. *Water Research*, v. 70, pp. 38–51.
- FONSECA, D. L., 2016. Desempenho de sistemas MBBR em diferentes condições de recheio e vazão: estudo em escala piloto e laboratorial. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

- FORD, D. L., CHURCHWEL, R. L., KACHTICK, J. W. 1980. Comprehensive analysis of nitrification of chemical processing wastewaters. *J. Water Pollut Control Fed.*, v. 52, pp. 2726 – 2746.
- FORSS, J., LINDH, M. V., PINHASSI, J., WELANDER, U., 2017. Microbial biotreatment of actual textile Wastewater in a continuous sequential rice husk biofilter and the microbial community involved. *Plos One*, v. 12, n. 1, pp. 1-16.
- FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURÁN, N.; PERALTA-ZAMORA, P., 2000. Novas Tendências para o Tratamento de Resíduos Industriais Contendo Espécies Organocloradas. *Química Nova*, v. 23, n. 4, p. 504–511.
- FUJITA, R. M. L., JORENTE, M. J., 2015. A Indústria Têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural. *Moda Palavra e-Periódico*, v. 8, n. 15, pp. 153-174.
- GHALY, A. E., ANANTHASHANKAR, R., ALHATTAB, M., RAMAKRISHNAN, V. V., 2014. Production, characterization and treatment of textile effluents: A critical review. *Chem. Eng. Process. Technol.*, v. 5, pp. 1-19.
- GHOSH, P. K., PHILIP, L., 2006. Environmental significance of atrazine in aqueous systems and its removal by biological processes: An overview. *Global NEST Journal*, v. 8, n. 2, pp. 159-178.
- GOODE, C., 2010. Understanding Biosolids Dynamics in a Moving Bed Biofilm Reactor. Tese de Doutorado., Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canadá.
- GOTTSCHALK, C., LIBRA, J. A., SAUPE, A., 2000. Ozonation of water and wastewater: a practical guide to understand ozone and its application. Wiley-VCH, Weinheim.
- GUARANTINI, C.C.I. E ZANONI, M.V.B., 2000. Corantes Têxteis. *Química Nova*, v. 23, n. 1, pp. 71-78.
- GÜNES, Y., ATAV, R., NAMIRTI, O., 2012. Effectiveness of ozone in decolorization of reactive dye effluents depending on the dye chromophore. *Textile Research Journal*, v. 82, n. 10, pp. 994-1000.
- HE, Y., BISHOP, P., 1994. Effect of acid orange 7 on nitrification process. *J. Environ. Eng.*, v. 120, pp. 108-121.
- HOCKENBURY, M. R., GRADY, C. P. L., 1977. Inhibition of nitrification-effects of selected organic compounds. *Water Pollution Control Federation*, v. 49, n. 5, pp. 768-777.
- HONG, S., CHOI, I., LIM, B. J., KIM, H. 2012. A DO and pH based early warning system of nitrification inhibition for biological nitrogen removal processes. *Sensors*, v. 12, pp. 16334-16352.

- HORIKOSHI, S., HIDAKA, H., 2003. Non-degradable triazine substrates of atrazine and cyanuric acid hydrothermally and in supercritical water under the UV-illuminated photocatalytic cooperation. *Chemosphere*, v. 51, pp. 139-142.
- HUANG, S.; DIYAMANDOGLU, V.; FILLOS, J., 1993. Ozonation of leachates from aged domestic landfills. *Ozone Science & Engineering*, v. 15, pp. 433-444.
- IARC – International Agency for Research on Cancer, 2010. Some aromatic amines, organic dyes and related exposures, v. 99, Lyon, França.
- IBRAHIM, Z., AMIN, M. F. M., YAHYA, A., ARIS, A., UMOR, N. A., MUDA, K., SOFIAN, S., 2009. Characterization of microbial flocs formed from raw textile Wastewater in aerobic biofilm reactor (ABR). *Water Science & Technology*, v. 60, n. 3, pp. 683-688.
- JAFFE, D. A. 2000. The nitrogen cycle. *Earth System Science*, v.72, pp. 322 – 342.
- JIANG, Y., WEI, L., YANG, K., WANG, H., 2019. Investigation of rapid granulation in SBRs treating aniline-rich wastewater with different aniline loading rates. *Science of the Total Environment*, v. 646, pp. 841-849.
- JIN, D., WANG, P., BAI, Z., JIN, B., YU, Z., WANG, X., ZHUANG, G., ZHANG, H. 2013. *Terrimonas pekingensis* sp. nov., isolated from bulking sludge, and emended descriptions of the genus *Terrimonas*, *Terrimonas ferruginea*, *Terrimonas lutea* and *Terrimonas aquatica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 63, pp. 1658-1664.
- JUNGTANASOMBUT, W., PREEPREM, P., KOVITVADHI, S., KOVITVADHI, U., HANNONGBUA, S., 2014. Effects of Reactive Red 239 on developing Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. *Kasetsart Journal: Natural Science*, v. 48, pp. 619-628.
- KANT, R., 2012. Textile dyeing industry an environmental hazard. *Natural Science*, v. 4, pp. 22-26.
- KARATAS, M., DURSUN, S., ARGUN, M. E., 2010. The Decolorization of Azo Dye Reactive Black 5 in a Sequential Anaerobic-Aerobic System. *Ekoloji*, v. 19, n. 74, pp. 15-23.
- KARKMAZ, M., PUZENAT, E., GUILLARD, C., HERRMANN, J. M., 2004. Photocatalytic degradation of the alimentary azo dye amaranth mineralization of the azo group to nitrogen. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 51, pp. 183-194.
- KHADHRAOUI, M., TRABELSI, H., KSIBI, M., BOUGUERRA, S., ELLEUCH, B., 2009. Discoloration and detoxification of a Congo red dye solution by means of ozone treatment for a possible water reuse. *Journal Hazourds Materials*, v. 161, pp. 974-981.

