



Universidade Federal  
de Ouro Preto

**Universidade Federal de Ouro Preto**  
**Programa de Pós-Graduação Engenharia Ambiental**  
**Mestrado em Engenharia Ambiental**

**Imobilização do mediador redox  
riboflavina em fibra de celulose para  
degradação anaeróbia do azo corante amarelo  
ouro remazol RNL**

**Luide Rodrigo Martins**

Ouro Preto, MG  
2012

Universidade Federal de Ouro Preto  
Programa de Pós-Graduação Engenharia Ambiental  
Mestrado em Engenharia Ambiental



**UFOP**

Universidade Federal  
de Ouro Preto

**Luide Rodrigo Martins**

**Imobilização do mediador redox riboflavina em  
fibra de celulose para degradação anaeróbica do azo  
corante amarelo ouro remazol RNL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título: “Mestre em Engenharia Ambiental.”

Área de Concentração: “Tecnologia Ambiental”

Orientador: Prof. Dr. Laurent Frederic Gil  
Co-orientador: Prof. Dr. Sérgio Francisco de Aquino

Ouro Preto, MG  
2012

M386i

Martins, Luide Rodrigo.

Imobilização do mediador redox riboflavina em fibra de celulose para  
degradação anaeróbica do azo corante amarelo ouro remazol RNL  
[manuscrito] / Luide Rodrigo Martins - 2012.

xv, 87f. : il., color.; graf.; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Laurent Frédéric Gil.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto  
de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas e Pós-graduação em  
Recursos Hídricos. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental.  
Área de concentração: Tecnologias Ambientais.

1. Riboflavina - Teses. 2. Celulose - Teses. 3. Reação de oxidação-  
redução - Teses. 4. Águas residuais - Purificação - Tratamento biológico -  
Tratamento anaeróbico - Teses. I. Universidade Federal de Ouro Preto.  
II. Título.

CDU: 628.35:661.728

Catálogo: [sisbin@sisbin.ufop.br](mailto:sisbin@sisbin.ufop.br)



UFOP  
Universidade Federal  
de Ouro Preto

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Ouro Preto  
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental – PROAMB



*Degradação anaeróbia do azo corante Amarelo Ouro Remazol usando celulose modificada quimicamente com riboflavina.*

Autor: Luide Rodrigo Martins

Dissertação defendida e aprovada, em 31 de julho de 2012, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Professor Dr. Laurent Frédéric Gil- Orientador  
Universidade Federal de Ouro Preto

Professor Dr. Sérgio Francisco de Aquino  
Universidade Federal de Ouro Preto

Professora Dr.ª. Rosemeire Brondi Alves  
Universidade Federal de Minas Gerais

Professor Dr. Cornélio de Freitas Carvalho  
Universidade Federal de Ouro Preto

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiro a Deus e a Nossa Mãe do céu por me concederem saúde, persistência e me brindarem com amigos e pessoas que possibilitaram a realização deste trabalho.

À meus familiares e pessoas amadas que incentivaram e acompanharam os momentos que levaram até a conclusão deste trabalho: Pai, Mãe, obrigado sem vocês nada seria possível, nem mesmo a minha presença neste mundo. Amo vocês! Lauro irmão de sangue e coração, Silmara, Cilene, Rosana, obrigado pelo apoio e incentivo.

Ao pessoal do laboratório, pela colaboração e amizade: Wallace, Nilda, Francine, Bruno e Carlúcio. Obrigado Karla pela acolhida, generosidade e amizade.

Agradeço a todos os colegas e professores que proporcionaram acesso à seus laboratórios e à utilização de equipamentos sem os quais a pesquisa não seria possível: Professores Cornélio, José Fernando, Gilmar, Robson, Maurício, Silvana e Ruth.

Agradeço aos amigos Bruno e Diego, pelo apoio e colaboração com valiosas contribuições para este trabalho.

Aos professores Leandro e Tânia agradeço as valorosas contribuições incentivo e amizade.

À professora Rosemeire da UFMG pelo auxílio nas análises dos materiais.

À Vânia do PROAMB, sempre atenciosa e disponível para atender e solucionar questões importantes para o desenvolvimento do curso.

À meu co-orientador professor Sérgio, que além de fundamental para o trabalho é um grande exemplo de profissionalismo, liderança e comprometimento, a você o meu muito obrigado.

À meu orientador professor Laurent, exemplo de dedicação, ética, conduta e generosidade, agradeço a oportunidade, a confiança, os ensinamentos e a amizade. É a quem dedico grande parte do meu crescimento durante a realização deste trabalho.

À todos que torceram por mim ou colaboraram de alguma forma para este trabalho o meu muito obrigado.

## Sumário

Lista de figuras.....	vii
Lista de tabelas.....	x
Lista de notações.....	xi
Lista de equações.....	xiii
Resumo.....	xiv
Abstract.....	xv
1 – Introdução.....	1
2 - Revisão literária.....	3
2.1 - Corantes na indústria têxtil.....	3
2.2 - Tratamento de efluentes têxteis.....	9
2.2.1- Métodos físico-químicos.....	9
2.2.2- Métodos químicos.....	12
2.2.3- Métodos Físicos.....	14
2.2.4- Métodos Biológicos.....	14
2.2.4.1- Tratamento biológico aeróbio.....	14
2.2.4.2- Tratamento biológico anaeróbio.....	16
2.3- Uso de mediadores redox na degradação anaeróbia de azo corantes.....	20
2.3.1-Mediador Redox imobilizado.....	27
2.4 -.Celulose quimicamente modificada.....	30
2.5- Processos de tratamentos combinados.....	32
2.6- Conclusões da revisão literária.....	36
3- Objetivos da pesquisa.....	39

3.1- Geral.....	39
3.2 – Específicos.....	39
4 - Materiais e métodos.....	40
4.1 – Materiais.....	40
4.2 – Métodos.....	41
4.2.1 - Purificação dos solventes .....	41
4.2.2 - Mercerização da Celulose.....	42
4.2.3 – Modificação da celulose mercerizada com anidrido succínico.....	42
4.2.4 - Percentagem do ganho de massa da CM1 em relação a CM (pgm).....	43
4.2.5 – Determinação do grau de succinilação da CM1.....	43
4.2.6 - Modificação da CM1 com anidrido acético.....	44
4.2.7 - Introdução da riboflavina na CM2.....	44
4.2.8 – Avaliação da estabilidade da CM3 em diferentes faixas de pH.....	45
4.2.9 - Avaliação da interação da Riboflavina pura com a CM1.....	45
4.2.10 - Determinação da concentração de riboflavina na CM3.....	45
4.2.11 – Caracterização dos materiais.....	47
4.2.12 - Testes na degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol RNL....	47
4.2.13 – Ensaios de adsorção e influência do meio reacional na degradação do azo corante.....	50
4.2.14 – Ensaios para avaliar a estabilidade da CM3 nos frascos reatores .....	52
4.2.15- Efeitos do aumento da concentração de CM3 .....	52
4.2.16 – Estudo da cinética de remoção de cor da biodegradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3.....	53

5 – Resultados e discussão.....	54
5.1 – Síntese e caracterização dos materiais.....	54
5.1.1 Síntese e caracterização da CM1.....	54
5.1.2 Síntese e caracterização da CM2.....	56
5.1.3 - Síntese e caracterização da CM3.....	57
5.2 – Avaliação da estabilidade da CM3 em diferentes faixas de pH.....	60
5.3 - Avaliação da interação da Riboflavina pura com a CM1.....	61
5.4 - Testes da degradação anaeróbia do azo corante amarelo remazol ouro RNL.....	62
5.4.1-Ensaio de degradação anaeróbia com mediador redox riboflavina imobilizado..	62
5.4.2 – Ensaio de adsorção e influência do meio reacional na degradação do corante..	66
5.4.3 – Efeitos do meio reacional na estabilidade da CM3.....	67
5.4.4 – Efeitos do aumento da concentração de CM3 na degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol RNL.....	67
5.4.5 - Estudo cinético da degradação anaeróbia do AORRNL com adição de CM3.....	69
6- Conclusão.....	72
7- Sugestões para trabalhos futuros.....	74
8 - Referências bibliográficas.....	75
Anexo I.....	84
Anexo II.....	85
AnexoIII.....	86

## Lista de figuras

<b>Figura 1.1-</b> Estrutura química da riboflavina.....	3
<b>Figura 2.1-</b> Estrutura química do corante direto preto 19.....	5
<b>Figura 2.2 -</b> Estrutura química do corante vermelho ácido 266.....	5
<b>Figura 2.3 -</b> Redução do corante à cuba com ditionito de sódio.....	6
<b>Figura 2.4-</b> Estrutura química do Corante preto reativo 5.....	6
<b>Figura 2.5 -</b> Estruturas químicas do corante à base de quinona azul reativo 5 e do azo corante vermelho direto 81 .....	7
<b>Figura 2.6:</b> Estrutura química do azo corante alaranjado ácido 7 e do composto 1-amino-2-naftol.....	7
<b>Figura 2.7:</b> Sistema de tratamento lodos ativados.....	16
<b>Figura 2.8:-</b> Etapas de rompimento da ligação azo.....	18
<b>Figura 2.9:</b> Azo corante Amaranto.....	19
<b>Figura 2.10:</b> Representação esquemática das reduções química e biológica de azo corantes.....	20
<b>Figura 2.11-</b> Representação esquemática dos reatores UASB e EGSB.....	21
<b>Figura:2.12:</b> Estruturas de alguns dos principais mediadores redox encontrados na literatura.....	22
<b>Figura 2.13:</b> Redução anaeróbia de azo corante na presença de mediador redox.....	23
<b>Figura 2.14:</b> $E_0$ para diferentes mediadores redox .....	23
<b>Figura 2.15:</b> Estrutura química do Azo corante Amarelo mordante 10.....	25
<b>Figura 2.16:</b> Representação esquemática da redução de azo corante mediada por riboflavina.....	26
<b>Figura 2.17:</b> Gráfico temperatura versus porcentagem de descoloração de diferentes corantes utilizando-se mediador redox riboflavina.....	27

<b>Figura 2.18:</b> Estrutura molecular da celobiose.....	30
<b>Figura 2.19:</b> Modificação química da cel 1 para produzir a cel 4.....	31
<b>Figura 2.20:</b> Visão geral do caminho dos Azo corantes em tratamentos anaeróbios.....	33
<b>Figura 2.21:</b> Sistema combinado de lodos ativados e membrana de nanofiltração na indústria têxtil.....	35
<b>Figura 2.22:</b> Rota sintética para a produção da CM3.....	38
<b>Figura 4.1:</b> Estrutura química do azo corante Amarelo ouro remazol RNL.....	41
<b>Figura 4.2:</b> Modificação da CM com anidrido succínico.....	42
<b>Figura 4.3:</b> Modificação química da CM1 com anidrido acético.....	44
<b>Figura 4.4:</b> Incorporação da riboflavina na CM2.....	44
<b>Figura 4.5 :</b> Tratamento da CM3 em pH 12.....	46
<b>Figura 5.1:</b> Rota sintética para a produção da CM3.....	54
<b>Figura 5.2:</b> Espectros na região de infravermelho da CM e CM1.....	55
<b>Figura 5.3 –</b> Espectros na região de infravermelho da CM1 e CM2.....	57
<b>Figura 5.4 –</b> Espectros na região de infravermelho da CM1 e CM3.....	58
<b>Figura 5.5 –</b> Estrutura química da riboflavina.....	59
<b>Figura 5.6:</b> Ilustração dos materiais CM1 e CM3.....	61
<b>Figura 5.7:</b> Gráfico da absorbância do azo corante AORRNL pelo tempo na degradação anaeróbia com diferentes mediadores redox e com CM1.....	62
<b>Figura 5.8:</b> Relação da absorbância com o tempo na degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com diferentes concentrações de CM3.....	68
<b>Figura 5.9:</b> Ajuste linear para a cinética de ordem 0 da degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3.....	70

**Figura 5.10:** Ajuste linear para a cinética de 1ª ordem para a degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3.....70

**Figura 5.11:** Ajuste linear para a cinética de 2ª ordem para a degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3.....71

## **Lista de tabelas**

<b>Tabela 2.1:</b> Vantagens e desvantagens dos métodos químicos e físico-químicos de remoção de corantes em efluentes da indústria têxtil.....	11
<b>Tabela 2.2:</b> Potencial de oxidação eletroquímico de alguns oxidantes.....	13
<b>Tabela 2.3:</b> Comparação energética de algumas reações comuns na degradação anaeróbia.....	17
<b>Tabela 4.1:</b> Composição da solução nutriente utilizada nos ensaios.....	41
<b>Tabela 4.2:</b> Ensaios de degradação anaeróbia do azo corante ARORNL com mediadores redox e CM1.....	50
<b>Tabela 4.3:</b> Experimentos para avaliar adsorção ao lodo e influência do meio reacional.....	51
<b>Tabela 4.4:</b> Experimentos para determinar a estabilidade da CM3 nas condições experimentais.....	52
<b>Tabela 4.5:</b> Experimentos variando a concentração de CM3.....	53
<b>Tabela 5.1:</b> Análise elementar da CM1 e da CM3.....	59
<b>Tabela 5.2</b> – Resultados dos ensaios de adsorção e influência do meio reacional na degradação do azo corante modelo.....	66
<b>Tabela 5.3</b> - Efeitos do meio reacional na estabilidade da CM3.....	67

## Lista de notações

AO7.....	Alaranjado ácido 7
AORRNL.....	Amarelo ouro remazol RNL
AQDS.....	Antraquinona dissulfonada
AQS .....	Antraquinona sulfonada
AQS-PUF.....	Antraquinona sulfonada imobilizada em Espuma de poliuretano
C.....	Celulose
Cel 1.....	Celulose 1
Cel 2.....	Celulose 2
Cel 4.....	Celulose 4
CM.....	Celulose Mercerizada
CM1.....	Celulose mercerizada e modificada com anidrido succínico
CM2.....	CM1 tratada com anidrido acético
CM3.....	CM2 tratada com riboflavina
DBO.....	Demanda biológica de oxigênio
DQO.....	Demanda química de oxigênio
EGSB.....	Reator anaeróbio de leito granular expandido
EL.....	Extrato de levedura
FAD.....	Dinucleotídeo de flavina e adenina
FMN.....	Mononucleotídeo de flavina
MR.....	Mediador Redox
NAD(P)H .....	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NADH.....	dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NQS.....	1,2-naftoquinona-4-sulfonada
PEO.....	Potencial eletroquímico de oxidação

pH.....	Potencial hidrogeniônico
PUF.....	Espuma de poliuretano
Rib.....	Riboflavina
RPM.....	Rotações por minuto
RR2.....	Vermelho reativo 2
SSV.....	Sólidos suspensos voláteis
UASB.....	Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo
$\lambda$ .....	Comprimento de onda

## **Lista de Equações**

<b>Equação 4.1:</b> Percentagem de ganho de massa.....	43
<b>Equação 4.2:</b> Concentração de funções ácidas na CM1.....	43

## Resumo

A literatura tem demonstrado a eficiência de algumas substâncias na melhoria da cinética de remoção de cor em águas residuárias contendo corantes do tipo azo. Entre essas substâncias está a riboflavina (vitamina B2) que é conhecida por atuar como mediador redox nas transferências de elétrons de uma fonte doadora para o azo corante. A riboflavina em sua forma livre é solúvel em meio aquoso e pode ser perdida no efluente final em um sistema de tratamento. A imobilização desta vitamina em um suporte insolúvel pode proporcionar a retenção e recuperação da mesma nos reatores e consequentemente viabilizar o seu reuso diminuindo os custos do processo. Neste trabalho realizou-se a síntese de um novo material (CM3) contendo riboflavina imobilizada na celulose via ligação covalente e investigou-se a sua influência na degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol RNL. Os ensaios foram feitos em escala de bancada e regime de batelada por períodos de 48 horas e temperatura controlada (25°C). A primeira etapa do trabalho consistiu na modificação química da celulose. Este polímero foi mercerizado, succinilado e passou por reação com anidrido acético para em seguida reagir com a riboflavina e dar origem à CM3. Os efeitos da modificação foram analisados por técnicas de infravermelho e análise elementar. A concentração de riboflavina introduzida na celulose foi estimada em 71,3mg/g. A estabilidade deste material foi testada em diferentes condições de pH e mostrou-se estável entre os pH 2 e 9. A segunda etapa do trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da riboflavina imobilizada na degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol RNL. Os experimentos realizados com lodo anaeróbio e CM3 mostraram uma taxa de remoção 1,56 vezes maior do que os ensaios feitos sem nenhum tipo de mediador redox, comprovando assim a efetividade deste material na melhoria da cinética de degradação anaeróbia do azo corante modelo.

**Palavras chave:** Riboflavina, celulose, mediador redox imobilizado, azo corante, tratamento anaeróbio.

## Abstract

Reports in the literature have demonstrated the effectiveness of some substances in improving the kinetics of color removal in wastewater containing azo dyes. Among these substances is riboflavin (vitamin B2), which is known to act as a redox mediator in the transfer of electrons from a donor source such as glucose to an azo dye. The use of riboflavin in its free form, which is soluble in aqueous medium, is not attractive from an economic point of view since it is lost in the effluent upon treatment. Immobilization of this vitamin onto an insoluble support may provide improvements such as retention and recovery in the same reactor and allowing its reuse thereby reducing the costs related to the process. The aim of this work was to synthesize a new material (CM3) containing riboflavin immobilized covalently onto cellulose and investigate its influence on the anaerobic degradation of a model azo dye (Remazol Gold Yellow RNL). The tests were performed in batch reactors and the temperature of the system was set at 25° C and maintained for 48 h. The first stage of the study was the chemical modification of cellulose. For this, the homopolymer was mercerized (NaOH 20%), modified with succinic anhydride, and then reacted with acetic anhydride in order to form internal carboxylic acid anhydride functions which were used to bind riboflavin to cellulose, yielding CM3. Chemical modification of cellulose was evaluated by techniques as IR with Fourier transform and elemental analysis. The concentration of riboflavin introduced into the cellulose was estimated an 71.3mg/gCM3 and chemical stability tests with CM3 showed it was stable between pH 2 and 9. The second stage of the study was to evaluate the effects of riboflavin immobilized on to cellulose (CM3) on the anaerobic degradation of azo dye, Remazol Gold Yellow (RNL). The experiments with anaerobic sludge and CM3 showed a removal rate 1.65 times greater than those tests carried out without any redox mediator, thereby evidencing the effectiveness of the immobilized catalyst.

**Keywords:** Riboflavin, cellulose, immobilized redox mediator, azo dye, anaerobic treatment

## 1.0- Introdução

Efluentes altamente coloridos gerados industrialmente, em especial por indústrias têxteis, têm se constituído um assunto de grande interesse ambiental na atualidade. O setor têxtil tem experimentado um aumento considerável na demanda e diversificação de seus produtos, o que conseqüentemente leva a um acréscimo na geração de resíduos dos processos de fabricação que devem ser tratados antes do descarte final de forma a atender os padrões de lançamento estipulados pela legislação ambiental (Dos Santos *et al.*, 2007).

A indústria têxtil se utiliza de várias etapas para dar ao tecido as propriedades e características desejadas para o produto final. Dentre elas, destaca-se a etapa de tingimento, responsável pela alta coloração dos efluentes emitidos por essas indústrias. Estima-se que de 10 a 15% dos corantes utilizados no processo de tingimento não se aderem às fibras (Corrêa *et al.*, 2009a). A emissão de efluentes coloridos nos corpos receptores pode acarretar tanto em impactos visuais quanto em danos aos organismos fotossintetizantes presentes nos cursos d'água. Além da potencial toxicidade, corantes e pigmentos são feitos para serem resistentes à degradação, com isso podem permanecer por longos períodos de tempo no meio ambiente e desta forma sofrer acumulação no caso de despejos constantes que não recebem o devido tratamento (Weisburger, 2002 *apud* Dos Santos, *et al.*, 2007). A grande maioria dos corantes usados pelas indústrias têxteis (60% - 70%) são azo compostos, ou seja, possuem em sua estrutura uma ou mais ligações  $-N=N-$  ligando anéis aromáticos substituídos (van der Zee *et al.*, 2003a).