- KHAN, M. Z., SINGH, S., SULTANA, S., SREEKRISHNAN, T. R., AHAMMAD, S., Z., 2015. Studies on the biodegradation of two different azo dyes in bioelectrochemical systems. *New J. Chem.*, v. 39, pp. 5597-5604.
- KIM, B., SHIN, J., GUEVARRA, R. B., LEE, J. H., KIM, D. W., SEOL, K., LEE, J., KIM, H. B., ISAACSON, R. E., 2017. Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 27, n. 12, pp. 2089-2093.
- KNIE, J. L. W., LOPES, E. W. B., 2004. Testes ecotoxicológicos, métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ, p. 298.
- KOUPAIE, E. H., MOGHADDAM, M. R. A., HASHEIM, S. H., 2011. Post-treatment of anaerobically degraded azo dye Acid Red 18 using aerobic moving bed biofilm process: Enhanced removal of aromatic amines. *Journal of Hazardous Materials*, v. 195, pp. 147-154.
- KUNDU, P., PRAMANIK, A., MITRA, S., CHOUDHURY, J. D., MUKHERJEE, J., MUKHERJEE, S. 2012. Heterotrophic nitrification by *Achromobacter xylosoxidans* S18 isolated from a small-scale slaughterhouse wastewater. *Bioprocess Biosyst Eng.*, v. 35, pp. 721-728.
- KURADE, M. B., WAGHMODE, T. R., KAGALKAR, A. N., GOVINDWAR, S. P., 2012. Decolorization of textile industry effluents containing disperse dye Scarlet RR by a newly developed bacterial-yeast consortium BL-GG. *Chemical Engineering Journal*, v. 184, pp. 33-41.
- LACASSE, K., BAUMANN, W., 2004. Textile chemicals: environmental data and facts. Dortmund: Springer.
- LANGLAIS, B., RECKHOW, D. A., BRINK, D. R., 1991. Ozone in water treatment: Application and engineering. Boca Raton: Lewis Publishers, Florida, USA.
- LENNTech. 2016. Disponível em: <http://www.lenntech.com/library/ozone/history/ozone-history.htm>. Acesso: set 2016.
- LEYVA-DÍAZ, J.C., CALDERÓN, K., RODRÍGUEZ, F.A., GONZÁLEZ-LÓPEZ, J., HONTORIA, E., POYATOS, J.M., 2013. Comparative kinetic study between moving bed biofilm reactor-membrane bioreactor and membrane bioreactor systems and their influence on organic matter and nutrients removal. *Biochemical Engineering Journal*, v. 77, pp. 28– 40.
- LI, S., CHENG, W., WANG, M., CHEN, C., 2011. The flow patterns of bubble plume in an MBBR. *Journal of Hydrodynamics*, v. 23, n. 4, pp 510-515.
- LIMA, P. S. 2015. Avaliação do efeito da carga orgânica na operação de um sistema MBBR de dois estágios visando a remoção de matéria orgânica e nitrogênio. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

- LÓPEZ, A. 2004. Etude du transfert et de la réactivité de l'ozone appliqués au traitement des eaux résiduaires de l'industrie textile. Tese de Doutorado. INSA, Toulouse, França.
- LU, X., YANG, B., CHEN, J., SUN, R., 2009. Treatment of wastewater containing azo dye reactive brilliant red X-3B using sequential ozonation and upflow biological aerated filter process. *Journal of Hazardous Materials*, v. 161, pp. 241-245.
- LUO, Y. 2014. A Spoge-based Moving Bed Bioreactor for Micropollutant Removal from Municipal Wastewater. M.Sc. Thesis, University of Technology, Sydney, USA.
- MA, X. Y., WANG, X. C., NGO, H., H., GUO, W., WU, M. N., WANG, N., 2014. Bioassay based luminescent bacteria: Interferences, improvements, and applications. *Science of the Total Environment*, v. 1, n. 11, pp. 468-469.
- MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., BENDER, K. S., BUCKLEY, D. H., STAHL, D. A., 2016. *Microbiologia de Brock*. 14 ed. Porto Alegre, Artmed.
- MAJORS, R. E. 2013. Sample preparation fundamentals for chromatography. Agilent Technologies. Disponível em: https://www.agilent.com/cs/library/primers/Public/5991-3326EN_SPHB.pdf. Acesso em: jan 2018.
- MARTINS, C. R.; PEREIRA, P. A. P.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. 2003. Ciclos globais de carbono, nitrogênio e enxofre: a importância na química da atmosfera. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*. n. 5, p. 34 – 36.
- MCCARTHY, G. W. 1999. Modes of action of nitrification inhibitors. *Biol. Fertil. Soils*, v. 29, pp. 1-9.
- MENDA, M., 2011. Corantes e pigmentos. Disponível em: http://www.crq4.org.br/quimicaviva_corantespigmentos. Acesso em: set 2016.
- MONTAÑO, J. G., DOMÈNECH, X., GARCÍA-HORTAL, J. A., TORRADES, F., PERAL, J., 2008. The testing of several biological and chemical coupled treatments for Cibacron Red FN-R azo dye removal. *Journal of Hazardous Materials*, v. 154, pp. 484-490.
- NAIMABADI, A., ATTAR, H. M., SHAHSAVANI, A., 2009. Decolorization and biological degradation of azo dye reactive red2 by anaerobic/aerobic sequential process. *Iran J. Environ. Health Sci. Eng.*, v. 6, n. 2, pp. 67-72.
- ODEGAARD, H., 2006. Innovations in wastewater treatment - the moving bed biofilm process. *Water Science & Technology*, v. 53, n. 9, pp. 17-33.
- ONG, S., UCHIYAMA, K., INADAMA, D., ISHIDA, Y., YAMAGIWA, K., 2010. Treatment of azo dye Acid Orange 7 containing wastewater using up-flow

constructed wetland with and without supplementary aeration. *Bioresource Technology*, v. 101, pp. 9049-9057.