Das atuais tecnologias disponíveis para o tratamento de efluentes têxteis são utilizados tanto métodos bióticos quanto métodos abióticos. Considerando-se os tratamentos abióticos, encontram-se técnicas que empregam procedimentos, químicos e físicos, tais como, oxidação química, coagulação-floculação e adsorção. No que tange os tratamentos bióticos, o sistema mais utilizado é o processo aeróbio de lodos ativados, porém, este tratamento apresenta baixa eficiência na remoção de cor (10% - 30%), percentual atribuído principalmente à adsorção de corante no lodo descartado periodicamente da unidade (Dos Santos, 2005a). Isto ocorre, muito provavelmente,

devido à preferência dos elétrons gerados no processo metabólico celular pelo oxigênio em vez do corante como aceptor final de elétrons. (Stolz, 2001). No entanto, em sistemas anaeróbios, tais corantes são usualmente os únicos aceptores finais de elétrons, o que leva a melhores resultados na remoção de cor alcançando uma eficiência nesse aspecto de 60 a 80% (Dos Santos, 2005a). Um dos efeitos da redução anaeróbia de azo corantes é a formação de subprodutos, entre eles, as aminas aromáticas, que além de serem carcinogênicas, são recalcitrantes ao tratamento por organismos anaeróbios. Tal cenário, leva à necessidade de tratar complementar para a remoção dos subprodutos indesejados antes do descarte final (Dos Santos, 2005b).

Azo corantes também podem ser removidos por redução não específica sob condições anaeróbias, mas, a baixa taxa de degradação constitui um problema para a aplicação deste tipo de procedimento na biodegradação dessa classe de compostos (van der Zee *et al.*, 2001). Estudos indicam que o principal limitante para a redução de azo corantes em condições anaeróbias é a transferência de elétrons gerados no processo metabólico celular, para o azo corante (Field e Brady, 2003). Com objetivo de melhorar essa transição, mediadores redox têm sido considerados como uma importante alternativa e várias pesquisas têm sido conduzidas para se obter um composto que seja eficiente e economicamente viável para tal aplicação. Field e Brady (2003) demonstraram a eficiência da riboflavina (vitamina B2) como mediador redox na biodegradação anaeróbia de azo corante. Nestes estudos, essa vitamina foi encontrada em seu estado oxidado e reduzido, evidenciando assim, um ciclo entre essas duas condições possibilitando a sua utilização em concentrações catalíticas.

A riboflavina, por ser uma vitamina solúvel em água, está sujeita a ser perdida no efluente final de um sistema de tratamento. Evitar essa perda é uma maneira de diminuir os custos do processo através da reutilização desta vitamina nos reatores. Por isso, torna-se interessante a imobilização da riboflavina em um suporte sólido insolúvel, possibilitando assim, a sua recuperação e consequente reutilização.

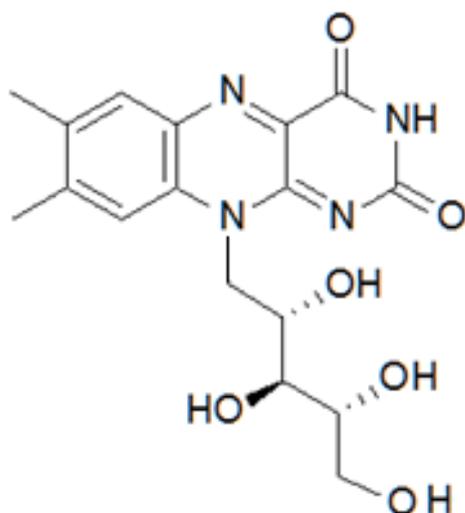


Figura 1.1- Estrutura química da riboflavina

A celulose é considerada o biopolímero renovável mais abundante na natureza. Este polímero de  $\beta$ -glicose pode sofrer modificações químicas através do uso principalmente de suas hidroxilas primárias. Tais reações são realizadas para se obter novos biomateriais com diferentes propriedades físico-químicas (Gurgel *et al.*, 2008). A celulose tem sido modificada introduzindo-se funções ácido carboxílico para elaborar materiais capazes de adsorver cátions metálicos em solução aquosa (Karnitz *et al.*, 2010; Gurgel e Gil, 2009). Neste trabalho efetuou-se a modificação química da celulose para a introdução de riboflavina em sua estrutura, criando um suporte insolúvel para esta vitamina e avaliou-se a eficiência deste material como mediador redox na degradação anaeróbia do azo corante modelo amarelo ouro remazol RNL.

## 2 - Revisão da literatura

### 2.1 - Corantes na indústria têxtil

A tintura de tecidos é uma arte que começou há milhares de anos e hoje a variedade de corantes disponíveis comercialmente é enorme. A atual tecnologia de tingimento consiste em processos que dependem da natureza da fibra têxtil, características estruturais, classificação e disponibilidade do corante para a aplicação, propriedades de fixação compatíveis com o destino do material a ser tingido,

considerações econômicas e muitas outras (Zollinger, 1991 e Abrahant, 1977 *apud* Guaratini e Zanoni, 2000). O processo de tingimento de tecidos é constituído de três fases, a montagem, a fixação e o tratamento final.

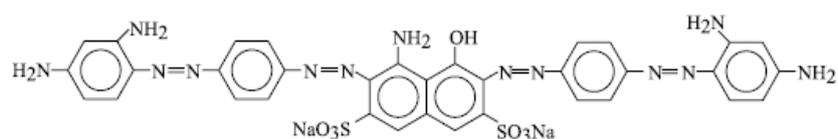
A montagem é o processo onde o corante é transferido da solução para a superfície do tecido, seja por esgotamento ou por impregnação. Na transferência por esgotamento a fibra tem sua tensão superficial reduzida por tensoativos e é banhada em solução de corante por um período de tempo suficiente para que o corante fique aderido à fibra. No caso da impregnação a transferência se dá com o auxílio de força mecânica. O tecido é prensado por dois rolos após ter passado pelo banho de tingimento e em seguida é enrolado e coberto para a complementação da reação.

A fixação é onde ocorre a reação entre o corante e o tecido podendo acontecer por interações como ligações de hidrogênio, de van der Waals, covalente e iônica. Uma das maneiras de se fixar o corante à fibra é pela insolubilização do corante que montou sob a forma solubilizada. Neste processo um agente de acoplamento solúvel que tem alta afinidade com a fibra é adicionado, o corante então reage com este agente já fixado à fibra e produz um corante insolúvel. Corantes também podem ser fixados pela alteração da fibra, por intermédio da temperatura, de um estado mais dilatado para um estado mais fechado ocasionando dessa maneira a retenção física das moléculas de corante.

O tratamento final é uma etapa de lavagem para remoção do corante em excesso, ou seja, aquele que não se aderiu à fibra durante os processos de montagem e fixação. Isso consiste em um banho quente com detergente seguido de um enxague geralmente em água corrente removendo completamente o corante não fixado (Alcantara e Daltin, 1996 *apud* Guaratini e Zanoni, 2000).

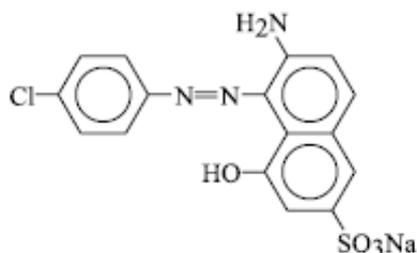
Os corantes apresentam estruturas moleculares complexas que podem envolver inúmeras reações intermediárias durante seu processo de síntese. (Zanoni e Carneiro, 2001). Eles podem ser classificados segundo sua estrutura química ou conforme a maneira como são fixados às fibras têxteis. Quanto ao modo de fixação, assim são classificados alguns tipos de corantes:

Corantes diretos são compostos solúveis em água, capazes de tingir fibras de celulose através de interações de van der Waals. A afinidade do corante com a fibra é aumentada com o uso de eletrólitos, pela planaridade da estrutura do corante ou por dupla ligação conjugada que aumenta a adsorção do corante sobre a fibra. Um exemplo de corante direto é apresentado na figura 2.1.



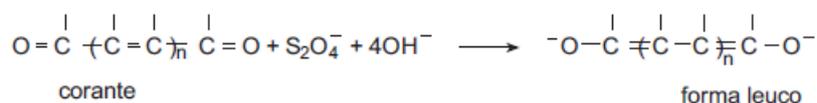
**Figura 2.1** - Corante direto preto 19. Fonte: van der Zee *et al.* (2001).

Corantes ácidos são corantes aniônicos portadores de um a três grupos sulfônicos, estes grupos substituintes ionizáveis tornam o corante solúvel em água e têm grande importância no tingimento de fibras protéicas e de poliamida sintética. Tais corantes caracterizam-se por substâncias com estrutura química baseada em compostos azo, antraquinona, triarilmetano, azina, xanteno, ketonimina, nitro e nitroso, que fornecem uma ampla faixa de coloração e grau de fixação.



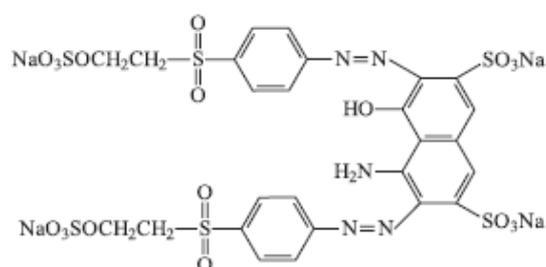
**Figura 2.2** - Corante vermelho ácido 266. Fonte: van der Zee, *et al.* (2001)

Corantes à cuba são uma grande e importante classe baseada nos índigos, tioíndigóides e antraquinóides, tais corantes são aplicados praticamente insolúveis em água, mas, através de redução com ditionito em meio alcalino, transformam-se em leuco (Figura 2.3), derivado solúvel e tingem material têxtil celulósico. Posteriormente, através de subsequente oxidação pelo ar, peróxido de hidrogênio ou outros oxidantes, recuperam a forma original sobre a fibra.



**Figura 2.3** - Redução do corante à cuba com ditionito de sódio. Fonte: Guaratini e Zanoni, (2000).

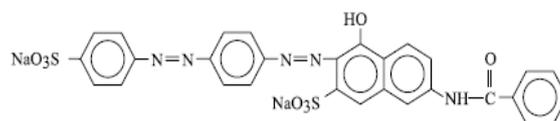
Corantes reativos são solúveis em água, reagem com algumas fibras têxteis formando ligações covalentes. Esses corantes têm boas propriedades de solidez e favorecem a obtenção de quase todos os tons, inclusive os mais brilhantes.



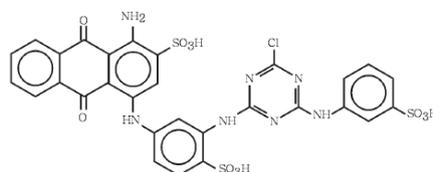
**Figura 2.4** - Corante preto reativo 5. Fonte: Almeida *et al.* (2004).

Em tal classificação, devemos realçar também a importância de outras classes como a dos corantes azoicos, dispersivos, básicos e corantes branqueadores, cada qual com a sua peculiaridade quanto à forma de se fixarem à fibra.

No que diz respeito à classificação segundo a estrutura química, destacam-se aqueles corantes conhecidos como antraquinônicos e azo corantes. Os primeiros figuram como a segunda classe mais importante para aplicação em indústrias têxteis, eles caracterizam-se pela presença de grupos cromóforos formando complexos quinona (Dos Santos, *et al.*, 2007; Jamal *et al.*, 2011). Já os azo corantes são caracterizados por apresentarem em sua estrutura o grupo cromóforo azo  $-\text{N}=\text{N}-$  entre anéis aromáticos substituídos. São os azo corantes a classe mais utilizada para tingimento têxtil. Estima-se que cerca de 60% a 70% dos corantes utilizados mundialmente, sejam do tipo azo (Dos Santos *et al.*, 2007). A figura 2.5 exhibe a estrutura química de alguns desses corantes.



Vermelho direto 81



Azul reativo 5

**Figura 2.5** - Estruturas químicas do azo corante vermelho direto 81 e do corante à base de quinona azul reativo 5.

Os potenciais problemas associados a azo corantes com respeito à toxicidade para humanos estão relacionados com o tipo de intermediário usado em sua síntese e aparecem unicamente após a redução e clivagem da ligação azo, como aminas aromáticas (Mendez-Paz *et al.*, 2005). Vários azo corantes usados como corantes em alimentos, medicamentos e cosméticos podem ser reduzidos por substâncias contidas em suspensões celulares presentes predominantemente no intestino. Assim pode-se assumir que a ingestão de azo corantes é um risco à saúde humana. Neste sentido, existem relatos que o 1-amino-2-naftol produzido pela redução do alaranjado ácido 7 (figura 2.6) tem induzido a câncer de bexiga (Chung *et al.*, 1978 e Bonser *et al.*, 1956 *apud* Mendéz Paz, Omil *et al.*, 2005). A ativação bioquímica por meio de N-hidroxilação, seguida de sulfatação, esterificação ou reações de acetilação, gerando intermediários capazes de se ligarem a moléculas de DNA atualmente são consideradas as principais vias de genotoxicidade e carcinogenicidade de arilaminas (Pinheiro *et al.*, 2004).



**Figura 2.6** - Estrutura química do azo corante alaranjado ácido 7 e do composto 1-amino-2-naftol.

No meio ambiente azo corantes contribuem para a atividade mutagênica de águas subterrâneas e superficiais poluídas por efluentes têxteis. Além disso, o descarte desses compostos em águas superficiais leva a problemas estéticos, obstrui a penetração de luz e prejudica a transferência de oxigênio nos corpos d'água, afetando assim, a vida aquática (Umbuzeiro *et al.*, 2005 e Rajaguru *et al.*, 2002 *apud* Pandey *et al.*, 2007).

Um dos principais problemas associados ao tratamento de efluentes têxteis é a remoção de cor (van der Zee *et al.*, 2001). A grande maioria dos corantes utilizados na indústria têxtil é do tipo azo. Estima-se que de 10% a 40% dos corantes aplicados são perdidos no efluente final. O descarte de azo corantes no meio ambiente preocupa não só por razões estéticas, como também, pelo fato de alguns deles e seus subprodutos serem tóxicos para a vida aquática (van der Zee *et al.*, 2001a; Chung e Stevens, 1993) e mutagênicos para humanos (Chung e Cerniglia, 1992).

Além da alta quantidade de corante que é perdida em forma de efluente devido às ineficiências na etapa de tingimento, águas residuárias têxteis são uma mistura de muitas substâncias poluentes, abrangendo desde pesticidas organoclorados a metais pesados associados a corantes (Mcmullan *et al.*, 2001).

Assim sendo, a disposição de efluentes têxteis no meio ambiente deve ser precedida de tratamento para remover as substâncias poluentes e atender aos padrões de lançamento estipulados pela legislação.

Segundo Kunz *et al.* (2002), em geral, aplica-se ao tratamento de efluentes têxteis, sistemas físico-químicos de precipitação-coagulação seguidos de tratamento biológico via sistemas de lodos ativados. Este sistema apresenta uma eficiência relativamente alta, permitindo a remoção de aproximadamente 80% da carga de corantes. O problema deste tipo de tratamento é o acúmulo de lodo com alta concentração de corante adsorvido impossibilitando o seu reaproveitamento e exigindo cuidados para a disposição final.

Tendo em vista o panorama atual das características e dos processos de tratamento de efluentes têxteis, deve-se considerar a necessidade de novas tecnologias

que venham aperfeiçoar ou inovar tais processos, proporcionando alternativas eficientes e economicamente atrativas.

## **2.2 - Tratamento de efluentes têxteis**

Efluentes têxteis são caracterizados por extrema flutuação em alguns de seus parâmetros, como por exemplo, demanda química de oxigênio (DQO), demanda biológica de oxigênio (DBO), pH, cor e salinidade (Dos Santos, *et al.*, 2007). Tais características são importantes para se determinar o tipo e as condições em que serão realizados os processos de tratamento. Das tecnologias atualmente aplicadas para se tratar efluentes têxteis, estão presentes métodos biológicos, não biológicos e combinações desses dois procedimentos. A seguir são destacados alguns dos principais tipos de condutas adotadas no tratamento de efluentes têxteis.

### **2.2.1- Métodos físico-químicos**

Nos métodos físico-químicos agentes coagulantes como sais de ferro ou cloreto de polialumínio reto de alumínio são utilizados para formar flocos com os corantes, que então, podem ser removidos por filtração ou sedimentação. Países como Alemanha e França utilizam largamente os processos de coagulação-floculação como método para tratar seus efluentes têxteis. Esta técnica pode ser usada tanto como pré-tratamento, pós-tratamento ou mesmo como tratamento principal (Dos Santos *et al.*, 2007). Estudos indicam o sucesso da coagulação-floculação no trato de corantes à base de enxofre e dispersivos. Enquanto que corantes ácidos, diretos, reativos e à cuba demonstraram baixa capacidade de coagulação e floculação. Dentre os principais problemas deste método de tratamento estão a baixa eficiência de remoção para alguns corantes, o uso de grandes quantidades de aditivos químicos e a geração de grande quantidade de lodo poluente ocasionando a necessidade de pós-tratamento. (Anjaneyulu *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2001; Marmagne e Coste, 1996; *apud* Dos Santos *et al.*, 2007).

A remoção de corantes têxteis por adsorção tem como base a alta afinidade de alguns corantes pelos materiais adsorventes. A descoloração por adsorção é

influenciada por fatores físico-químicos como, interação entre corante-adsorvente, área superficial do adsorvente, tamanho da partícula, temperatura, pH e tempo de contato (Anjaneyulu *et al.*, 2005; Mattioli *et al.*, 2002 *apud* Dos Santos *et al.*, 2007). Vários materiais têm sido utilizados como adsorventes para tratar efluentes originados nos processos de beneficiamento de tecidos. Dentre eles, o mais comumente aplicado é o carvão ativado, encontrando utilidade para uma ampla variedade de corantes com boas eficiências de remoção (Walker e Weatherley, 1997 *apud* Dos Santos *et al.*, 2007). Contudo, esta eficiência está diretamente relacionada com o tipo de carvão, com as características do efluente e a estrutura do corante a ser removido. Apesar de poder ser reativado e reutilizado após o tratamento o carvão ativado é considerado dispendioso e deve-se considerar o destino final do resíduo formado na etapa de adsorção (Robinson *et al.*, 2001).

Outros materiais como serragem, turfa, sílica gel, argila, casca de arroz e espigas de milho também são citados por Robinson *et al.* (2001) como utilizáveis na adsorção de corantes têxteis. As cucurbiturilas, são polímeros cíclicos de glicoluril e formaldeído (Karcher *et al.*, 1999a,b *apud* Robinson *et al.*, 2001), apresentam boa capacidade de sorção para vários tipos de corantes têxteis e têm como principal inconveniente o custo elevado (Robinson *et al.*, 2001).

Estes autores também relatam o uso de técnicas com emprego de radiação, troca iônica e coagulação eletrocinética, cada qual com suas peculiaridades no que diz respeito à aplicação, vantagens e desvantagens. A tabela 2.1 faz um comparativo entre as vantagens e desvantagens dos métodos químicos e físico-químicos para tratar efluentes têxteis.

**Tabela 2.1** - Vantagens e desvantagens dos métodos químicos, e físico-químicos de remoção de corantes em efluentes da indústria têxtil. Adaptado de Robinson *et al*, (2001)

<b>Métodos químicos e físico-químicos</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Reagentes fenton	Efetiva descoloração para corantes solúveis e insolúveis	Geração de lodo
Ozônio	Aplicado em estado gasoso não altera volumes do lodo e efluente	Curto tempo de meia-vida (20 min.)
Fotoquímico	Não gera lodo	Formação de subprodutos
NaOCl	Inicia e acelera quebra de azo ligação	Disposição de aminas aromáticas
Cucurbiturilas	Boa capacidade de sorção para vários corantes	Alto custo
Turfa	Bom adsorvente devido a estrutura celular	Área superficial específica para adsorção pequena quando comparada com carvão ativado
Serragem	Boa capacidade de sorção para corantes ácidos	Requer longo tempo de retenção
Sílica gel	Efetiva para remoção de corantes básicos	Reações laterais prejudicam aplicação comercial
Filtração por membrana	Remoção de todos os tipos de corantes	Produção de lodo concentrado
Troca iônica	Regeneração sem perda de adsorvente	Não efetiva para todos os corantes
Radiação	Efetiva em escala de laboratório	Exige uso de grande quantidade de O <sub>2</sub> dissolvido
Coagulação eletrocinética	Economicamente viável	Alta produção de lodo
Carvão ativado	Boa remoção para uma ampla variedade de corantes	Custo elevado
Tratamento eletroquímico	Subprodutos não tóxicos	Alto custo de eletricidade

### 2.2.2 - Métodos químicos

Dos procedimentos químicos usados para descolorir efluentes têxteis o mais comum é a oxidação química. Este procedimento remove a cor do efluente através da clivagem dos anéis aromáticos das moléculas de corante. (Raghavacharya, 1997 *apud* Robinson *et al.*, 2001).

O principal agente oxidante aplicado é o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) que para a oxidação avançada, necessita ser ativado de alguma forma, como por exemplo, por luz ultravioleta (Robinson *et al.*, 2001). Este oxidante pode ser usado também em combinação com ferro(II), num processo denominado fenton. Os principais inconvenientes do processo fenton são a formação de grande quantidade de lodo que exige cuidados posteriores e a ineficácia para alguns tipos de corantes como, por exemplo, os ácidos, diretos e catiônicos (Raghavacharya, 1997 *apud* Robinson *et al.*, 2001).

Outro agente oxidante utilizado em larga escala é o ozônio ( $O_3$ ). Este oxidante, além de reagir com vários tipos de corantes, tem boa eficiência na remoção de cor (Metcalf e Eddy, 2003 *apud* Dos Santos *et al.*, 2007) e é adicionado em estado gasoso, evitando desta maneira, o crescimento dos volumes de efluente e de lodo (Robinson *et al.*, 2001). Em um processo conhecido como oxidação seletiva, o ozônio pode atuar oxidando preferencialmente ligações azo,  $-N=N-$ , fazendo com que compostos biodegradáveis permaneçam não oxidados (Boncz, 2002). . Através do conhecimento dos mecanismos envolvidos nas reações redox que ocorrem no sistema, sejam aqueles onde há a oxidação direta pela molécula de ozônio, ou pela formação de radicais, como por exemplo, radicais hidroxila, pode-se beneficiar aquele processo em que as ligações azo sejam oxidadas preferencialmente. De acordo com Boncz (2002), a seletividade diminui os custos operacionais porque a aplicação do oxidante pode ser reduzida ao favorecer-se o caminho oxidativo desejado. No que diz respeito às desvantagens estão: o uso de ozônio com corantes insolúveis, que não trás resultados satisfatórios, a formação de subprodutos que podem ser tóxicos e carcinogênicos e o alto custo acarretado pelo baixo tempo de meia vida, representam os maiores empecilhos (Souza *et al.*, 2010; Dos Santos *et al.*, 2007; Robinson *et al.*, 2001).

Processos que utilizam radiação (fotoquímico) e eletricidade (eletroquímico), também são citados na literatura com suas vantagens e desvantagens. Tratamentos fotoquímicos, geralmente não apresentam formação de lodo, porém, comumente podem gerar subprodutos, como aldeídos, ácidos orgânicos ou inorgânicos e metais usados na foto-reação catalítica. Procedimentos eletroquímicos, não exibem subprodutos tóxicos, entretanto, o custo do processo é elevado (Robinson *et al.*, 2001).

Além dos métodos acima citados também são conhecidos processos de tratamento de efluentes têxteis, que utilizam hipoclorito de sódio, (NaOCl), que tem aplicação como agente oxidante capaz de iniciar ou acelerar a quebra de ligações azo. Seus inconvenientes são a formação nas águas de descarte de aminas aromáticas que são carcinogênicas, além de outros compostos tóxicos (Banat *et al.*, 1999 *apud* Robinson *et al.*, 2001). O cloro ativado através de processos fotoquímicos que levam à produção de radicais cloro pode ser mais eficiente para a remoção de azo corantes através da oxidação, um dos grandes inconvenientes desta técnica, assim como, da oxidação química convencional de azo corantes com cloro é a formação de subprodutos com propriedades mutagênicas (Oliveira *et al.*, 2012). A Tabela 2.2 traz o potencial de oxidação eletroquímico (PEO) de alguns oxidantes.

**Tabela 2.2** - Potencial de oxidação eletroquímico (PEO) de alguns oxidantes. Fonte: Dos Santos *et al.* (2007).

Agente Oxidante	PEO (Volt)
Flúor	3,06
Radical hidroxila	2,08
Oxigênio (atômico)	2,42
Ozônio	2,08
Peróxido de hidrogênio	1,78
Cloro	1,36
Dióxido de cloro	1,27
Oxigênio molecular	1,23

### **2.2.3- Métodos Físicos**

Entre os métodos físicos podem-se destacar os tratamentos por filtração, como por exemplo, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa têm sido usados para reciclar e recircular águas utilizadas nos processos industriais. Em indústrias têxteis esses métodos podem ser usados para tratar e recircular não apenas águas ricas em pigmentos, mas também, aquelas originadas dos processos de mercerização e branqueamento (Dos Santos *et al.*, 2007). Contudo, o uso frequente de membranas é susceptível à colmatação das mesmas (entupimento irreversível), levando a aumento nos custos de operação provocados pelo aumento na demanda de energia e redução do tempo de vida da membrana (Ellouze *et al.*, 2012; Hilal *et al.*, 2004).

### **2.2.4- Métodos Biológicos**

Os sistemas biológicos vêm se tornando uma alternativa interessante para o tratamento de águas residuárias têxteis, pois, apesar dos métodos abióticos, serem eficientes em vários aspectos, eles possuem variáveis fortemente desfavoráveis em quesitos como, viabilidade econômica, consumo de energia e formação de subprodutos (Stolz, 2001). Também contam a favor dos tratamentos biológicos, a relativa facilidade de implementação de sistemas capazes de operar em grande escala, o fato de serem considerados ecologicamente corretos e possuírem qualidades como boa aceitação pública e baixo custo (Banat *et al.*, 1996 *apud* McMullan *et al.*, 2001).

#### **2.2.4.1- Tratamento biológico aeróbio**

Compostos aromáticos podem ser degradados biologicamente sob condições aeróbias e anaeróbias. Sob condições aeróbias enzimas mono e dioxigenases catalisam a incorporação do oxigênio no anel aromático antes da fissão do anel. Na maioria das monoxigenases os doadores de elétrons são NADH ou NAD(P)H (Madigan *et al.*, 2003; Field *et al.*, 1995). Apesar dos azo corantes serem compostos aromáticos, eles têm como substituintes principalmente grupos nitrogenados e sulfônicos que são recalcitrantes a degradação por bactérias aeróbias. (Claus *et al.*, 2002). Este fato se dá

provavelmente devido a natureza da ligação azo como acceptora de elétrons e sua resistência ao ataque das oxigenases ou pela maior tendência do oxigênio em aceitar elétrons, tendo maior preferência em ser reduzido do que a ligação azo. Contudo na presença de enzimas chamadas azo redutases, algumas bactérias aeróbias são capazes de reduzir azo corantes levando a formação de aminas aromáticas (Dos Santos *et al.*, 2007). A remoção de cor de azo corantes dos efluentes têxteis por bactérias aeróbias é normalmente baixa (10-30%) e está normalmente atribuída à adsorção do corante no lodo (van Lier *et al.*, 2007).

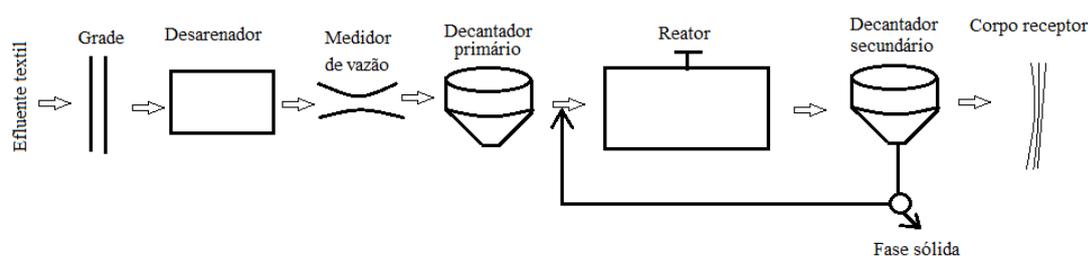
A capacidade de fungos em degradar corantes têxteis em condições aeróbias também tem sido relatada na literatura. De acordo com McMullan *et al.* (2001), as espécies mais estudadas para esse fim são os fungos de podridão branca dentre os quais estão *Bjerkandera adusta*, *Pycnoporus cinnabarinus* e *Phanerochaete chrysosporium*. Este grupo de organismos tem papel central no ciclo do carbono pela sua capacidade de mineralizar lignina, que possui estrutura polimérica complexa. Como resultado da natureza relativamente não específica de suas enzimas lignolíticas, entre elas, lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase, esses fungos são capazes de degradar uma vasta gama de compostos orgânicos. Lignina peroxidase e manganês peroxidase têm mecanismos de ação semelhantes, começando com a oxidação das enzimas por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e posteriormente passando por uma redução através de substratos, entre eles, corantes. A redução envolve transferências sucessivas de dois elétrons restaurando as enzimas em seus estados originais (Stolz, 2001).

Segundo Stolz (2001) o primeiro relato de degradação de azo corantes por fungos lignolíticos foi feito por Cripps *et al.* em 1990, demonstrando que algumas culturas de *Phanerochaete chrysosporium* descoloriram azo corantes como, alaranjado ácido 7, alaranjado ácido 6 e vermelho direto 28. Atualmente não são conhecidas correlações entre a estrutura do azo corante e a capacidade de *Phanerochaete chrysosporium* em degradá-los. (Pasti-Grigsby *et al.*, 1992; Paszczynski *et al.*, 1992 *apud* Stolz, 2001).

Na indústria têxtil, os processos biológicos utilizados com maior frequência estão representados pelo sistema aeróbio de lodos ativados. Este processo consiste na

agitação dos efluentes em presença de microorganismos e ar durante o tempo necessário para metabolizar e flocular uma grande parte da matéria orgânica. Um esquema de tratamento por lodos ativados convencional é mostrado na figura 2.7.

Em geral, esse tipo de tratamento é aplicado após uma etapa de coagulação-floculação, resultando em uma eficiência relativamente alta na remoção de corantes, por volta de 80%. Os grandes inconvenientes associados ao sistema de lodos ativados são a susceptibilidade à composição do efluente (cargas de choque) e a formação de um grande volume de lodo com alto teor de corante adsorvido impedindo qualquer possibilidade de reaproveitamento (Kunz *et al.*, 2002).



**Figura 2.7** - Sistema de tratamento lodos ativados. Fonte: (Von Sperling, 1996).

#### 2.2.4.2- Tratamento biológico anaeróbio

Os tratamentos biológicos anaeróbios têm um grande potencial de aplicabilidade em águas residuárias concentradas e diluídas. Tal característica se deve às particularidades como, baixa produção de sólidos, baixo consumo de energia, baixos custos de implantação e operação, tolerância a elevadas cargas orgânicas e possibilidade de operação com elevados tempos de detenção de sólidos e baixos tempos de detenção hidráulica. Este tipo de tratamento vem sendo aplicado para tratamento de esgotos domésticos e industriais a mais de um século. (Chernicharo, 2007; McCarty, 1981; McCarty e Smith, 1986 *apud* Seghezze *et al.*, 1998).

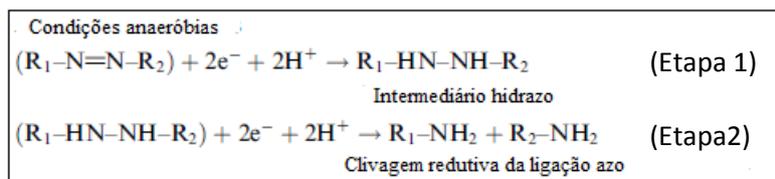
O processo de digestão anaeróbia envolve uma gama muito grande e variável de microorganismos atuando em quatro fases subsequentes: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Neste processo, ocorre uma cadeia sucessiva

de reações bioquímicas, a partir da hidrólise ou quebra das moléculas de proteínas, lipídeos, carboidratos até a formação dos produtos finais, essencialmente gás metano e dióxido de carbono (van Haandel e Lettinga, 1994 *apud* Corrêa, 2009b). A tabela 2.3 ilustra algumas reações envolvidas na degradação de matéria orgânica por microorganismos anaeróbios.

**Tabela 2.3** - Comparação energética de algumas reações comuns na degradação anaeróbia. Fonte: (Aquino e Chernicharo, 2005)

Etapa	Reação	$\Delta G^{\circ}$	Eq.
Acidogênese (I)	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + 2CO_2 + 2H^+ + 4H_2$ glicose acetato	-206 kJ/reação	(1)
	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COO^- + 2H_2O + 2H^+$ glicose propionato	-358 kJ/reação	(2)
	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COO^- + 2CO_2 + H^+ + 2H_2$ glicose butirato	-255 kJ/reação	(3)
Acetogênese (II)	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$ propionato acetato	+76,1 kJ/reação	(4)
	$CH_3CH_2COO^- + 2HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + H^+ + 3HCOO^-$ propionato acetato	+72,2 kJ/reação	(5)
	$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$ butirato acetato	+48,1 kJ/reação	(6)
Metanogênese (III)	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$ acetato metano	-31 kJ/reação	(7)
	$H_2 + \frac{1}{4} HCO_3^- + \frac{1}{4} H^+ \rightarrow \frac{1}{4} CH_4 + \frac{3}{4} H_2O$ hidrogênio metano	-33,9 kJ/reação	(8)
	$HCOO^- + \frac{1}{4} H_2O + \frac{1}{4} H^+ \rightarrow \frac{1}{4} CH_4 + \frac{3}{4} HCO_3^-$ forniato metano	-32,6 kJ/reação	(9)
	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$ (propionato) (acetato)	$\Delta G^{\circ} = +76,1$	(4)
	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$ (acetato) (metano)	$\Delta G^{\circ} = -31$	(7)
	$3H_2 + 0,75 HCO_3^- + 0,75 H^+ \rightarrow 0,75 CH_4 + 2,25 H_2O$ hidrogênio (metano)	$\Delta G^{\circ} = -33,9 (x 3) = -101,7$	(8)
	$CH_3CH_2COO^- + 1,75 H_2O \rightarrow 1,75 CH_4 + 1,25 HCO_3^- + 0,25 H^+$ (propionato) (metano)	$\Delta G^{\circ} = -56,6$ kJ/reação	(10)

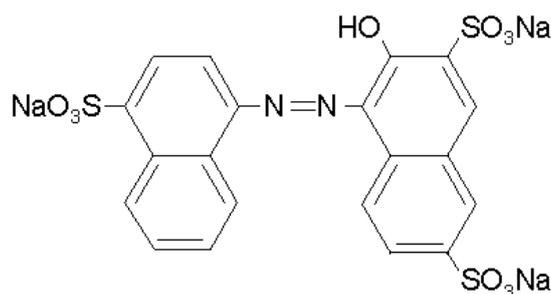
Muitos são os estudos que permeiam o campo da degradação anaeróbia de corantes têxteis, em especial, azo corantes. Em contraste com os poucos relatos de descoloração aeróbia de azo corantes, um grande número de organismos anaeróbios são capazes de reduzir esses compostos em ausência de oxigênio (Stolz, 2001). A remoção de cor sob condições anaeróbias é também conhecida como redução do corante, em que, a literatura cobre principalmente a redução dos azo corantes. Em ambientes anaeróbios azo corantes são usualmente os únicos aceptores finais de elétrons. A quebra da ligação azo (-N=N-), envolve a transferência de quatro elétrons (redutores equivalentes) num processo de dois estágios na ruptura de ligação azo (figura 2.8). Em cada estágio dois elétrons são transferidos para o azo corante que funciona como acceptor final de elétrons.



**Figura 2.8** - Etapas de rompimento da ligação azo. Fonte: Dos Santos *et al.* (2007)

Segundo Dos Santos *et al.*, (2007) o mecanismo pelo qual ocorre a redução dos azo corantes, ainda deve ser objeto de estudos, é preciso elucidar se a reação é intracelular ou extracelular. Outra questão passível de investigação destacada por esses autores é o papel dos carreadores de elétrons biogênicos intracelulares, como por exemplo, as flavinas. Pesquisadores afirmam que flavinas reduzidas podem atuar como transportadoras de elétrons do NADPH para o azo corante atuando como acceptor final de elétrons (Gingell e Walker, 1971, *apud* Dos Santos *et al* 2007). Contudo, redução intracelular não pode ser creditada a todos os tipos de corantes, especialmente aqueles sulfonados que têm baixa permeabilidade à membrana celular (Stolz, 2001; Kudlich *et al.*, 1997).

Estudos realizados por Kudlich *et al.* (1997) revelaram a possibilidade de enzimas azo redutase estarem localizadas na membrana celular, podendo assim, efetuar externamente à célula a redução de compostos com baixa ou nenhuma permeabilidade através da membrana. Esta hipótese foi por eles levantada em procedimentos empregando-se antraquinonas sulfonadas, incapazes de penetrar a membrana celular que em seus experimentos atuaram como mediadores redox na transferência de elétrons gerados nos processos metabólicos de bactérias *Sphingomonas sp. Strain BN6* para o azo corante sulfonado amarantho (figura 2.9). Stolz (2001) relata ensaios com cepas de bactérias anaeróbias de intestino humano em que pelo menos parte da atividade das azo redutase foi extracelular, isso foi explicitado pelo uso de sobrenadante extraído de culturas dessas bactérias que foi capaz de descolorir azo corantes sulfonados em condições anaeróbias.



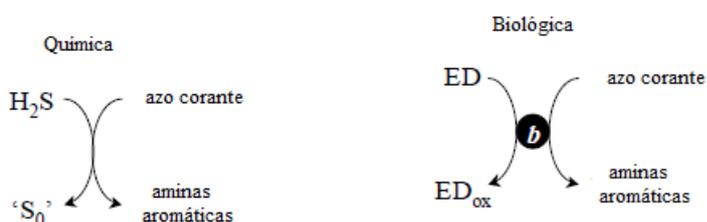
**Figura 2.9** - Azo corante Amaranto. Fonte: Chung e Cerniglia (1992).

A descoloração de azo corantes sob condições anaeróbicas é uma combinação de processos químicos e biológicos. A contribuição biológica pode ser devida a ação das enzimas azo redutase que estão presentes em bactérias capazes de crescer tendo os corantes como única fonte de carbono e energia. No entanto ainda não há evidências claras da existência de azo redutases anaeróbicas ou outras enzimas não específicas que catalisem a redução de uma vasta variedade de contaminantes receptores de elétrons, incluindo-se aí, azo corantes (Stolz, 2001). Assim, reações co-metabólicas são provavelmente o principal mecanismo de redução de azo corantes. Nessas reações, equivalentes ou cofatores reduzidos como NADH, NADP(H), FMNH<sub>2</sub> e FADH<sub>2</sub>, atuam como doadores secundários de elétrons conduzindo elétrons de uma fonte primária (substrato) para clivagem da ligação azo (Gingel e Walker, 1971 *apud* Dos Santos *et al.*, 2007).

Quimicamente, a descoloração de azo corantes pode ocorrer através de reações com compostos inorgânicos, tais como sulfeto e íons ferro e compostos orgânicos como cisteína e ascorbato formados como produtos finais de reações co-metabólicas sob condições anaeróbicas (Pandey *et al.*, 2007).