PANDEY, A., SINGH, P., IYENGAR, L., 2007. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 59, pp. 73-84.

PATHAK, N., LI, S., KIM, Y., CHEKLI, L., PHUNTSHO, S., JANG, A., GHAFFOUR, N., LEIKNES, T., SHON, H. K. 2018. Assessing the removal of organic micropollutants by a novel baffled osmotic membrane bioreactor-microfiltration hybrid system. *Bioresource Technology*, v. 262, pp. 98-106.

PEARCE, C. I., LLOYD, J. R., GUTHRIE, J. T., 2003. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. *Dyes and Pigments*, v. 58, pp. 179-196.

PIZATO, E., LOPES, A. C., ROCHA, R. D. C., BARBOSA, A. M., CUNHA, M. A. A., 2017. Caracterização de efluente têxtil e avaliação da capacidade de remoção de cor utilizando o fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI. *Eng. Sanit. Ambient.*, v. 22, n. 5, pp. 1027-1035.

POPLI, S., PATEL, U., 2015. Destruction of azo dyes by anaerobic-aerobic sequential biological treatment: a review. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, v. 12, n. 1, pp. 405-420.

PÜNTENER, A., PAGE, C., 2004. European Ban on Certain Azo Dyes. Disponível em: http://wwot.destcorp.com/documents/Azo_Dye_Information.pdf. Acesso em: 20 mar 2018.

PUNZI, M., 2015. Treatment of Textile Wastewater by Combining Biological Processes and Advanced Oxidation. Tese de Ph.D, Faculty of Engineering, Lund University, Suécia.

PUTREAU, D., DAVISON, J., BERNET, N., MOLETTA, R. 1994. Denitrification under various aeration conditions in *Comamonas* sp., strain SGLY2. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 14, pp. 71-78.

REDDY, C. N., KUMAR, A. N., MOHAN, S. V., 2018. Metabolic phasing of anoxic-PDBR for high rate treatment of azo dye wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, v. 343, pp. 49-58

RICE, R. G., 1996. Applications of ozone for industrial wastewater treatment - A review. *Ozone: Science & Engineering. The Journal of the International Ozone Association*, v. 18, n. 6, pp. 477-515.

ROTT, U., R. MINKE, 1999. Overview of wastewater treatment and recycling in the textile processing industry. *Water Sci. Technol.*, v. 40, pp. 37-144.

- SANCHIS, S., POLO, A. M., TOBAJAS, M., RODRIGUEZ, J. J. 2014. Strategies to evaluate biodegradability: application to chlorinated herbicides. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, v. 21, pp. 9445-9452.
- SARATALE, R.G., SARATALE, G.D., CHANG, J.S., GOVINDWAR, S.P., 2011. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 42, pp. 138-157.
- SCHAEFER, B. 2014. Natural products in the chemical industry. Berlin: Springer.
- SHAAR, H., CLARA, M., GANS, O., KREUZINGER, N., 2010. Micropollutant removal during biological wastewater treatment and a subsequent ozonation step. *Environmental Pollution*, v. 158, 1399-1404.
- SHEN, Y., XU, Q., WEI, R., MA, J., WANG, Y., 2017. Mechanism and dynamic study of reactive red X-3B dye degradation by ultrasonic-assisted ozone oxidation process. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 38, pp. 681-692.
- SIGALA, J., UNC, A., 2013. Pyrosequencing estimates of the diversity of antibiotic resistant bacteria in a wastewater system. *Water Science & Technology*, v. 67, n. 7, pp. 1534-1543.
- SILVA, A.C., PIC, J.S., SANT'ANNA JR., G.L., DEZOTTI, M., 2009. Ozonation of azo dyes (Orange II and Acid Red 27) in saline media. *Journal of Hazardous Materials*, v. 169, pp. 965-971.
- SINDIMALHAS, 2004. Disponível em: http://www.sindimalhas.com.br/estudos_conteudo,14,6.html. Acesso: 22 jan 2017.
- SINHA, B. ANNACHHATRE, A. P. 2007. Partial nitrification – operational parameters and microorganisms involved. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* v. 6, pp. 285-313.
- SOLÍS, M., SOLÍS, A., PEREZ, H. I., MANJARREZ, N., FLORES, M., 2012. Microbial decoloration of azo dyes: A review. *Process Biochemistry*, v. 47, pp. 1723-1748.
- SONG, S., YING, H., HE, Z., CHEN, J., 2007. Mechanism of decolorization and degradation of CI Direct Red 23 by ozonation combined with sonolysis. *Chemosphere*, v. 66, pp. 1782-1788.
- SOROKIN, D.Y., VEJMEJKOVA, D., LÜCKER, S., STRESHINSKAYA, G.M., RIJPSMA, W.I., SINNINGHE, DAMSTÉ, J.S., KLEERBEZEM, R., VAN LOOSDRECHT, M., MUYZER, G., DAIMS, H. *Nitrolancea hollandica* gen. nov., sp. nov., a chemolithoautotrophic nitrite-oxidizing bacterium isolated from a bioreactor belonging to the phylum Chloroflexi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 64, pp. 1859-1865.
- SPAGNI, A., GRILLI, S., CASU, S., MATTIOLU, D., 2010. Treatment of a simulated textile wastewater containing the azo-dye reactive orange 16 in an anaerobic-

biofilm anoxiceaerobic membrane bioreactor. *International Biodegradation & Biodegradation*, v. 64, pp. 676-681.