Sulfeto e sulfato geralmente coexistem em águas residuárias de indústrias têxteis devido à presença de diferentes compostos de enxofre utilizados nos banhos de tingimento. Várias pesquisas descrevem investigações a respeito dos efeitos causados por sulfeto e sulfato em experiências para a degradação anaeróbia de azo corantes. Resultados indicam que sulfetos originados da redução biológica de sulfato são capazes

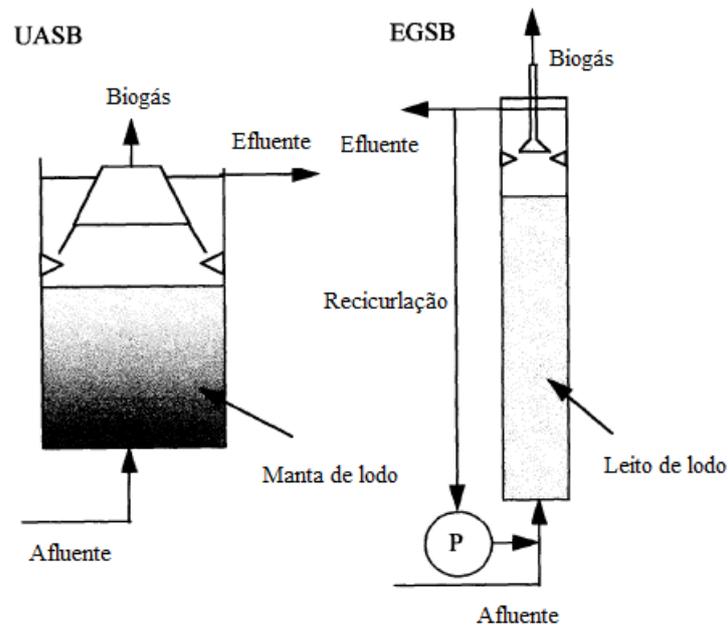
de reduzir azo corantes provocando sua descoloração e que da mesma forma que em processos co-metabólicos a atuação de sulfetos na ausência de microorganismos pode também degradar tais compostos empregados nos banhos de tingimento têxtil. Com respeito ao sulfato, observam-se em vários estudos que efeitos deletérios ao grau de remoção de cor em sistemas anaeróbios não estão associados à presença dessa espécie nos reatores. Isto porque, provavelmente, o potencial redox da maioria dos corantes é maior que o potencial redox da redução biológica do sulfato (-220mV) (van der Zee *et al.*, 2003a; Cervantes *et al.*, 2007)



**Figura 2.10** - Representação esquemática das reduções química e biológica de azo corantes. ED= Doador de elétrons, b= bactéria (Enzimas). Fonte: (van der Zee *et al.*, 2003).

### 2.3- Uso de mediadores redox na degradação anaeróbia de azo corantes

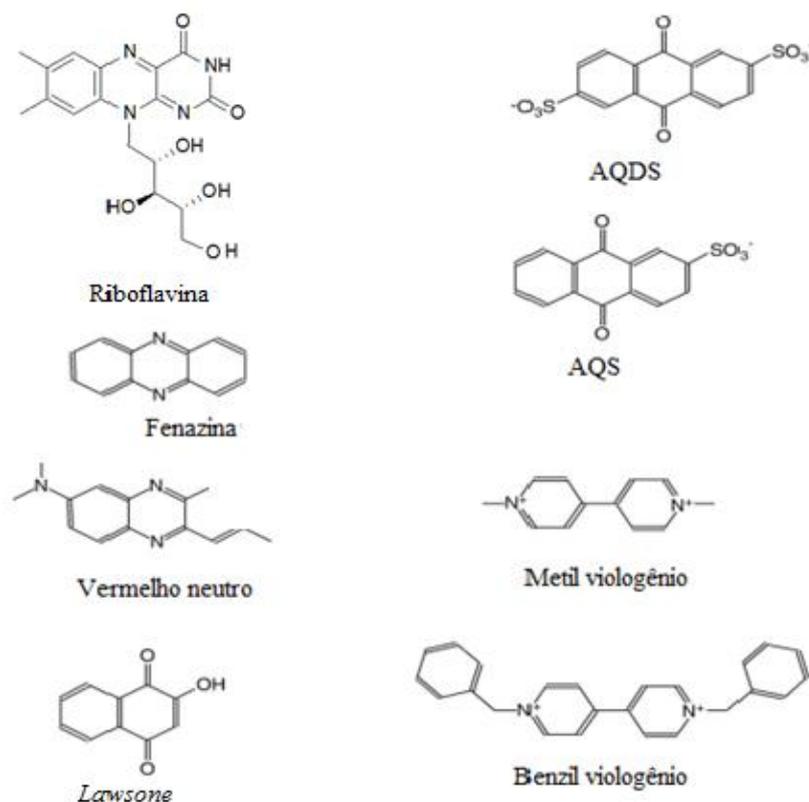
Segundo van der Zee e Cervantes (2009), durante as duas últimas décadas, evidências acumuladas mostraram o potencial do uso de reatores anaeróbios, tais como, UASB (reatores anaeróbios de manta de lodo) e EGSB (reator granular de leito expandindo), em transformações redutivas capazes de modificar, com alto rendimento, poluentes contendo grupos eletrofílicos em suas estruturas, como é o caso dos azo corantes, dos compostos nitro-aromáticos, halogenados alifáticos, halogenados aromáticos e metalóides. Uma representação dos reatores UASB e EGSB é mostrada na figura 2.11.



**Figura 2.11** - Representação esquemática dos reatores UASB e EGSB Fonte: (Seghezzo *et al.*, 1998).

Contudo, transformações redutivas principalmente de compostos recalcitrantes ao tratamento anaeróbio, se processam muito lentamente devido a efeitos de toxicidade e limitações na transferência de elétrons, levando a pobres performances ou até mesmo ao colapso dos biorreatores. (Rodgers e Bunce, 2001; Van der Zee *et al.*, 2001 *apud* van der Zee e Cervantes, 2009).

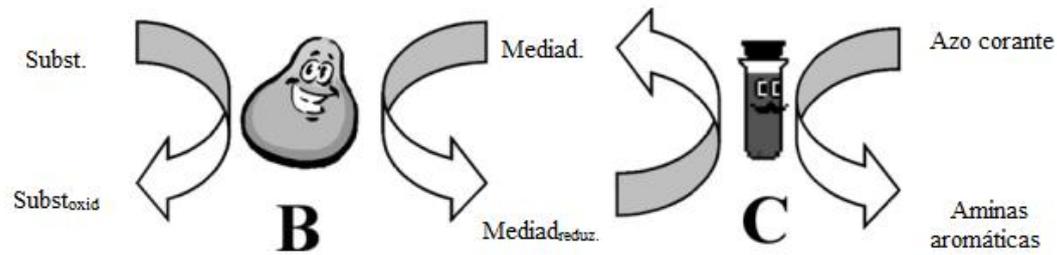
Desde a década de 90, pesquisas têm sido conduzidas para explorar os efeitos catalíticos de diferentes carreadores de elétrons nos processos redox de biotransformações. Carreadores de elétrons, também conhecidos como mediadores redox (MR), são moléculas orgânicas capazes de serem convertidas em sua forma oxidada e reduzida. Isto confere a eles a capacidade de atuarem como transportadores de elétrons em múltiplas reações redox. Mediadores redox, aceleram as transferências de elétrons por diminuírem a energia de ativação da reação global envolvida nos processos de oxido-redução e em alguns casos, são pré-requisitos para tais reações acontecerem (van der Zee e Cervantes, 2009). Alguns dos principais mediadores redox encontrados na literatura são mostrados na figura 2.12.



**Figura 2.12** - Estruturas de alguns dos principais mediadores redox encontrados na literatura. Fonte: van der Zee e Cervantes (2009)

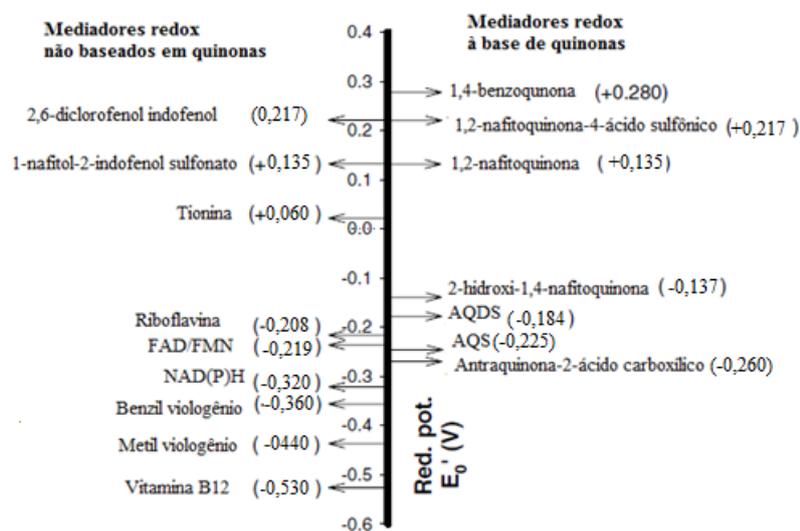
Diversos são os estudos que relatam o uso de mediadores redox para acelerar o processo de redução de azo corantes em condições anaeróbias. O caráter eletrófilo da ligação azo, faz com que essa classe de compostos seja problemática para as estratégias oxidativas da degradação microbiológica, tornando os processos de lodos ativados inadequado para a degradação destes corantes (Ganesh *et al.*, 1994; Pagga e Brown, 1986 *apud* Field e Brady, 2003).

A descoloração redutiva de azo corantes na presença de mediadores redox ocorre em duas etapas distintas (figura 2.13), a primeira etapa consiste na redução enzimática não específica do mediador e a segunda, na reoxidação química do mediador pelo azo corante (Keck *et al.*, 1997).



**Figura 2.13** - Redução anaeróbica de azo corante na presença de mediador redox, Fonte: (Dos Santos *et al.*, 2007).

Teoricamente, para mediar a redução biológica de azo corantes, o carreador de elétrons deve ter um potencial redox entre o potencial do doador primário de elétrons e do azo corante (van der Zee *et al.*, 2003). Infelizmente, o potencial padrão de redução ( $E_0$ ) da maioria dos azo corantes é desconhecido, mas, essa informação pode ser obtida pelo uso da polarografia. Em um estudo para saber o potencial redox de diferentes azo corantes, foi encontrado que estes valores geralmente estão entre -0,430V e -0,180V (Dos Santos *et al.*, 2007). A figura 2.14 mostra o  $E_0$  de alguns MR.



**Figura 2.14** -  $E_0$  para diferentes mediadores redox Fonte:(Dos Santos *et al.*, 2007).

O potencial padrão de redução pode ser um bom parâmetro para indicar se um composto pode ou não funcionar como um eficaz mediador redox. Contudo, outros fatores parecem ser importantes, pois, experimentos com diferentes taxas de descoloração utilizando-se os mesmos tipos de processos têm sido relatados para

corantes com  $E_0$  próximos e taxas de descoloração semelhantes têm sido encontradas para corantes com diferenças consideráveis no  $E_0$ . Estima-se que impedimentos estéricos entre o azo corante e o mediador redox podem interferir na redução do azo corante (Dos Santos *et al.*, 2004). Outros elementos que podem estar ligados à boa ação dos carreadores de elétrons são a diminuição da densidade eletrônica na ligação azo (Walker e Ryan, 1971 *apud* Dos Santos *et al.*, 2004) e a estrutura do corante (Jamal *et al.*, 2011).

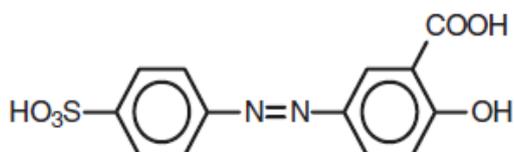
Dentre os compostos citados na literatura, têm destaque nos procedimentos de degradação anaeróbia de azo corantes mediadores redox como as quinonas antraquinona sulfonada (AQS) e antraquinona dissulfonada (AQDS), flavinas como a Riboflavina (Rib) (Figura 2.12) e o extrato de levedura (EL) que contém em sua composição compostos como a vitamina B2 e a niacina.

Quinonas são conhecidas por serem componentes aceitadores de elétrons das substâncias húmicas. Estes compostos desempenham papel importante não unicamente como aceitadores finais de elétrons de alguns compostos orgânicos recalcitrantes, mas também, facilitando a transferência de elétrons de um doador primário para um receptor final de elétrons. (Cervantes *et al.*, 2000; Field *et al.*, 2000). Em experimentos para degradação anaeróbia do azo corante vermelho reativo 2 (RR2), (van der Zee *et al.*, 2001a) evidenciaram a eficácia da AQDS como mediador redox em procedimentos de fluxo contínuo e batelada. Estes ensaios em batelada com aplicação de AQDS revelaram um aumento na taxa de remoção de cor de cerca de 10 vezes quando comparados aos ensaios com ausência de AQDS. Nos experimentos de fluxo contínuo, com reatores UASB em escala de bancada, houve um acréscimo na margem de degradação do corante de 30% para 98%, quando comparados experimentos sem adição do MR e com adição de MR respectivamente. Quinonas têm demonstrado eficiente ação como transportadores de elétrons em reações químicas e microbiológicas. São vários os trabalhos que divulgam melhores resultados na cinética de remoção de cor de azo corantes empregando-se quinonas como mediadores redox (Costa *et al.*, 2010; Dos Santos, 2005a; Rau *et al.*, 2002; van der Zee *et al.*, 2001; Cervantes *et al.*, 2001;).

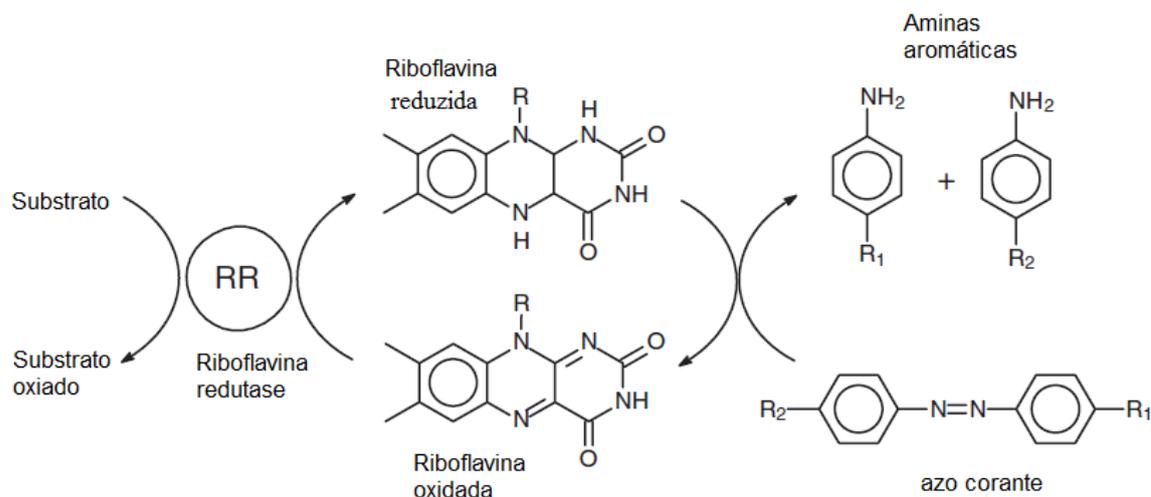
A ação do extrato de levedura, fonte dos mediadores redox niacina e riboflavina, também foi comprovada para fins de melhoria da cinética de remoção de

cor em reatores anaeróbios em regime de batelada e fluxo contínuo. Tal composto contendo os mediadores redox supra citados mostrou sua eficácia atuando em temperatura controlada fixada em 25°C. Resultados experimentais demonstram que além de funcionar como mediador redox elevando a eficiência na degradação do azo corante azul drimaren HR-FL de 25% para 87% nas primeiras 24 horas de ensaio, o extrato de levedura também pode agir ao mesmo tempo como co-substrato nos processos de degradação anaeróbia de azo corantes alcançando uma capacidade final de remoção de cor acima de 90% em experimentos de fluxo contínuo e batelada (Baeta *et al.*, 2012; Corrêa *et al.*, 2009).

A riboflavina desempenha um importante papel bioquímico, especialmente em reações redox, devido a sua habilidade em participar de reações com a transferência de um ou dois elétrons (Souza *et al.*, 2005). Tal característica confere à riboflavina a capacidade de atuar como mediador redox nos processos de degradação anaeróbia de azo corantes. Field e Brady (2003), demonstraram a participação da riboflavina na redução do azo corante amarelo mordante 10 (figura 2.15). Conforme estes autores a adição de riboflavina juntamente com lodo anaeróbio melhorou a cinética de redução deste corante em 61% utilizando-se uma razão molar riboflavina : azo corante igual a 1:60, correspondente à concentração de 3,3mg/L da vitamina nos reatores. Em seus experimentos, o aumento da concentração deste mediador redox acelerou a velocidade da cinética de degradação até a um valor máximo, que foi obtido usando-se uma concentração igual a 18,8mg/L de riboflavina. Portanto, altas concentrações de riboflavina não significam necessariamente aumento na taxa de transferência de elétrons. Esta afirmação leva a concluir que a atividade enzimática é fator determinante para o mecanismo de atuação do carreador de elétrons, sendo a ação da riboflavina subordinada a ela. A figura 2.16 traz uma representação esquemática da redução de azo corantes mediada por riboflavina.



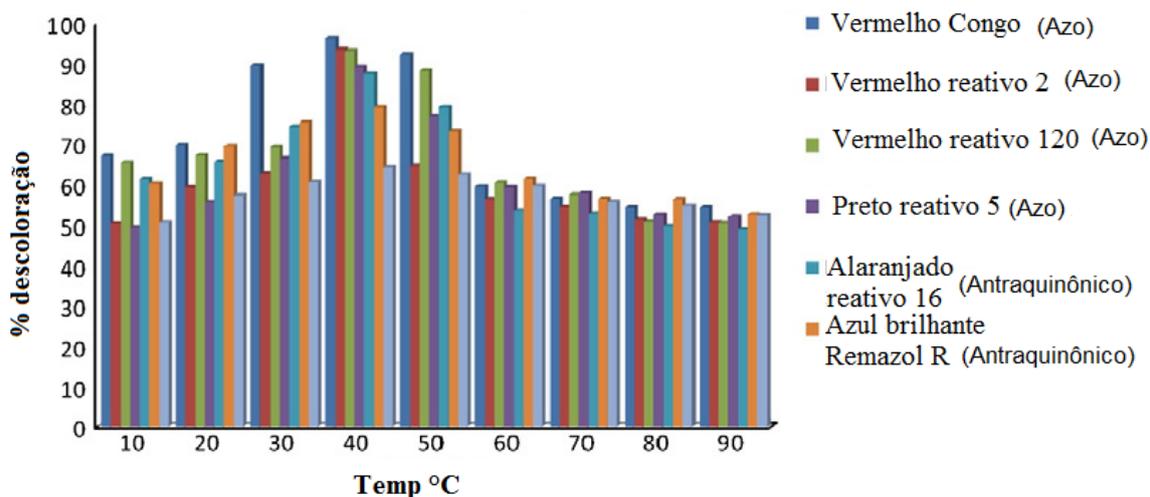
**Figura 2.15:** Estrutura química do Azo corante Amarelo mordante 10.



**Figura 2.16:** Representação esquemática da redução de azo corante mediada por riboflavina. Adaptado de Field e Brady (2003).

Deve-se destacar a importância da temperatura para o aprimoramento da remoção de azo corantes por processos de tratamento anaeróbios. Sejam em ensaios livres de mediadores redox ou nos ensaios com a inclusão dos transportadores de elétrons, entre eles a riboflavina, publicações têm relatado que tratamentos termofílicos, considerando-se temperaturas em torno de 50°C são mais efetivos quando comparados a tratamentos com temperaturas na faixa mesofílica em torno dos 30°C. Contudo, é possível perceber que mesmo estando em temperaturas mais amenas, em torno de 25°C, a vitamina B2 e outros compostos como AQS e AQDS desempenham função como mediadores redox e melhoram acentuadamente a velocidade em que os azo corantes são reduzidos. (van der Zee e Cervantes, 2009; Dos Santos, 2005a;). A figura 2.17 ilustra a remoção de cor com adição de riboflavina a sistemas anaeróbios para diferentes corantes em temperaturas variadas.

### Percentagem de descoloração em diferentes temperaturas



**Figura 2.17-** Gráfico temperatura versus porcentagem de descoloração de diferentes corantes utilizando-se mediador redox riboflavina. Fonte: (Jamal *et al.*, 2011).

#### 2.3.1-Mediador Redox imobilizado

O efeito da adição de mediadores redox em processos de redução de corantes, principalmente azo corantes, tem ampla divulgação literária conforme pode ser visto em várias passagens deste texto. Um dos possíveis problemas comuns ao acréscimo de mediadores redox nos sistemas de tratamento é a perda destes no efluente final e a consequente necessidade de renovação de tais complementos para manter sua quantidade em níveis adequados para o bom funcionamento do sistema. O descarte destes compostos no efluente final significa aumento nos custos do tratamento e contaminação secundária do meio ambiente por mediadores recalcitrantes, como por exemplo, quinonas. Uma importante alternativa para solucionar tal questão é a imobilização dos transportadores de elétrons em suportes sólidos insolúveis viabilizando, desta maneira, a sua recuperação e reuso diminuindo os custos operacionais e os impactos causados no meio ambiente (Zylla *et al.*, 2006).

Mediadores redox têm sido imobilizados em suportes sólidos por técnicas de adsorção, ligação covalente, polimerização e retenção física em materiais poliméricos (Kochius *et al.*, 2012).

Carvão ativado é conhecido por possuir quinonas em sua superfície. Dependendo do pré-tratamento, a concentração superficial de quinonas neste material pode ser acima de poucos milimols por grama (Mangun *et al. apud* van der Zee *et al.*, 2003). O efeito da adição de carvão ativado como mediador redox imobilizado foi estudado por van der Zee *et al.* (2003) em reatores UASB de bancada, tendo como corantes modelos o vermelho reativo 2 (RR2) nos ensaios biológicos e o alaranjado ácido 7 (AO7) nos experimentos abióticos. Tanto nos estudos biológicos quanto nos estudos químicos ficou realçado o caráter transportador de elétrons do carvão ativado acentuando significativamente o grau de redução dos corantes, devendo-se destacar que, nestes estudos, a remoção de cor causada por adsorção no carvão, foi considerada.

Fixações de mediadores redox por adsorção em resinas de troca iônica têm sido relatadas para aprimorar a redução de azo corantes em condições anaeróbias. Entre os compostos que figuram imobilizados junto a resinas de troca iônica, encontram-se substâncias húmicas, AQDS e 1,2-naftoquinona-4-sulfonada (NQS). Resultados experimentais têm revelado aumento por volta de 3,8 vezes na taxa de degradação de azo corantes devido a presença de NQS imobilizada em resina de troca iônica. AQDS adsorvido nessas resinas levaram a amplificação na constante de degradação de azo corante acima de 1,9 vezes (Cervantes *et al.*, 2010). Ensaios empregando substâncias húmicas imobilizadas em resinas de troca iônica exibiram acréscimo de 2 vezes na constante de degradação do azo corante RR2 por organismos anaeróbios quando comparados a inóculos sem a presença do mediador imobilizado (Cervantes *et al.*, 2011).

Nanopartículas de hidróxido e óxidos metálicos foram utilizadas por Alvarez *et al.* (2010) para imobilizar AQDS por meio de adsorção. ZnO,  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e Al(OH)<sub>3</sub> mostraram-se efetivos para reter em suas superfícies esse mediador redox. As nanopartículas de hidróxido de alumínio foram aquelas que demonstraram a melhor capacidade de adsorção para a AQDS. A forma pela qual ocorreu o processo de adsorção foi creditada às interações entre as cargas superficiais positivas do hidróxido de alumínio à pH 4 e as cargas negativas dos grupos sulfonados ionizados da AQDS. Nos testes de degradação anaeróbia do azo corante RR2, houve um aumento de 7,5 vezes na taxa de descoloração ao se usar o transportador de elétrons imobilizado em

nanopartículas de  $\text{Al}(\text{OH})_3$ . Comparativamente aos estudos realizados com AQDS não imobilizado, este mediador redox fixado apresentou resultados de remoção de cor inferiores ao de sua forma livre num mesmo intervalo de tempo. Apesar disso, algumas vantagens devem ser consideradas no uso deste material imobilizado em sistemas de tratamento para degradação de azo corantes. Entre elas estão o baixo custo para efetivar sua síntese, propriedades físico-químicas favoráveis à fixação prevenindo o desprendimento do material e boa capacidade de mediação na comparação com mediadores redox imobilizados em resinas de troca iônica, por exemplo.

Com o desenvolvimento da imobilização de microorganismos em suportes sólidos, as espumas de poliuretano (PUF) com macroporos têm atraído muita atenção devido a características como facilidade de uso, boa resistência mecânica, baixa toxicidade e larga área superficial (Duarte *et al.*, 2010; Guo *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2009 *apud* Lu *et al.*, 2010). Essas espumas podem servir não só como um suporte móvel para biomassa ativa, mas também, para reter microorganismos por incorporação em um sistema híbrido de crescimento. Tendo em vista tais características da PUF Lu *et al.* (2010) efetuaram por meio de ligação covalente a imobilização de AQS em PUF para estudos de degradação anaeróbia do azo corante amaranth. As respostas dos ensaios demonstraram que a capacidade catalítica da antraquinona sulfonada imobilizada em PUF, pôde manter sua eficiência de descoloração acima de 98,7% durante 10 corridas e a análise elementar de enxofre na espuma de poliuretano concluiu que a concentração deste elemento no material não se reduziu, indicando, desta maneira, a boa estabilidade do PUF-AQS durante os ensaios. Os efeitos de adsorção do corante na espuma puderam ser desprezados tendo em vista a baixa remoção de cor avaliada durante ensaios privados da presença de microorganismos. Quanto ao desempenho da PUF-AQS, obteve-se um aumento de 4 vezes na taxa de degradação específica do azo corante na comparação com inóculos sem a presença do catalisador imobilizado.

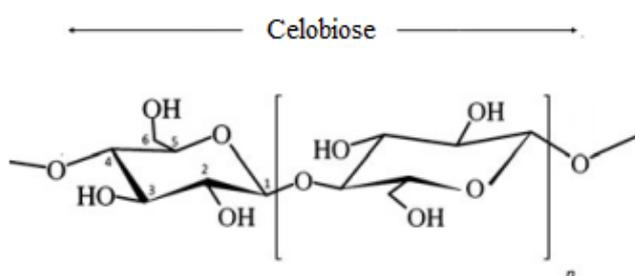
Além de AQS e AQDS, outros compostos conhecidos por atuarem como mediadores redox têm sido imobilizados em uma gama variável de suportes destinando-se a diferentes aplicações. No campo das análises eletroanalíticas e no desenvolvimento de biossensores, flavinas como a riboflavina, FMN e FAD têm sido fixadas em

eletrodos de pasta de carbono por intermédio de materiais modificados, como por exemplo, a sílica gel (Pereira *et al.*, 2003; Yamashita *et al.*, 2002).

Um interessante material com características favoráveis para a imobilização de mediadores redox é a celulose. Este biopolímero é considerado uma enorme fonte de matéria prima para a produção de materiais com aplicação ambiental (Huber *et al.*, 2012). A estrutura molecular da celulose confere a ela propriedades que possibilitam a modificação deste biopolímero formando produtos com desejado grau de reatividade (Klemm *et al.*, 2005).

## 2.4 - Celulose quimicamente modificada

A celulose é um dos mais abundantes biopolímeros da terra.  $1,59 \times 10^{12}$  toneladas de celulose são produzidas por ano. Assim, representa uma enorme fonte de matéria prima renovável e biodegradável (Huber *et al.*, 2012). Polpa de madeira representa a mais importante fonte de celulose, a maior parte usada na produção de papel e papelão (Klemm *et al.*, 2005). Este biopolímero é formado por unidades de D-anidroglicopiranosose, também referidas simplesmente como unidades de glicose, reunidas em grupos de dois como celobiose. A unidade singular da celulose é a hexose que pode se apresentar de duas formas ( $\alpha$  ou  $\beta$ ), dependendo da posição do grupo hidroxila em posição anomérica (Huber *et al.*, 2012). A estrutura molecular da celulose confere a ela propriedades características como: quiralidade, degradabilidade e ampla variedade química iniciada pela reatividade dos grupos hidroxilas presentes nas unidades de celobiose, que possibilitam a modificação deste biopolímero, formando produtos com desejado grau de reatividade (Klemm *et al.*, 2005).



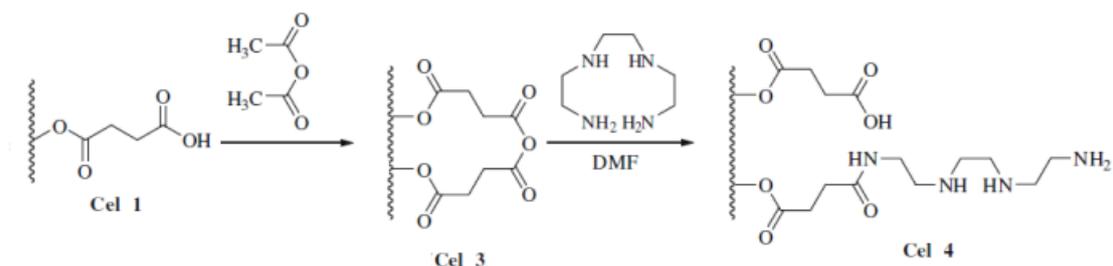
**Figura 2.18:** Estrutura molecular da celobiose (Huber *et al.*, 2012)

A celulose pode sofrer modificações químicas através do uso principalmente das funções hidroxilas primárias presentes em suas moléculas. Modificações químicas de materiais como a celulose são normalmente realizadas para criar polímeros com diferentes propriedades físico-químicas (Corti *et al.*, 2004).

Novas aplicações para a celulose tiram vantagem da sua biocompatibilidade e quiralidade para a imobilização de proteínas, anticorpos e heparina (Martinez, *et al.*, Kauffmann *et al.*, Erdtmann *et al. apud* Klemm *et al.*, 2005).

No nosso grupo de pesquisa (Gurgel e Gil, 2009), a celulose foi tratada através de mercerização, que é o tratamento com hidróxido de sódio, aumentando sua área superficial e fazendo com que haja rompimento de ligações de hidrogênio intramoleculares nas macromoléculas de celulose, tornando mais disponíveis os grupos hidroxila destas macromoléculas. A fim de criar um novo material capaz de adsorver metais como  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$  em sistemas aquosos, a celulose mercerizada foi esterificada com anidrido succínico produzindo o material conhecido como celulose 1 (cel 1). Este último material, na presença de anidrido acético sob agitação magnética produziu a celulose 3 (cel 3). Em uma última etapa a cel 3 reagiu com trietilenotetramina produzindo a celulose 4 (cel 4), com características favoráveis para a adsorção dos metais acima citados em meio aquoso. Um esquema da produção da cel 4 a partir da cel 1 pode ser visto na figura 2.19.

A modificação da celulose, produzindo a celulose 3 abre a possibilidade de incorporação da riboflavina neste suporte para produção de um novo material capaz de atuar como mediador redox imobilizado em sistemas de tratamento anaeróbico contendo azo corantes (figura 2.22).

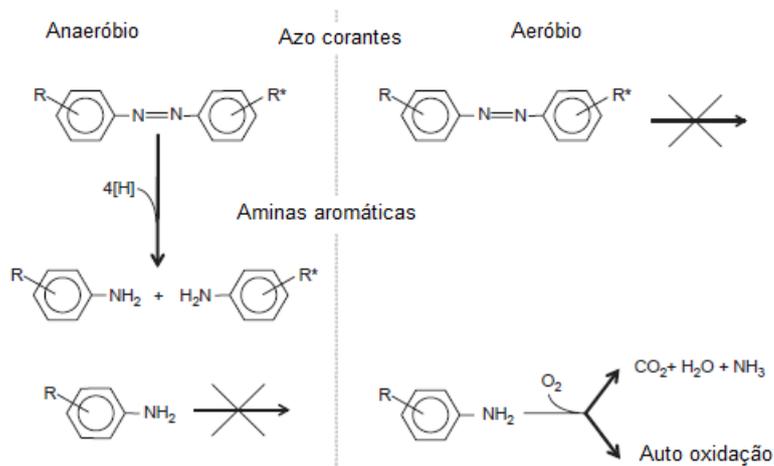


**Figura 2.19-** Modificação química da cel 1 para produzir a cel 4. (Gurgel e Gil, 2009)

## 2.5 - Processos de tratamento combinados

Tendo em vista os tipos de processos para a remediação de efluentes coloridos descritos até o momento, em especial aqueles que envolvem azo corantes, deve-se considerar que a efetividade dos atuais métodos de tratamento está relacionada às características peculiares das águas residuárias originadas nos processos industriais, que envolvem em seu conteúdo variados componentes orgânicos e inorgânicos. Pode-se notar que não há um método isolado com eficácia comprovada para degradar de forma satisfatória todos os poluentes que fazem parte das águas de despejo e que em alguns casos ocorrem a formação de subprodutos que exigem trato adicional devido aos potenciais efeitos nocivos que podem causar quando dispostos no meio ambiente. Um exemplo deste caso é a utilização de tecnologia anaeróbia aplicada ao trato de efluentes têxteis, tal tecnologia é capaz de remover corantes satisfatoriamente, porém, apresenta subprodutos como aminas aromáticas que são recalcitrantes a este tipo de tratamento mas podem ser degradadas em sistemas aeróbios. Portanto, uma alternativa plausível para aperfeiçoar os processos de tratamento de efluentes coloridos é a combinação das tecnologias disponíveis.

A biodegradação de azo corantes geralmente é viável unicamente se a ligação azo é primeiramente reduzida. Algumas cepas de bactérias aeróbias especializadas são capazes de reduzir grupos azo através de especiais enzimas azo reductases tolerantes a oxigênio (Kulla, 1981 *apud* Tan *et al.*, 1999). Por outro lado, a redução de azo corantes é capacidade ubíqua de muitos microorganismos sob condições anaeróbias (Donlon *et al.* 1997 *apud* Tan *et al.*, 1999). No entanto, a redução de azo corantes leva a formação de aminas aromáticas que se acumulam nos reatores. A mineralização de aminas aromáticas por bactérias aeróbias e lodo aeróbio em plantas de tratamento é bastante comum, assim, condições aeróbias são preferíveis para degradar as aminas aromáticas acumuladas (Brown e Laboureur 1983; Manalney 1960, *apud* Tan *et al.*, 1999). Desta forma, um pré requisito para a mineralização de muitos azo corantes é a combinação de etapas reductivas e oxidativas. A figura 2.20 mostra um esquema generalizado para a degradação de azo corantes em sistemas aeróbios e anaeróbios.



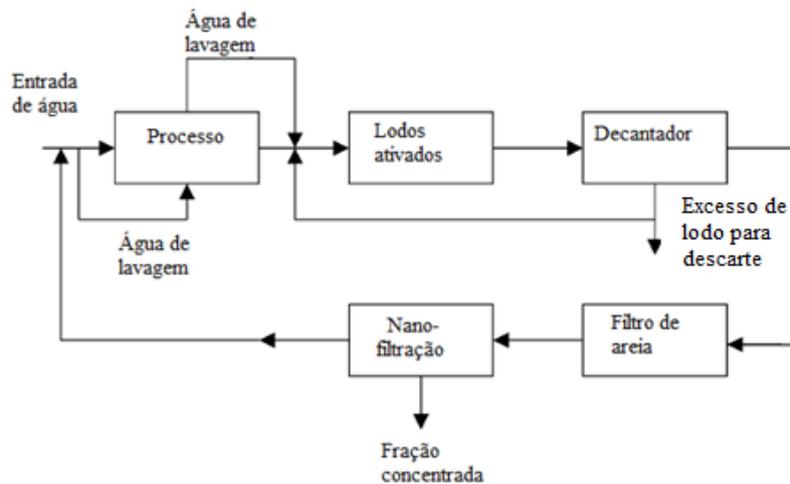
**Figura 2.20** - Visão geral do caminho dos Azo corantes em tratamentos anaeróbios e aeróbios. Adaptado de van der Zee e Villaverde (2005).

O mais lógico conceito de tratamento para remover azo corantes em sistemas de tratamento biológico é baseado no tratamento anaeróbio para clivagem redutiva dos corantes através das azo ligações em combinação com o tratamento aeróbio para a degradação dos produtos originados desta clivagem, dentre eles, aminas aromáticas. Desde 1990 muitas pesquisas têm sido publicadas com biorreatores aeróbios-anaeróbios em sequência ou integrados para remover azo corantes de águas residuárias.(van der Zee e Villaverde, 2005) .

Em comum, estudos que relatam ensaios onde a aplicação de uma sequência de biorreatores anaeróbios-aeróbios é utilizada, apontam a boa eficiência de remoção de cor na etapa anaeróbia, geralmente acima de 90% dependendo da estrutura do corante e a eficaz eliminação da DQO residual do sistema anaeróbio na etapa aeróbia, tendo como destaque a remoção das aminas aromáticas. Como empecilhos deste tipo de tratamento são mencionados o alto tempo de retenção nos reatores anaeróbios atrelados a alguns tipos de corantes, problema esse, que pode ser solucionado através do uso de mediadores redox como flavinas, quinonas e carvão ativado. Outro inconveniente deste tipo de tratamento está na falta de esclarecimento a respeito do caminho oxidativo tomado pelas aminas aromáticas, estando em pauta a extensão em que elas irão sofrer transformações químicas ou biológicas, competição entre auto-oxidação e oxidação biológica, bem como, a extensão em que elas permanecerão dispersas em fase aquosa. (Yasar *et al.*, 2012; van der Zee e Villaverde, 2005; van der Zee *et al.*, 2003b). Somando-se a esses fatores desfavoráveis encontram-

se ainda a elevada demanda de energia necessária nos sistemas de aeração dos lodos ativados e a formação de grande quantidade de lodo. Tan *et al.* (1999), investigaram a degradação dos azo corantes 4-fenilazofenol e amarelo mordante 10 em condições aeróbias e anaeróbias integradas por combinação de lodo granular anaeróbio enriquecido por culturas degradantes de amins aromáticas e adição de oxigênio. Seus resultados demonstraram ser possível a completa degradação dos azo corantes utilizados pela ação integrada de organismos aeróbios e anaeróbios presentes no lodo. A adição do co-substrato etanol contribuiu para o processo, mas exigiu acréscimo de oxigênio no experimento devido ao consumo do mesmo por esse co-substrato. A presença de organismos facultativos e bactérias anaeróbias tolerantes ao oxigênio foram fatores importantes relacionados com a mineralização dos corantes.

Estudos têm demonstrado a capacidade do uso de diferentes técnicas de tratamentos físico-químicos aliadas entre si (Ellouze *et al.*, 2012) e à tratamentos biológicos aeróbios para o trato de esgotos domésticos e industriais. O emprego de membranas tem sido relatado como alternativa para os tratamentos biológicos, como etapa complementar a esses tratamentos e também para serem usadas integradas à eles (Zylla *et al.*, 2006; van der Bruggen *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 2000). O típico tratamento utilizando a tecnologia de membranas de nanofiltração combinadas ao sistema de lodos ativados para o trato de resíduos dos processos têxteis é ilustrado na figura 2.21. Neste sistema, a unidade de nanofiltração é exterior e após o reator de lodos ativados. A qualidade da água obtida é suficientemente boa para que ocorra a sua recirculação com reaproveitamento no processo produtivo (van der Bruggen *et al.*, 2004).



**Figura 2.21** - Sistema combinado de lodos ativados e membrana de nanofiltração na indústria têxtil. Fonte: van der Bruggen *et al.* (2004).

De acordo com van der Bruggen *et al.* (2004) o uso da tecnologia de membranas nas indústrias pode ser um fator chave para a recirculação de energia, água e produtos químicos. Estes pesquisadores demonstraram a habilidade de membranas de microfiltração seguidas de membranas de nanofiltração no trato de efluentes do banho de acabamento de indústrias têxteis.