STAEHELIN, J., HOIGNE, J. 1985. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environmental Science Technology*, v. 19, pp. 1206-1213.

SWISSA, N., NITZAN, Y., ANKER, Y., CAHAN, R. 2015. Biofilter based on a biofilm immobilized on geo-textile sheets for rapid atrazine biodegradation. *Int. Biodeterior. & Biodegradation*, v. 105, pp. 146-152.

TAL, Y., WATTS, J.E.M., SCHREIER, S.B., SOWERS, K.R., SCHREIERA, H.J., 2003. Characterization of the microbial community and nitrogen transformation processes associated with moving bed bioreactors in a closed recirculated mariculture system. *Aquaculture*, v. 215, pp. 187–202.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D., 2003. Wastewater engineering: treatment and reuse. 4 ed, McGraw Hill.

TEBBUTT, T. H. Y. 1998. Principles of water quality control. 5 ed. Oxford, Reino Unido: Butterworth-Heinemann.

TEIXEIRA, C. P. de A. B., JARDIM, W. de F.; 2004. Processos Oxidativos Avançados: conceitos teóricos. Caderno Temático. UNICAMP – Instituto de Química/LQA, Campinas, v. 3, pp. 83.

TIZAOUI, C., GRIMA, N., 2011. Kinetics of the ozone oxidation of Reactive Red 16 ado-dye in aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*, v. 173, pp. 463-473.

TOMLINSON, T. G., BOON, A. G., TROTMAN, G. N. A., 1966. Inhibition of nitrification in the activated sludge process of sewage disposal. *J. Appl. Bact.*, v. 29, n. 2, pp. 266-201.

TURHAN, K., OZTURKCAN, S. A., 2013. Decolorization and Degradation of Reactive Dye in Aqueous Solution by Ozonation in a Semi-batch Bubble Column Reactor. *Water, Air & Soil Pollution*, v. 224, pp.1353.

VAN DER ZEE, F. P., VILLAVARDE, S., 2005. Combined anaerobic–aerobic treatment of azo dyes - A short review of bioreactor studies. *WaterResearch*, v. 39, pp. 1425–1440.

VELOSO, L. A., 2012. Corantes e Pigmentos. Instituto de Tecnologia do Paraná – Dossiê Técnico.

VON SONNTAG, C., VON GUNTEN, U., 2012. Chemistry of ozone in water and Wastewater treatment: from basic principles to applications. IWA Publishing, Londres.

- VON SPERLING, M., 1996. Princípios básicos de tratamento de esgotos. Belo Horizonte, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais.
- WANG, J., QIAO, M., WEI, K., DING, J., LIU, Z., ZHANG, K., HUANG, X., 2011. Decolorizing activity of Malachite Green and its mechanisms involved in dye biodegradation by *Achromobacter xylocoxidans* MG1. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, v. 20, pp. 220-227.
- WONG-CHONG, G. M., LOEHR, R.C. 1978. Kinetics of microbial nitrification: nitrite-nitrogen oxidation. *Water Res.* v. 12, pp. 605 – 609.
- XAVIER, J. B., PICIOREANU, C., ALMEIDA, J. S., VAN LOOSDRESCHT, M. C. M., 2003. Monitorização e modelação de estrutura de biofilmes, *Biomatemática – Modelação da estrutura de biofilmes. Boletim de Biotecnologia*, n. 76, pp. 2-13.
- XIAN-BING, Z., WEN-YI, D., FEI-YUN, S., WEI, Y., JIAO, D., 2014. Degradation efficiency and mechanism of azo dye RR2 by a novel ozone aerated internal micro-electrolysis filter. *Journal of Hazardous Materials*, v. 276, pp. 77-87.
- XIE, X., LIU, N., YANG, B., YU, C., ZHANG, Q., ZHENG, X., XU, L., LI, R., LIU, J., 2016. Comparison of microbial community in hydrolysis acidification reactor depending on different structure dyes by Illumina MiSeq sequencing. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 111, pp. 14-21.
- YIXIN, Y., HONGBIN, C., PAI, P., HONGMIAO, B., 2014. Degradation and transformation of atrazine under catalysed ozonation process with TiO₂ as catalyst. *Journal of Hazardous Materials*, v. 279, pp. 444-451.
- YOUNG, B. 2017. Nitrifying MBBR performance optimization in temperate climates through understanding biofilm morphology and microbiome. Tese de Doutorado. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Ottawa, Ottawa, Canada.
- YUN, L., YU, Z., LI, Y., LUO, P., JIANG, X., TIAN, Y., DING, X., 2019. Ammonia nitrogen and nitrite removal by a heterotrophic *Sphingomonas* sp. strain LPN080 and its potential application in aquaculture. *Aquaculture*, v. 500, 477–484.
- YUSUFF, R. O., SONIBARE, J. A., 2004. Characterization of textile industries' effluents in Kaduna, Nigeria and pollutions implications. *Journal Global Nest*, v. 6, n. 3, pp. 212-221.
- ZAHARIA C., SUTEU D., 2012. Textile Organic Dyes – Characteristics, Polluting Effects and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents – A Critical Overview. *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update*, pp. 55-86.
- ZHANG, B., XU, X., ZHU, L., 2018. Activated sludge bacterial communities of typical wastewaters treatment plants: distinct genera identification and metabolic potential differential analysis. *AMB Express*, v. 8, pp. 1-14.