Procedimentos de filtração com a inclusão de membranas no interior dos reatores biológicos também têm sido alvo de estudos para o aperfeiçoamento das técnicas de melhoria da qualidade dos resíduos têxteis. Neste campo de pesquisas há que se realçar ainda ensaios que empregam reatores biológicos otimizados pelo uso de carvão ativado e membranas submersas como parte de um sistema único capaz de efetuar o trato de rejeitos gerados na manufatura têxtil (Hai *et al.*, 2011; Akram e Stuckey, 2008; Roberts *et al.*, 2000).

Os principais problemas ligados à tecnologia de membranas estão relacionados ao “*fouling*” ou entupimento da membrana, que leva à redução do fluxo de permeado, aumento nos gastos energéticos e procedimentos de limpeza, além da redução no tempo de vida útil da membrana (Aouni *et al.*, *apud* Ellouze *et al.*, 2012).

## 2.6- Conclusões da revisão literária

Conforme a revisão bibliográfica feita neste trabalho, pode-se observar a importância dos azo corantes para as mais diversas aplicações industriais. Esta classe representa cerca de 70% do montante de corantes comercializados mundialmente. A indústria têxtil é um dos mais importantes setores que fazem uso de azo corantes em seus processos produtivos. A gama de estruturas desses corantes faz com que os sistemas de tratamento, em geral, não tenham a mesma eficiência para todos os tipos de corantes.

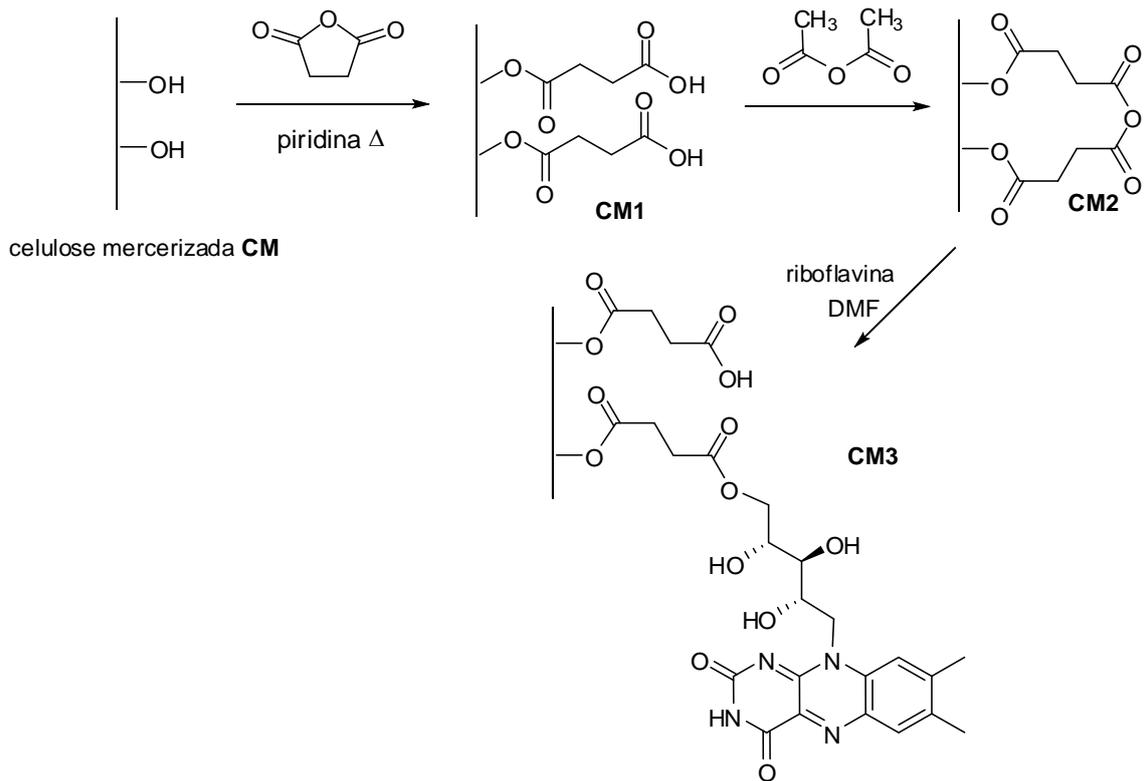
Atualmente são várias as tecnologias disponíveis para o tratamento de resíduos industriais têxteis, sejam elas métodos biológicos ou não biológicos. Os efluentes têxteis apresentam composição complexa e variações de acordo com o processo produtivo. Desta maneira, um sistema de tratamento eficiente deve ser capaz de se adaptar as diferentes condições impostas pelos resíduos que chegam a ele. Entre as tecnologias aplicadas ao tratamento de resíduos industriais têxteis, têm destaque os sistemas de tratamentos biológicos. Este tipo de tratamento vem sendo largamente representado pelos sistemas aeróbios de lodos ativados na indústria têxtil.

Os sistemas aeróbios de tratamento de efluentes têxteis são capazes de remover satisfatoriamente DQO, porém, no que diz respeito a remoção de azo corantes exibem baixa capacidade de degradação. Contrastando com os sistemas biológicos aeróbios no tratamento de resíduos têxteis, estão os sistemas anaeróbios que possuem boa capacidade de remoção de cor e baixa habilidade para remover DQO. Assim sendo, a literatura tem relatado que alternativas para otimizar a eficiência dos sistemas de tratamento biológicos nas indústrias têxteis, consistem na combinação de tecnologias, as quais podem assumir vários arranjos.

Dentre as possíveis combinações existentes para o tratamento de efluentes têxteis, tem lugar o uso de reatores anaeróbios seguidos de reatores aeróbios. Tal arranjo, permite satisfatória remoção de cor na etapa anaeróbia seguida da degradação aeróbia dos subprodutos gerados anaerobiamente, entre eles, aminas aromáticas.

Um dos fatores que reduzem a eficiência dos sistemas anaeróbios de degradação de azo corantes é a velocidade de transferência de elétrons de um doador primário (fonte de carbono) para o aceptor final azo corante. Essa transferência provoca a redução do corante com a quebra da ligação azo e descoloração do efluente. Para este problema, a literatura mostra que a utilização de mediadores redox como quinonas e riboflavina é capaz de melhorar acentuadamente a cinética de redução dos azo corantes. Um dos obstáculos para se empregar mediadores redox nos sistemas de tratamento é a sua perda durante o descarte do efluente final, esta questão, abre campo para estudos com mediadores redox imobilizados. Dos trabalhos que abrangem a imobilização de mediadores redox para emprego em processos de tratamento anaeróbio de azo corantes, encontram-se várias pesquisas que expõem a fixação de quinonas, no entanto, a literatura é pobre no que diz respeito à fixação de outros mediadores redox, como por exemplo, a riboflavina.

Segundo os textos aqui revisados, são diversos os materiais utilizados para se imobilizar carreadores de elétrons. Entre eles, encontram-se as resinas de troca iônica, nanopartículas de hidróxido e óxidos metálicos e PUF. Com potencial aplicação para esse fim, está a celulose, que dispõe de características químicas e físicas favoráveis à sua modificação, proporcionando uma versatilidade e capacidade para agregar materiais. A modificação da celulose como descrita no ítem 2.5 até a produção da cel 3 cria um material capaz de reagir com compostos nucleófilos como é o caso da trietilenotetramina para a formação da cel 4. Tal reatividade pode também ser usada para a incorporação da riboflavina que tem grupos hidroxila capazes de reagir com anidrido formar, desta maneira, uma ligação covalente tipo éster com este material produzindo a celulose modificada quimicamente com riboflavina, CM3. Uma representação esquemática para a produção da CM3 é ilustrada na figura 2.22.



**Figura 2.22** - Rota sintética para a produção da CM3

### **3- Objetivos da pesquisa**

#### **3.1- Geral**

O objetivo deste trabalho é a síntese de um novo material possuindo riboflavina imobilizada na celulose via ligação covalente e a utilização deste material como mediador redox no processo de degradação anaeróbia do azo corante modelo amarelo ouro remazol RNL.

#### **3.2 - Específicos**

1- Modificar a celulose usando a metodologia do nosso grupo de pesquisa (Gurgel e Gil, 2009) para produzir o intermediário CM2 (figura 2.22, pág. 38).

2- Realizar a incorporação do mediador redox riboflavina na CM2 para a produção do material inédito CM3.

3- Caracterizar a CM3 por análise elementar e FTIR.

4- Avaliar a eficiência do material CM3 na descoloração de solução aquosa do azo corante modelo amarelo ouro remazol RNL em reatores em escala de bancada.

## 4 - Materiais e métodos

### 4.1. - Materiais

A celulose utilizada neste trabalho foi obtida da Aldrich, cat. 31,069-7, lot. 06712kc-444.

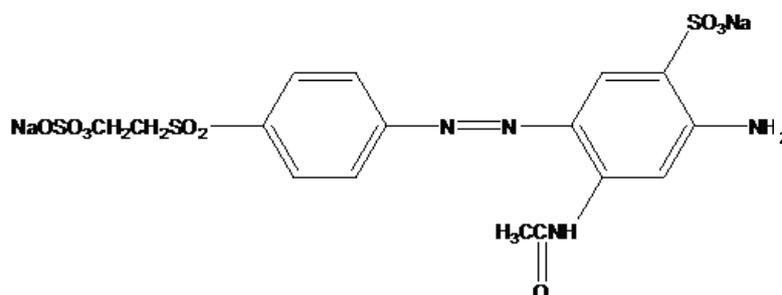
Os reagentes anidrido succínico (AS), anidrido acético (AA), piridina (Pi), hidróxido de sódio (NaOH), etanol (EtOH), acetona (Ac), ácido acético (HcOH), dicloro metano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) e riboflavina (RF) foram obtidos da VETEC (Brasil). Ácido clorídrico (HCl), éter dietílico (ED), N,N'-Dimetilformamida (DMF), Dimetilsulfóxido (DMSO), biftalato de potássio (Bp), fenolftaleína (Fen) adquiridos da empresa SYNTH (Brasil), azo corante amarelo ouro remazol RNL da Plasticores Produtos para Serigrafia.

Os reagentes anidrido succínico, anidrido acético e dimetilsulfóxido foram usados sem purificação prévia.

Como reatores foram utilizados frascos âmbar de 250mL. Estes reatores foram inoculados com lodo anaeróbio proveniente de reator UASB localizado no Centro de Pesquisa e treinamento em saneamento (CeTPS) UFMG/COPASA, situado na ETE Arrudas, Belo Horizonte, Minas Gerais. O azo corante modelo foi o amarelo ouro remazol RNL, as fontes de carbono foram glicose ou extrato de levedura (Himédia). Como mediadores redox foram utilizados CM3, riboflavina VETEC ou extrato de levedura (Himédia). Para a análise de remoção de cor foram utilizados uma centrífuga e espectrofotômetro (HP 8453 UV – Visible system). A composição da solução nutriente é mostrada na tabela 4.1 e estrutura do azo corante amarelo ouro remazol na figura 4.1.

**Tabela 4.1:** Composição da solução nutriente utilizada nos ensaios

Macro-nutrientes	Concentração (mg/L)	Micro-nutrientes	Concentração (mg/L)
NaHCO <sub>3</sub>	2.500	NiCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	13,00
NH <sub>4</sub> Cl	1.112	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	8,00
MgCl <sub>2</sub>	250	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	5,00
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	189	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	5,00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	132,5	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3,00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	44,5	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,60
-	-	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,25
-	-	ZnCl <sub>2</sub>	0,13
-	-	AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,13
-	-	HCl	1mL/L



**Figura 4.1:** Estrutura química do azo corante Amarelo ouro remazol RNL.

## 4.2 – Métodos

### 4.2.1 - Purificação dos solventes

**Piridina:** Em um balão de fundo redondo de 1000mL, 600mg de piridina e 25g de hidróxido de sódio ficaram sob refluxo pelo período correspondente a uma noite. A piridina foi então destilada e armazenada em um balão de fundo chato contendo NaOH.

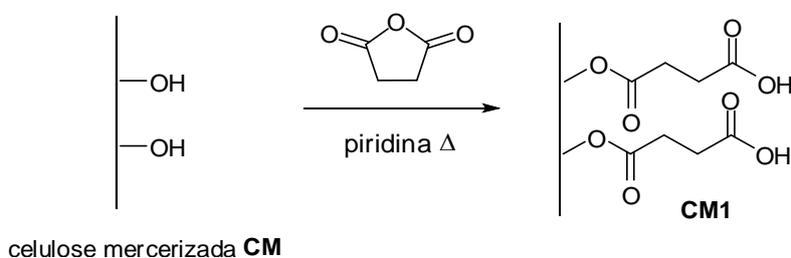
**Dimetilformamida:** A dimetilformamida foi tratada com peneira molecular tipo 4Å (Merck), por 2 horas, após esse tratamento seguiu-se a destilação da DMF a pressão reduzida que foi posteriormente armazenada em frasco ambar contendo peneira molecular.

#### 4.2.2 - Mercerização da Celulose

Em um erlenmeyer de 1000mL, foram tratados 15g de celulose com 400mL de solução aquosa de NaOH (5M) à 25°C e deixados sob agitação magnética constante pelo tempo correspondente a 18 horas. Após este período o álcali de celulose expandido foi filtrado em filtro de placa sinterizada e lavado com água destilada até pH 7. Em seguida a celulose mercerizada (CM) foi lavada com etanol e seca em estufa pelo período de 1 hora e meia à temperatura de 85°C.

#### 4.2.3 – Modificação da celulose mercerizada com anidrido succínico

Em um balão de fundo redondo de 500mL foram adicionados 11,66g de CM, 35g de anidrido succínico e 233mL de piridina anidra. O sistema foi deixado sob refluxo da piridina por aquecimento em manta durante 6 horas, produzindo a celulose modificada CM1, que foi filtrada em filtro de placa sinterizada e lavada conforme a seguinte sequência: solução de ácido acético em diclorometano (CH<sub>3</sub>COOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (1mol/L), etanol (95%), água destilada, ácido clorídrico (HCl 0,01mol/L), água destilada e finalmente com acetona. Depois das etapas de lavagem o material foi levado à estufa para secagem a temperatura de 80°C no tempo correspondente a 1 hora.



**Figura 4.2** - Modificação da CM com anidrido succínico.

#### 4.2.4 - Percentagem do ganho de massa da CM1 em relação a CM (pgm)

A percentagem do ganho de massa da CM1 em relação a CM foi calculada pelo método gravimétrico. Foram pesadas as massas dos materiais secos antes e depois da modificação e o cálculo efetuado segundo a seguinte equação:

$$pgm = \frac{mf - mi}{mi} \quad (4.1)$$

Onde:  $mi$  é a massa da CM e  $mf$  é massa da CM1

#### 4.2.5 – Determinação do grau de succinilação da CM1

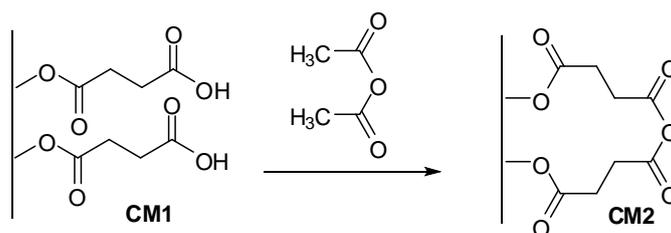
O grau de succinilação da CM1 foi determinado através do número de funções ácidas introduzidas no material de partida (Karnitz *et al.*, 2007). As funções ácido carboxílico por grama de CM1 foram determinadas por meio de retrotitulação. Em um erlenmeyer de 250mL foram agitados em mesa agitadora durante 1 hora, 100mL de uma solução padronizada de NaOH (0,009067mol/L) e 0,0865g de CM1. Três alíquotas de 25mL desta solução foram tituladas com HCl padronizado (0,007117mol/L). A concentração de ácido carboxílico,  $C_{COOH}$  (mol/g), foi calculada segundo a seguinte equação:

$$C_{COOH} = \frac{(C_{NaOH} \times V_{NaOH}) - 4(C_{HCl} \times V_{HCl})}{m_{CM1}} \quad (4.2)$$

Onde  $C_{NaOH}$  é a concentração da solução de NaOH em mol/L,  $V_{NaOH}$  é o volume de NaOH em litro (L),  $C_{HCl}$  é a concentração de HCl em mol/L,  $V_{HCl}$  é o volume de HCl gasto na titulação do excesso de NaOH em litro (L) e  $m_{CM1}$  é a massa de CM1 utilizada em grama.

## 4.2.6 - Modificação da CM1 com anidrido acético

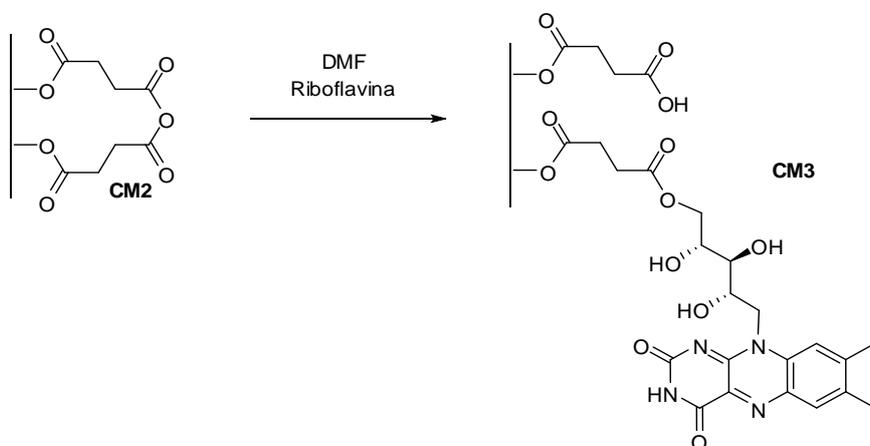
Em um balão de fundo redondo de 500mL, colocaram-se para reagir 265mL de anidrido acético e 9,4g de CM1. A reação ocorreu sob agitação magnética durante 24 horas a uma temperatura de 100°C. A seguir o produto resultante (CM2) foi filtrado em filtro de placa sinterizada, lavado com éter dietílico tratado com peneira molecular e levado para estufa à 100°C por aproximadamente 20 minutos.



**Figura 4.3** -Modificação química da CM1com anidrido acético

## 4.2.7 - Introdução da riboflavina na CM2

Para a incorporação da riboflavina na estrutura da CM2, reagiram sob agitação magnética por um período de 24 horas a 75°C, 9,4g de CM2 e 2,35g de riboflavina em 140mL de DMF anidra. O material produzido, CM3, foi filtrado em filtro de placa sinterizada e prosseguiram-se as seguintes lavagens para remoção do excesso de riboflavina. DMF,. DMSO, água destilada exaustivamente e etanol com posterior secagem em estufa a 80°C durante 30 minutos.



**Figura 4.4** – Incorporação da riboflavina na CM2

#### **4.2.8 – Avaliação da estabilidade da CM3 em diferentes faixas de pH.**

Para avaliar a estabilidade da CM3 em função do pH foram feitos tratamentos da CM3 em solução aquosa usando valores iniciais de pH diferentes. Para a condição ácida, pH=2, adicionaram-se 20mg de CM3 à 100mL de solução HCl (0,01mol/L) contidos em um erlenmeyer de 200mL. O sistema foi deixado sob agitação em mesa agitadora por 24 horas. Depois de agitado o material foi filtrado em filtro de placa sinterizada e lavado exaustivamente com água destilada. Para os ensaios em condições básicas os experimentos foram feitos com adições de alíquotas de 20mg de CM3 à 100mL de soluções de NaOH pH=9, pH=12 e pH=14 distintamente. O mesmos procedimentos de agitação e lavagem descritos para o ensaio em condição ácida foram executados para os ensaios em condições básicas.

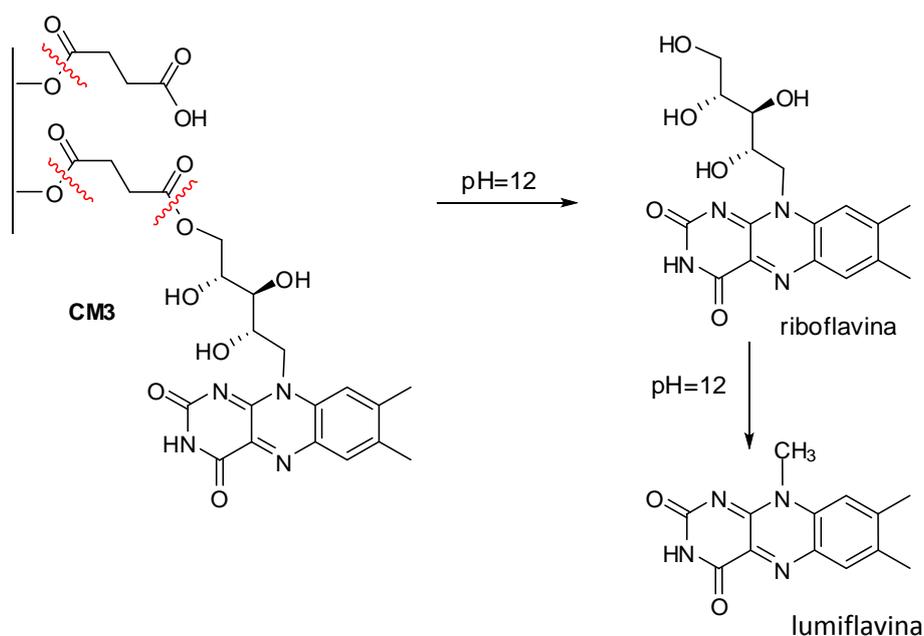
#### **4.2.9 - Avaliação da interação da Riboflavina pura com a CM1**

Para verificar que a formação da CM3 foi realizada via uma ligação covalente entre a CM2 e a riboflavina e não por adsorção da riboflavina à CM1 foi realizado um experimento de contato entre esses dois materiais. 20mg de CM1 e 10mg de riboflavina foram agitados por 24 horas em mesa agitadora num erlenmeyer de 100mL que teve seu volume completado com água destilada. Após a agitação o sistema foi deixado em repouso por 2 horas e filtrado na sequência com filtro de placa sinterizada. Posteriormente a filtração o material foi lavado com água destilada.

#### **4.2.10 - Determinação da concentração de riboflavina na CM3**

Segundo Penzkofer (2012) a riboflavina em pH acima de 9, encontra-se predominantemente sob a forma de lumiflavina. No estudo de estabilidade da CM3 realizado neste trabalho foi demonstrado que em pH 12, este material libera a riboflavina no meio aquoso. Portanto, uma boa maneira para se determinar a quantidade

de riboflavina introduzida no material é o método de quantificação da lumiflavina, pois, uma vez que a riboflavina se desprende da CM3 em solução básica (pH 12) ela estará predominantemente sob a forma de lumiflavina. Para o estudo, foram preparados 100mL de uma solução 0,01mol/L de NaOH da qual foi retirada uma alíquota de 50mL e transferida para um balão de reação de 125mL juntamente com 31mg de CM3. Este sistema ficou sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 24 horas. Após esse tempo, o material foi para a centrífuga atuando com uma rotação de 3600 RPM durante 20 minutos. O sobrenadante amarelo foi então retirado e levado ao espectrofotômetro para leitura da absorbância num comprimento de onda igual a 354nm. Este comprimento de onda, foi obtido por varredura da riboflavina em pH=12. A relação entre a concentração de lumiflavina no sobrenadante com a absorbância obtida na leitura foi estabelecida com o uso de uma curva de calibração da riboflavina em pH=12 (lumiflavina).



**Figura 4.5** – Tratamento da CM3 em pH 12

A varredura realizada para se determinar o melhor comprimento de onda para a leitura da absorbância em espectrofotômetro da riboflavina em pH 12 é apresentada no anexo I. A curva de calibração e a equação do ajuste linear, podem ser vistos no anexo II.

#### **4.2.11 – Caracterização dos materiais**

Além do cálculo de ganho de massa, e da determinação de funções carboxílicas, os materiais produzidos foram caracterizados por análise elementar e Espectroscopia no infravermelho.

A Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi feita nos materiais CM, CM1, CM2 e CM3 obtidos após a modificação da celulose. Estes materiais foram submetidos à análise em espectrômetro Nicolet modelo Impact 410. Em forma de pastilha, 1mg de cada amostra foi prensada com 100mg de KBr. O espectro na região do infravermelho foi gerado entre 4000 e 400 $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4 $\text{cm}^{-1}$  32 varreduras por amostra.

As análises dos elementos C, H e N para a CM1 e CM3 foram realizadas em instrumento de análise elementar CHNS/O da Perkin Elmer, modelo analyzer 2400, Series II.

#### **4.2.12 - Testes na degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol**

Os procedimentos para degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol RNL foram feitos em triplicatas tendo como objetivo avaliar o comportamento da CM3 como mediador redox, a sua estabilidade frente a presença de microorganismos anaeróbios e comparar a ação deste material com a de mediadores redox reconhecidos, como a riboflavina e extrato de levedura. Também foram objetivos dos ensaios verificar se há remoção de cor por adsorção do corante ao lodo anaeróbio ou à CM3 e a influência de outros componentes do sistema como a solução nutriente para eficiência de remoção de cor. Os resultados dos experimentos de degradação do azo corante modelo foram obtidos através de leitura da absorbância dos sobrenadantes retirados dos frascos reatores centrifugados a 3600 RPM durante 20 minutos, com a leitura feita em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410nm obtido como o de maior absorbância do corante modelo por processo de varredura.

Os experimentos em batelada foram conduzidos em frascos reatores âmbar de 250mL inoculados com um volume total de 200mL. As condições nutricionais foram estabelecidas segundo Chernicharo (2007) *apud* Corrêa (2009b) de forma a estabelecer uma relação DQO : N : P próxima de 350 : 5 : 1, considerada como ideal, os conteúdos de micro e macro-nutrientes nesta solução seguiram as recomendações de Aquino *et al.*, (2007). A solução nutricional estoque foi preparada para uma DQO de 5000mg/L e sua utilização foi condicionada às devidas correções conforme a proporção de DQO presente nos frascos reatores. Esta DQO foi instituída como sendo a concentração de glicose ou extrato de levedura (EL) presentes nos frascos reatores.

A concentração de microorganismos no lodo anaeróbio foi estabelecida através do conteúdo de sólidos suspensos voláteis (SSV) seguindo as orientações do *Standard Methods for the Examination of water and wastewater* (APHA/WER/WEF) e a concentração fixada nos reatores foi de 650mg/L.

A concentração inicial de corante nos frascos reatores foi fixada em 50mg/L e a concentração de extrato de levedura utilizada nos ensaios, foi igual a 350mg/L.

O extrato de levedura Himédia possui uma proporção em massa de riboflavina por massa de extrato de levedura igual a 50µg/g. Desta maneira, a massa de riboflavina contida em 70 mg de EL (massa de EL utilizada nos experimentos) é igual a 3,5µg. Os experimentos que utilizaram riboflavina e CM3 contaram com uma quantidade em massa da vitamina B2 equivalente ou proporcional àquela contida nos frascos reatores incubados com extrato de levedura.

A riboflavina tem solubilidade em água igual a 130mg/L, para os experimentos contendo riboflavina foram preparadas soluções desta vitamina com concentrações iguais a 25mg/L, das quais foram retiradas alíquotas contendo massas correspondentes às quantidades de riboflavina contidas nos experimentos utilizando esta vitamina como MR. A massa de CM3 foi acrescentada aos ensaios a partir de suspensões deste material em água destilada na concentração de 100mg /L, as porções retiradas desta suspensão foram calculadas para fornecer quantidades de riboflavina

equivalentes ou proporcionais às aquelas presentes nos experimentos com riboflavina pura e extrato de levedura.

Além do corante, foi utilizada a glicose (250mg/L), como fonte de carbono, exceto nos experimentos que fizeram uso de extrato de levedura, pois, esse também pode ser utilizado como uma eficaz fonte de carbono (Corrêa *et al.*, 2009). Os frascos reatores denominados Branco foram inoculados sem a adição de mediador redox (MR).

É importante salientar que as concentrações dos compostos componentes dos frascos reatores foram estabelecidas através de um estudo para otimização das condições experimentais de degradação do azo corante amarelo ouro remazol RNL (AORRNL) utilizando ou não extrato de levedura como fonte de carbono e mediador redox realizado num projeto paralelo conduzido pelo grupo de pesquisas.

Todos os frascos reatores passaram por purga do *headspace* com gás nitrogênio e foram fechados com tampa de borracha e parafilme antes de serem levados para incubadora *shaker* com agitação de 155 RPM e temperatura de 25°C. O período de monitoramento dos reatores foi de 48 horas a partir do momento de adição da biomassa. As retiradas das amostras foram feitas com seringas totalizando um volume de 3 mL por amostra e como poderá ser visto adiante os períodos de amostragem variaram de acordo com os propósitos de cada experimento.

A tabela 4.2 ilustra as condições dos ensaios em batelada para a degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol RNL com a participação dos mediadores redox riboflavina, extrato de levedura e CM3. Além do branco, frasco controle inoculado sem a adição dos carreadores de elétrons, um ensaio contendo o material precursor da CM3, a CM1, foi incluído nos estudos com o objetivo de se avaliar uma possível remoção de cor por adsorção ao material que dá suporte à riboflavina.

**Tabela 4.2** - Ensaio de degradação anaeróbia do azo corante ARORNL com mediadores redox e CM1

Experimento	Branco	EL	CM3	Rib	CM1
Objetivo	Avaliar remoção de cor por biomassa anaeróbia	Avaliar remoção de cor por biomassa anaeróbia mediada por EL	Avaliar remoção de cor por biomassa anaeróbia mediada por CM3	Avaliar remoção de cor por biomassa anaeróbia mediada por Riboflavina	Avaliar remoção de cor por biomassa anaeróbia e adsorção a CM1
Concentração de EL	Ausente	350mg/L	Ausente	Ausente	Ausente
Concentração de CM3	Ausente	Ausente	0,245mg/L	Ausente	Ausente
Concentração de Rib	Ausente	Ausente	Ausente	0,0175mg/L	Ausente
Concentração de CM1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	0,245mg/L
Concentração de glicose	250mg/L	Ausente	250mg/L	250mg/L	250mg/L

Todos os frascos reatores contaram com concentração de biomassa = 650mg/L, concentração de corante = 50mg/L e volume de solução nutriente = 10 mL. Concentração de biomassa (SSV) no lodo anaeróbio 15g/L.

#### **4.2.13 – Ensaio de adsorção e influência do meio reacional na degradação do azo corante**

Os ensaios para se verificar a adsorção do corante ao lodo foram feitos empregando-se experimentos com lodo autoclavado a 121°C por um tempo de 20 minutos. Para estudar a influência dos demais componentes do sistema na remoção de cor, efetuaram-se experimentos sem a presença de biomassa e sem a presença de

solução nutriente. As condições experimentais foram as mesmas descritas nos ensaios anteriores e o detalhamento dos dados estão na tabela 4.3.

**Tabela 4.3** – Experimentos para avaliar adsorção ao lodo e influência do meio reacional

Experimento	Branco	Lodo autoclavado	Sem lodo anaeróbio	Sem lodo anaeróbio e solução nutriente
Objetivo	Avaliar remoção pelo lodo anaeróbio, Meio reacional e CM3	Avaliar remoção por adsorção ao lodo anaeróbio	Avaliar remoção de cor pelos componentes do meio reacional, exceto biomassa	Avaliar remoção por adsorção na CM3
Concentração de Biomassa	650mg/L	650mg/L Autoclavada	Ausente	Ausente
Solução nutriente	10mL	10mL	10mL	Ausente
Concentração de CM3	Ausente	0,245mg/L	0,245mg/L	0,245mg/L
Massa de glicose	250mg	Ausente	Ausente	Ausente

Todos os frascos reatores contaram com concentração de corante = 50mg/L. Concentração de biomassa (SSV) no lodo anaeróbio 25,33g/L.

#### 4.2.14 – Ensaios para avaliar a estabilidade da CM3 nos frascos reatores

A estabilidade da CM3 também foi avaliada nas condições experimentais dos ensaios com biomassa descritas nos itens anteriores. Para tanto, foram feitas medidas da absorbância dos sobrenadantes de amostras centrifugadas retiradas dos frascos reatores incubados distintamente com CM3 e riboflavina e frascos sem adição de desses dois compostos (Branco). Para determinar o melhor comprimento de onda de absorção da riboflavina em solução aquosa, foram preparados 500 mL de uma solução de riboflavina em água destilada com concentração igual a 30 mg/L. Esta solução ficou sob agitação em mesa agitadora por 1 hora. A seguir, a solução passou por varredura para se verificar o comprimento de onda de maior absorção. Tal análise que foi feita a partir do comprimento de onda de 100nm até 1200nm revelou absorção máxima no  $\lambda$  correspondente a 267nm. A composição dos frascos reatores é descrita na tabela 4.4. É importante ressaltar que nesses ensaios, a quantidade de riboflavina contida no experimento com CM3 é proporcional à quantidade de riboflavina contida no experimento com esta vitamina na forma livre.

**Tabela 4.4** - Experimentos para avaliar a estabilidade da CM3 nas condições experimentais.

Experimento	Branco	Com CM3	Com Rib
CM3	Ausente	50mg/L	Ausente
Riboflavina	Ausente	Ausente	3565mg/L

Todos os frascos reatores contaram com concentração de biomassa (SSV) = 650mg/L, concentração de glicose = 250mg/L, volume de solução nutriente = 10mL. Concentração de biomassa (SSV) no lodo anaeróbio 12,66g/L.

#### 4.2.15- Efeitos do aumento da concentração de CM3

Objetivando-se estudar os efeitos do aumento da concentração de CM3 na degradação aneróbia do azo corante modelo foram efetivados ensaios variando a

concentração deste material nos frascos reatores. Tal variação foi feita aumentando-se a concentração de CM3 em 10 vezes e 100 vezes em relação às quantidades contidas nos experimentos anteriores.

**Tabela 4.5** – Experimentos para avaliar os efeitos da variação da concentração de CM3

Experimento	Branco	CM3	CM3	CM3
Concentração de CM3	Ausente	0,245 mg/L	2,45 mg/L	24,5 mg/L

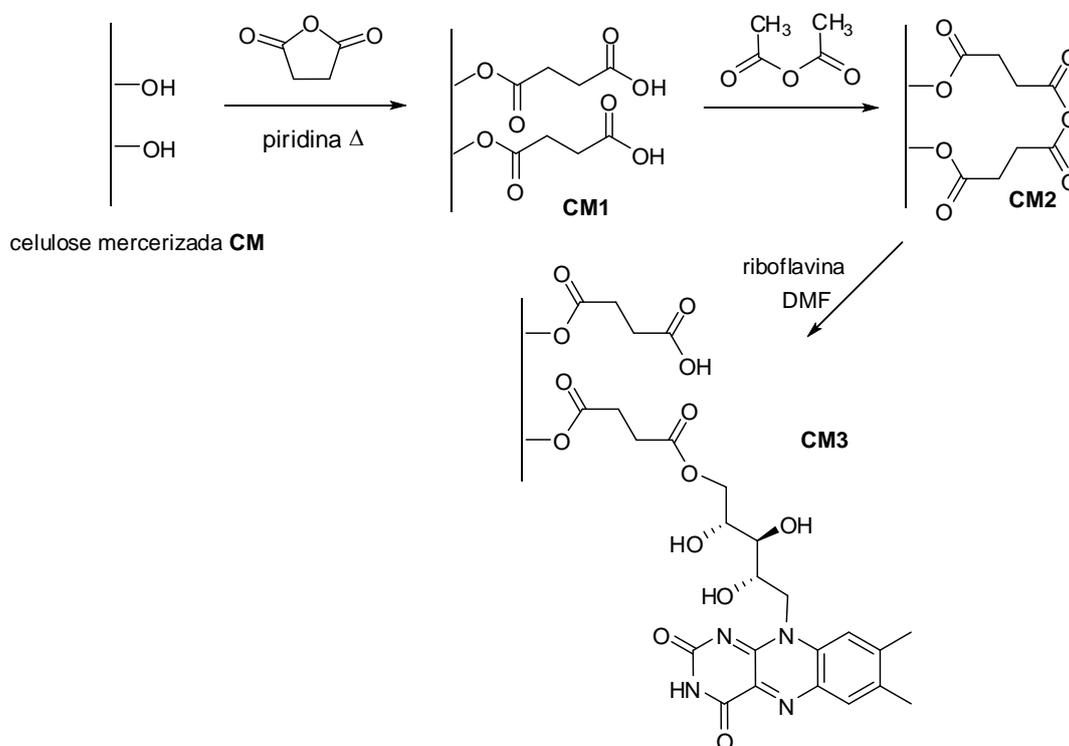
Todos os frascos reatores contaram com concentração de biomassa (SSV) = 650mg/L, concentração de glicose = 250mg/L, concentração de corante = 50mg/L, volume de solução nutriente = 10mL Concentração de bomassa (SSV) no lodo anaeróbio 12660 mg/L.

#### **4.2.16 – Estudo da cinética de remoção de cor da biodegradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3**

O estudo da cinética de remoção de cor da biodegradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3 foi feito através da análise do gráfico da variação da absorbância do corante em seu comprimento de onda de máxima absorção pelos intervalos de tempo medidos no período de 48 horas. A constante da equação da velocidade de degradação do corante foi calculada a partir do coeficiente angular da reta do ajuste linear do modelo cinético que melhor se adequou à degradação do corante.

## 5 – Resultados e discussão

### 5.1 – Síntese e caracterização dos materiais



**Figura 5.1** - Rota sintética para a produção da CM3

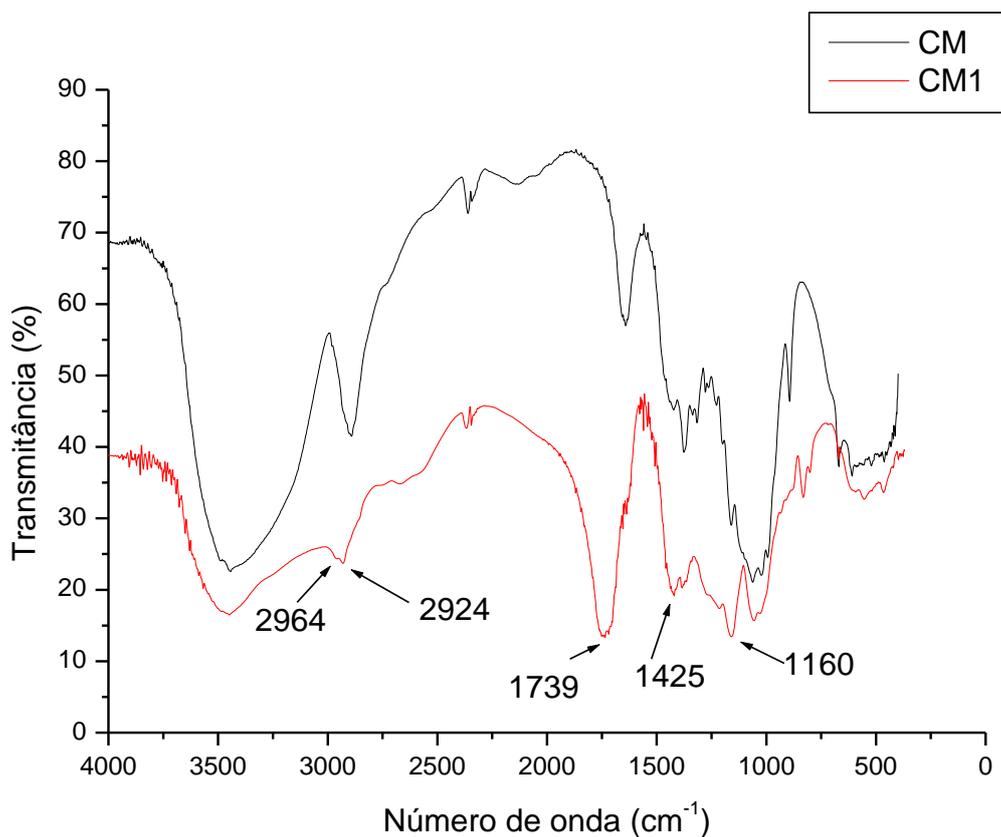
#### 5.1.1 Síntese e caracterização da CM1

Para obter-se a CM1, partiu-se da mercerização da celulose com solução de NaOH (5M) tornando as hidroxilas presentes em sua superfície mais facilmente acessíveis para em seguida reagir com anidrido succínico em piridina e dar origem ao material CM1 (Gurgel *et al.*, 2008). A percentagem do ganho de massa da CM1 em relação a CM foi calculada pelo método gravimétrico. As massas inicial ( $m_i$ ) e final ( $m_f$ ) do material antes e depois da modificação foram respectivamente 11,66g e 23,81g . O ganho de massa calculado segundo a equação 4.1 foi igual a 105,2%. Tal ganho de massa indica a modificação da CM com introdução dos grupos carboxílicos

por meio de uma reação de esterificação entre o anidrido succínico e os grupos hidroxila da celulose mercerizada.