- ZHANG, F., YEDILER, A., LIANG, X., 2007. Decomposition pathways and reaction intermediate formation of the purified, hydrolysed azo reactive dye C.I. Reactive Red 120 during ozonation. *Chemosphere*, v. 67, pp. 712-717.
- ZHANG, K., CAO, X., SHENG, Y., CAO, H., 2014. Spatial distribution of bacterial community in EGSB reactor treating synthetic sulfate-containing wastewater at low organic loading rate. *Chinese Science Bulletin*, v. 59, n. 1, pp. 54-61.
- ZHANG, R., YUAN, D., LIU, B., 2015. Kinetics and products of ozonation of C. I. Reactive Red 195 in a semi-batch reactor. *Chinese Chemical Letters*, v. 26, pp. 93-99.
- ZHANG, T. C., FU, Y. C., BISHOP, P. L., KUPFERLE, M., FITZGERALD, S., JIANG, H. H., HARMER, C., 1995. Transport and biodegradation of toxic organics in biofilms. *Journal of Hazardous Materials*, v. 41, pp. 267-285.
- ZHAO, Y., JIANG, B., TANG, X., LIU, S. 2019. Metagenomic insights into functional traits variation and coupling effects on the anammox community during reactor start-up. *Science of the Total Environment*, v. 687, pp. 50-60.
- ZHAO, W., SHI, H., WANG, D., 2004. Ozonation of Cationic Red X-GRL in aqueous solution: degradation and mechanism. *Chemosphere*, v. 57, pp. 1189-1199.
- ZHENG, Q., DAI, Y., HAN, X., 2016. Decolorization of azo dye C.I. Reactive Black 5 by ozonation in aqueous solution: influencing factors, degradation products, reaction pathway and toxicity assessment. *Water Science & Technology*, v. 73, n. 7, pp. 1500-1510.
- ZHU, Y., XU, J., CAO, X., CHENG, Y., ZHU, T., 2018. Characterization of functional microbial communities involved in diazo dyes decolorization and mineralization stages. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 132, pp. 166-177.

APÊNDICE A

A.1. Curvas cinéticas de remoção de cor do VR 239 por ozônio

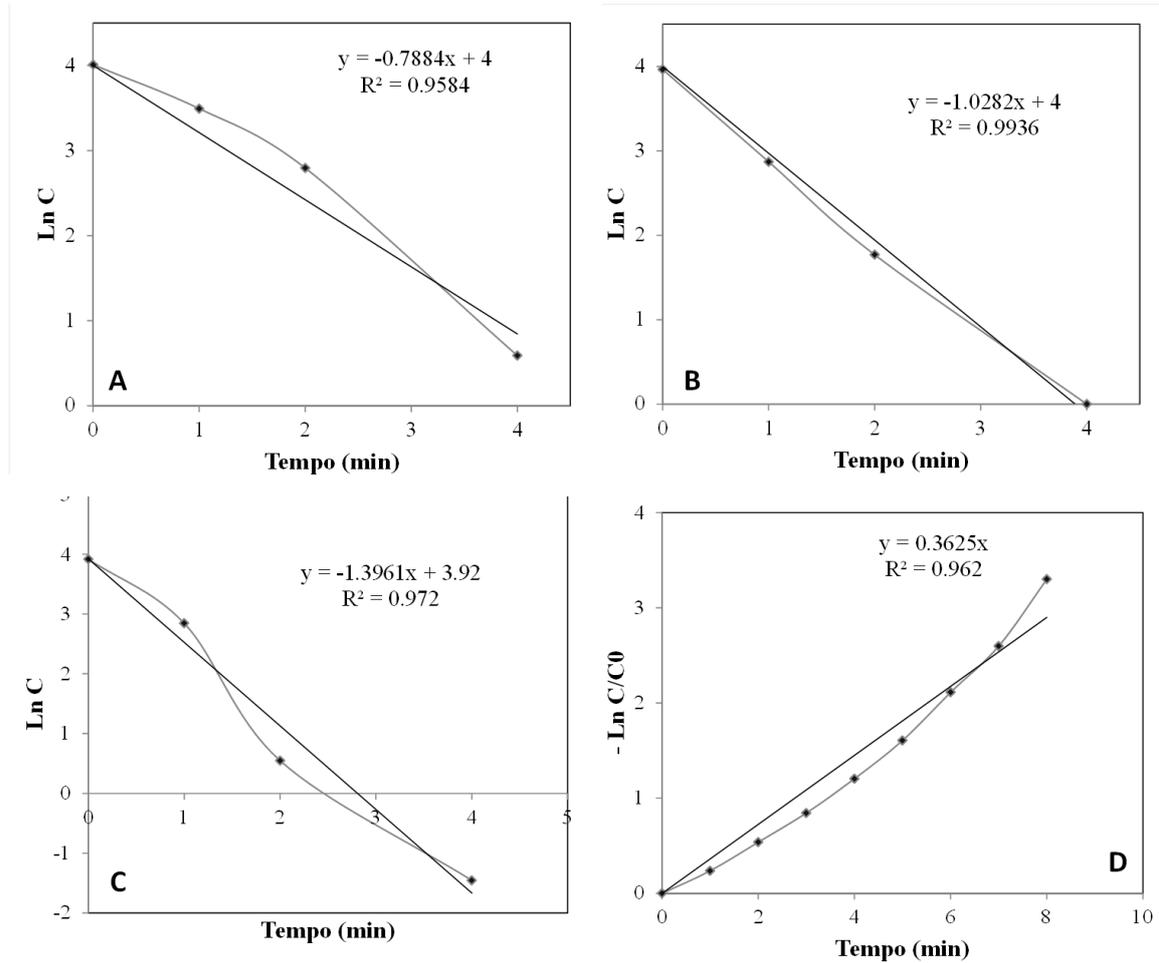


Figura A1 – Curvas cinéticas de remoção de cor do corante vermelho reativo 239 por ozonização nas concentrações de 50 mgVR239/L, 40 mgO₃/L para pH 3 (A), pH 7 (B), pH 10 (C) e pH 7 e 20 mgO₃/L (D)

A.2. Espectros de massas do anel triazínico identificado

Amostra2_ACN_NH3OH_Neg#1 RT: 0.09 AV: 1 NL: 1.41E7
T: FTMS - p.EST Full ms [50.00-400.00]

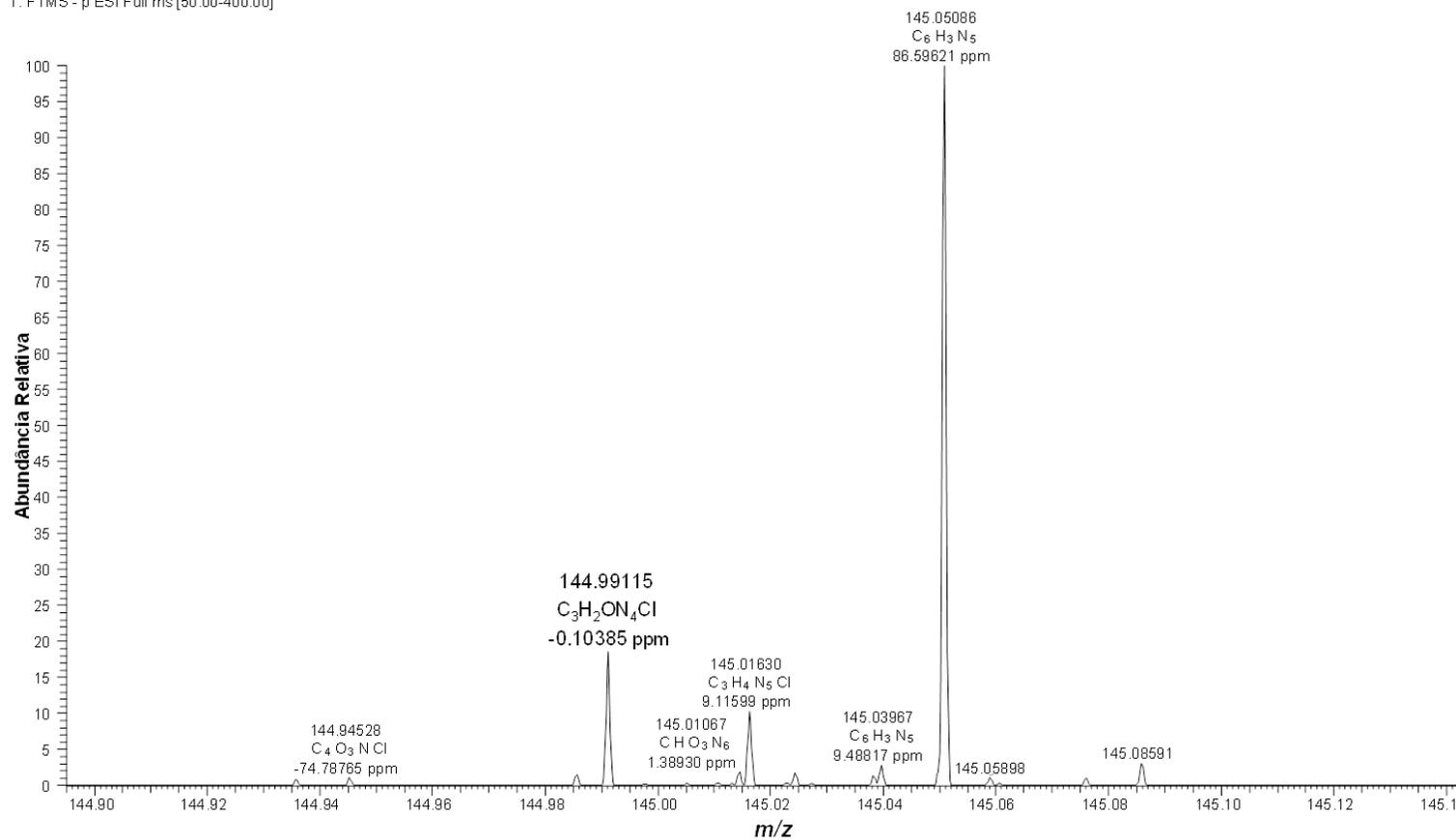


Figura A2 – Espectro de massas de alta resolução do anel triazínico após ozonização do VR 239 nas concentrações de 50 mgVR239/L e 20 mgO₃/L

0113_Natalia_1_neg#1-49 RT: 0.01-0.42 AV: 49 NL: 1.94E6
T: FTMS - p ESI Full ms [65.00-800.00]

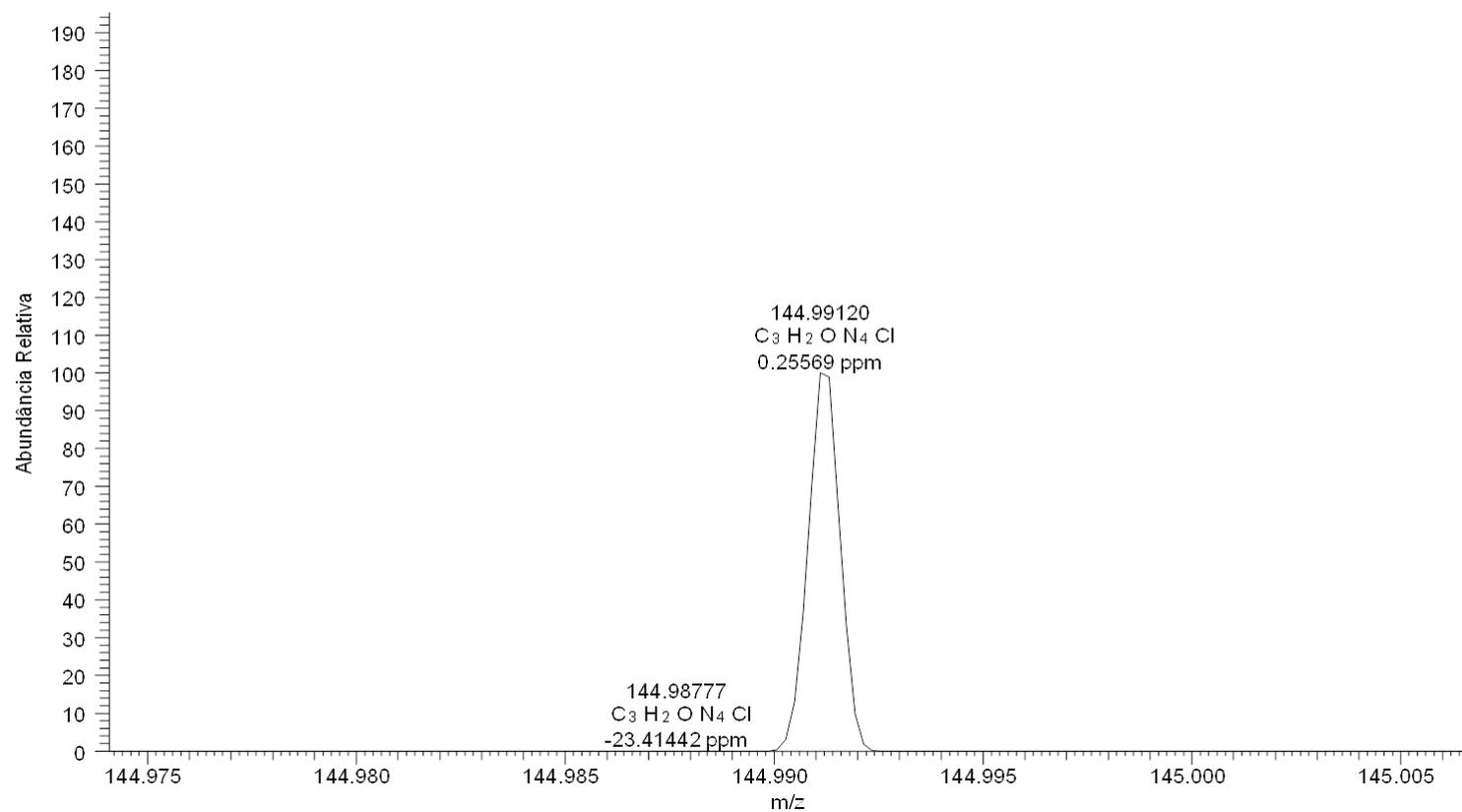


Figura A3 – Espectro de massa do anel triazínico formado na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelo MBBR no regime 5 da Fase 1

0114_Natalia_2_neg #1 RT: 0.01 AV: 1 NL: 4.08E6
T: FTMS - p ESI Full ms [65.00-800.00]

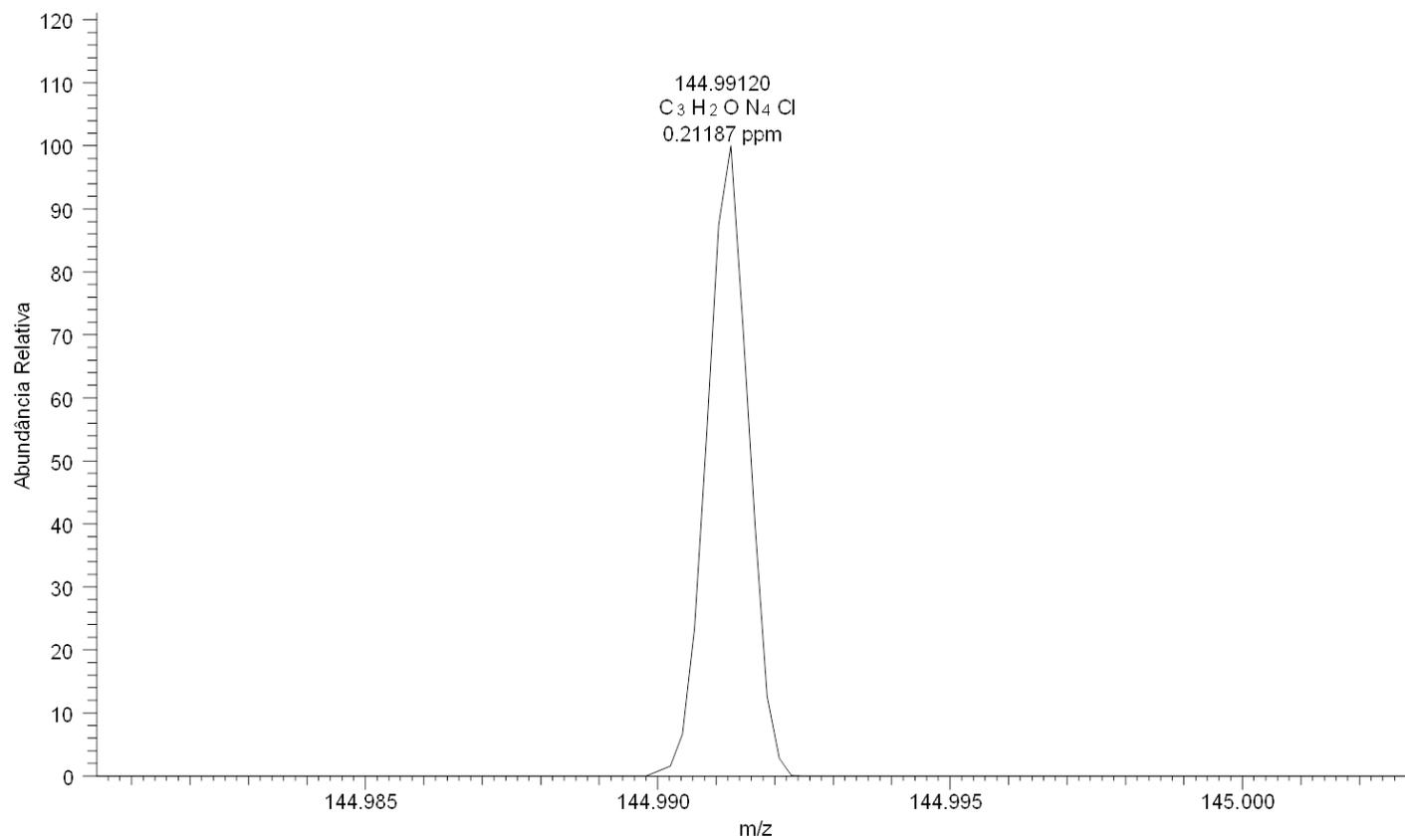


Figura A4 – Espectro de massa do anel triazínico formado na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelos MBBRs em série no regime 6 da Fase 2

0115_Natalia_3_neg #1 RT: 0.01 AV: 1 NL: 3.76E6
T: FTMS - p ESI Full ms [65.00-800.00]

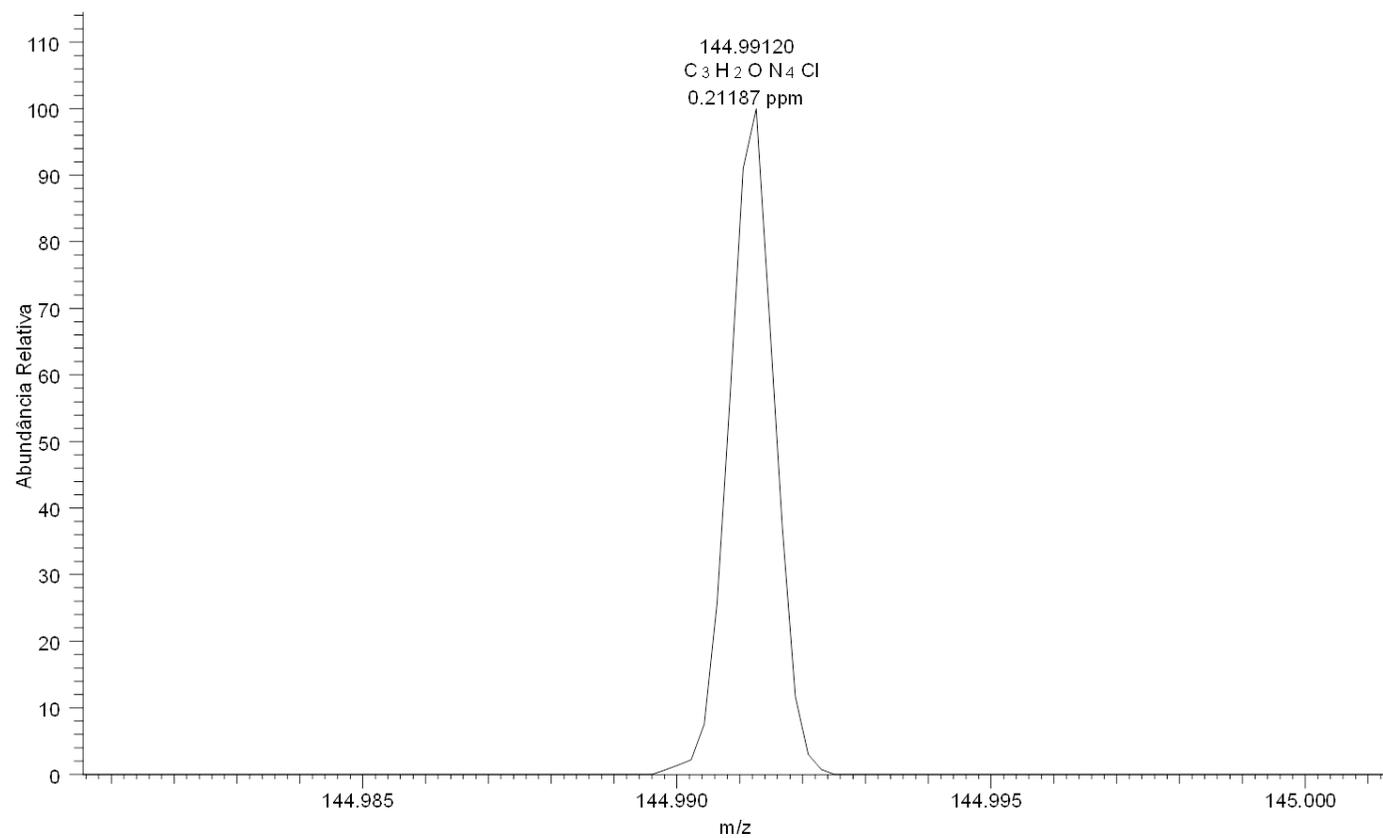


Figura A5 – Espectro de massa do anel triazínico formado na ozonização do VR 239 após o processo biológico pelos MBBRs em série no regime 7 da Fase 2