O grau de succinilação da CM1 foi encontrado por retrotitulação. Os volumes de HCl gastos na titulação de cada uma das alíquotas de CM1 em NaOH descritas no item 4.2.5, (pág. 43) foram 10,4mL, 10,1mL e 10,3mL. Portanto, a média desses volumes foi igual a 10,2mL. Desta maneira, aplicando-se a equação 4.2, temos a concentração de funções ácido carboxílico por grama de CM1 igual a 7,1mmol/g.

A caracterização dos produtos de succinilação CM foi realizada por FTIR. O resultado desta análise pode ser visto na figura 5.2.

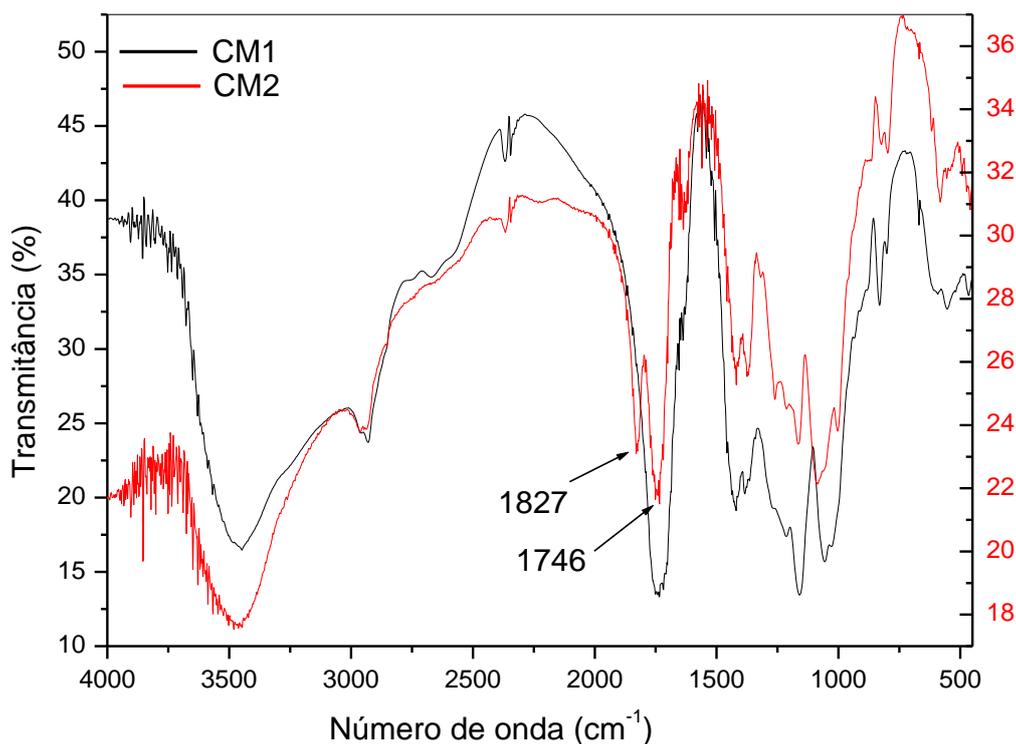


**Figura 5.2** – Espectros na região de infravermelho da CM e CM1

As maiores mudanças que podem ser observadas nos espectros de FTIR na figura 5.2 são: o aparecimento das bandas em 2964, 2924  $\text{cm}^{-1}$  para a CM1 que correspondem ao estiramento assimétrico e simétrico de grupos metilênicos ( $\text{CH}_2$ ). A bandas em 1425 e a intensificação da banda em 1160 $\text{cm}^{-1}$  para a CM1 correspondem à deformação de grupos OH e ao estiramento de grupos C-O de dímero de ácido carboxílico e o aparecimento de uma banda forte em 1739 $\text{cm}^{-1}$  é correspondente à superposição do grupo carbonila do ácido carboxílico com os estiramentos do grupo carbonila da função éster originados em decorrência à succinilação.

### 5.1.2 Síntese e caracterização da CM2

A CM1 reagiu com anidrido acético para formar a CM2. O uso do anidrido acético serviu de agente desidratante para promover a formação de função anidrido de ácido carboxílico a partir da função ácido carboxílico do precursor CM1. Tais novas funções são excelentes eletrófilos capazes de reagir com aminas nucleofílicas, por exemplo, para formar amidas. A introdução de poliaminas em CM2 já foi realizada no nosso grupo (Gurgel e Gil, 2009) para produzir materiais com propriedades de adsorção de cátions metálicos. Neste estudo o nucleófilo usado foi a vitamina B2 e a introdução na função carbonila do anidrido de CM2 deve ser feita provalmente via o ataque da função hidroxila primária da Vitamina B2. A formação da CM2 foi comprovada através do seu FTIR (figura 5.3). Como descrito na figura 5.3, as maiores mudanças que podem ser observadas nos espectros de FTIR são o aparecimento das bandas em 1827 e 1746 $\text{cm}^{-1}$  para a CM2. Essas duas bandas são características da função anidrido de ácido carboxílico e apresentam uma separação de 81 $\text{cm}^{-1}$ , portanto, dentro da faixa de separação mencionada na literatura para anidridos de ácidos carboxílicos (Nakanishi, 1977) e os números de onda também estão muito próximos do mencionado para anidridos cíclicos, onde em geral, a banda de menor número de onda é a mais intensa.



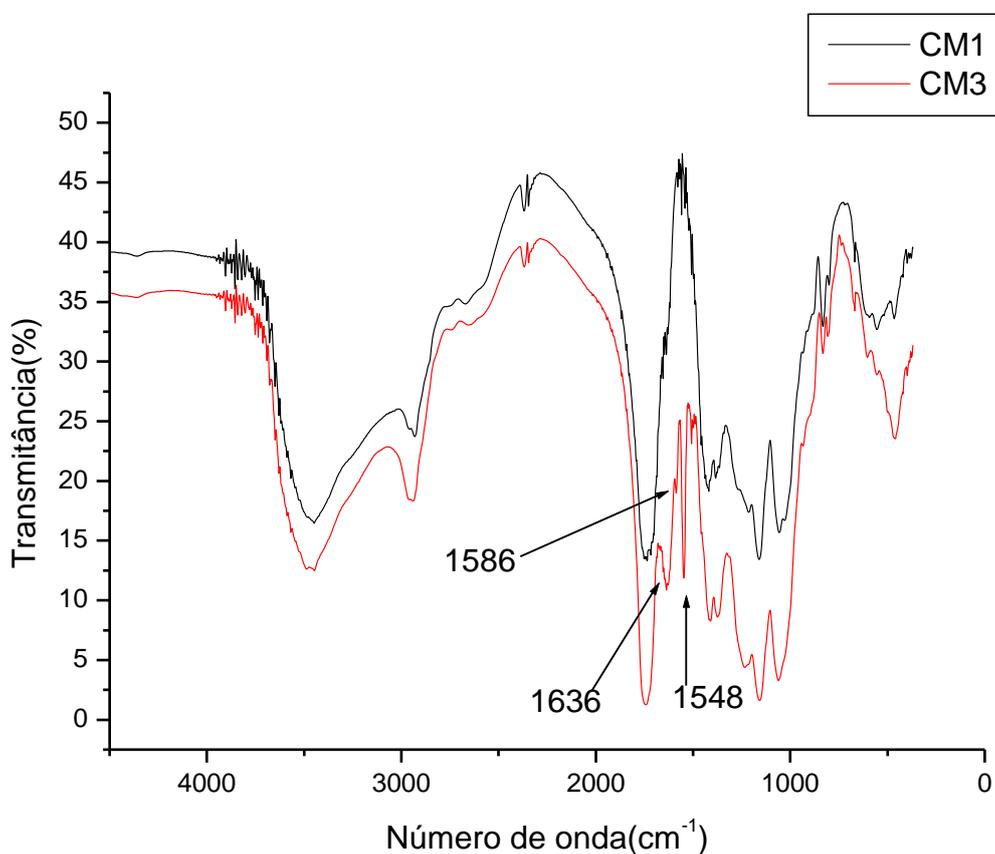
**Figura 5.3** – Espectros na região de infravermelho da CM1 e CM2

### 5.1.3 - Síntese e caracterização da CM3

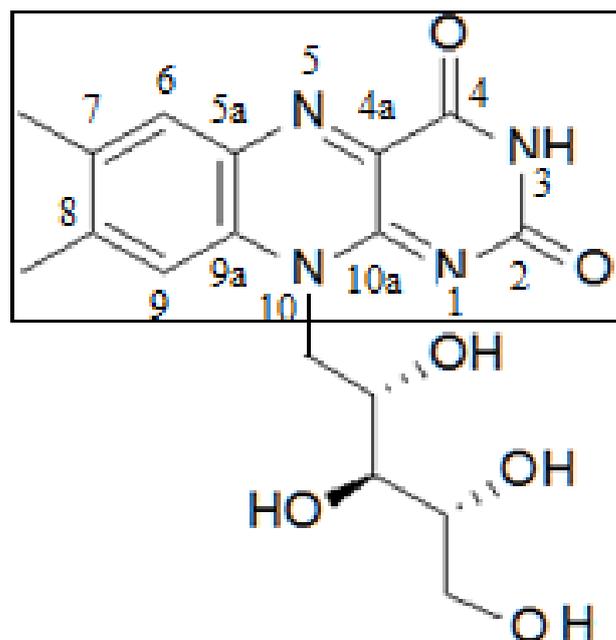
O material CM3, foi sintetizado a partir da reação da CM2 com riboflavina em DMF à 75°C. A concentração de riboflavina ligada à CM3 foi determinada através da curva de calibração apresentada no anexo II. Conforme os cálculos, a concentração de lumiflavina no sobrenadante centrifugado foi igual a 44,19mg/L. A massa de lumiflavina encontrada na solução proveniente da CM3 foi de 2,21mg. Sabendo-se que toda lumiflavina encontrada foi procedente da riboflavina fixada no material de partida e que a massa inicial deste material utilizada nesse experimento foi de 31mg, encontrou-se a proporção em massa de riboflavina por massa de CM3 igual a 71,3mg/g

A celulose quimicamente modificada com riboflavina foi caracterizada através de espectroscopia no infravermelho e análise elementar. Conforme Abe *et al.* (1986), bandas próximas a 1552, 1580 e 1583cm<sup>-1</sup> podem ser atribuídas a estiramentos

provenientes das ligações entre  $C_{4a}=N_5$  e  $C_{10a}=N_1$  nos anéis II e III da estrutura isoaloxiazina da riboflavina destacada na figura 5.5 (pág. 59). Estes autores atribuem estiramentos devido a vibrações na frequência da carbonila ( $C_4=O$ ) no anel isoaloxiazina da riboflavina acima de  $1630\text{cm}^{-1}$ . Os resultados comparativos das análises da CM1 e CM3 são apresentados nas figuras 5.4 e tabela 5.1 (pág. 59). Os espectros no infravermelho da CM1 e CM3 mostram a presença de duas bandas para a CM3 em,  $1548$  e  $1586\text{cm}^{-1}$ . Estas bandas podem ser relacionadas a estiramentos provenientes das ligações entre  $C_{4a}=N_5$  e  $C_{10a}=N_1$  no anel isoaloxiazina da riboflavina. O aparecimento de uma banda em  $1636\text{cm}^{-1}$  para a CM3 corresponde a vibrações na frequência da carbonila ( $C_4=O$ ) dos anéis da estrutura isoaloxiazina da riboflavina.



**Figura 5.4** – Espectros na região de infravermelho da CM1 e CM3

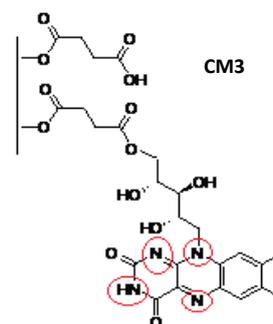


**Figura 5.5** – Estrutura química da riboflavina, em destaque o anel isoaloxiazina

Através da análise elementar, pode-se perceber um acentuado aumento no teor de nitrogênio após a modificação da CM1 produzindo a CM3. Este aumento, pode ser creditado à incorporação da riboflavina na estrutura da celulose modificada CM1. A percentagem de nitrogênio encontrada no material CM1, pode ter sido devida à presença deste elemento na celulose utilizada no processo de síntese.

**Tabela 5.1** - Análise elementar da CM1 e da CM3

Material	% de C	% de H	% de N
CM1	43,71	5,2	0,27
CM3	35,04	3,99	2,25



## 5.2 – Avaliação da estabilidade da CM3 em diferentes faixas de pH

Para se avaliar a estabilidade da CM3 quanto à sua fixação na celulose modificada em diferentes faixas de pH foram feitos experimentos abrangendo condições ácidas e básicas. Para tanto, estudos da estabilidade da CM3 a pH 2, pH 9, pH 11 e pH 12 foram conduzidos conforme descritos no item 4.2.8 (pág. 45).

Em condições ácidas pôde ser verificado que não há desprendimento de riboflavina da CM3. Isto porque, a vitamina B2 e a CM3 têm coloração predominantemente amarela e o material suporte, precursor da CM3, a CM1, é branco. Desta maneira, o desprendimento de riboflavina da CM3 levaria à descoloração deste material com conseqüente tingimento das águas de lavagem. Fato esse, que não pôde ser verificado em nenhum momento dos procedimentos. Para comprovar a ausência de riboflavina no filtrado foram feitas medidas da absorbância da água de lavagem no comprimento de onda de 267nm correspondente a absorbância máxima da riboflavina em meio aquoso. Tais leituras comprovaram o não desprendimento da vitamina B2 do material.

Para os experimentos em meio básico, não foi verificado desprendimento da riboflavina em pH 9 e as leituras nos comprimentos de onda de máxima absorção da riboflavina em meio aquoso (267nm) e da riboflavina em meio básico (354nm) comprovaram que não houve liberação da vitamina B2 do material. Já em pH 11 e pH 12, a filtração da CM3 contida na solução demonstrou imediatamente o desprendimento de riboflavina do material suporte, sendo evidenciada pela coloração amarela do permeado. As poucas lavagens com água destilada subsequentes à filtração descoloriram completamente a CM3. Desta maneira, pode-se concluir que em tais condições a ligação da riboflavina à CM1 é facilmente rompida.

### 5.3 - Avaliação da interação da Riboflavina pura com a CM1

Para verificar uma possível adsorção da riboflavina à CM1 foi realizado um experimento de contato entre esses dois materiais. Este procedimento demonstrou que a interação entre a riboflavina e a CM1 é muito fraca, visto que, no processo de lavagem da mistura desses materiais em filtro de placa sinterizada, a riboflavina que tem coloração amarela tingiu o filtrado, fazendo com que a CM1 que tem cor branca voltasse à sua coloração inicial. Assim, a fixação da riboflavina à CM1 através dos processos que foram utilizados, não pode ser creditada a fenômenos de adsorção. A figura 5.5 ilustra os materiais CM1 e CM3.

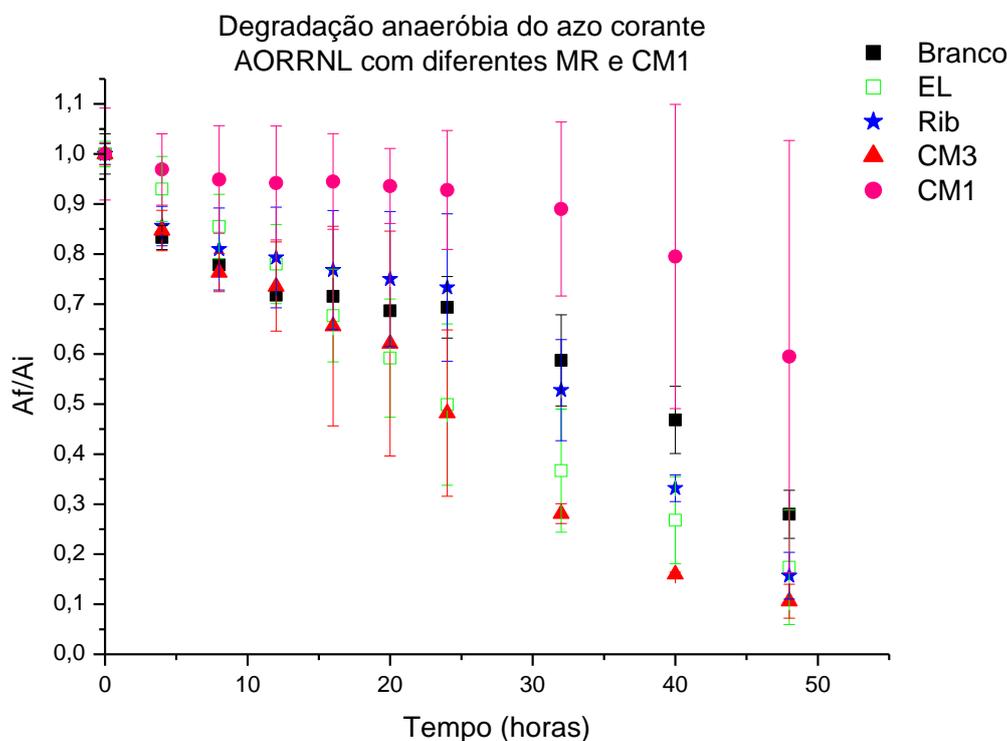


**Figura 5.6** – CM1 à esquerda e CM3 à direita

## 5.4 - Testes da degradação anaeróbia do azo corante amarelo remazol ouro RNL

### 5.4.1 - Ensaio de degradação anaeróbia com mediador redox riboflavina imobilizado

Os resultados demonstrados da Figura 5.7 mostram a variação existente na eficiência de degradação do azo corante amarelo remazol ouro RNL em condições anaeróbias, utilizando diferentes materiais (CM3, EL e Rib) como mediadores redox e CM1.



**Figura 5.7:** Degradação anaeróbia do azo corante amarelo remazol RNL com adição de diferentes mediadores redox e com CM1 (T=25°C)

Segundo Dos Santos *et al.* (2007), a percentagem de remoção de cor de azo corantes em sistemas anaeróbios sem acréscimo de mediadores redox varia em torno de 60 a 80%. Corrêa *et al.*, (2009a) encontraram percentuais de remoção de cor neste tipo

de sistema de 39 a 45 % nas primeiras 24 horas de ensaios para degradação do azo corante azul drimaren HF-RL e uma eficiência final de degradação de 91% após a estabilização da remoção de cor. Van der Zee, Bouwman *et al.*, (2001) alcançaram remoção de cor em reator UASB em escala de bancada igual a 30% para o azo corante vermelho reativo (RR2) em sistema anaeróbio sem adição de mediador redox e temperatura mesofílica. O baixo percentual de remoção de cor para o RR2 foi atribuído a sua estrutura molecular. Conforme os autores, corantes contendo o grupo triazol, como é o caso do RR2, exibem toxicidade para o consórcio anaeróbio e demandam maior tempo de contato para a degradação. Outros estudos feitos por van der Zee (2001b) indicam remoção de cor de vários azo corantes por sistemas anaeróbios acima de 95% considerando-se períodos de tratamento de 6 dias. Nestes estudos os autores descartam a influência do peso molecular do corante como fator importante para a eficiência de remoção de cor em sistemas anaeróbios, levando a deduzir que a permeabilidade celular não seja decisiva para o processo redutivo dos corantes.

Nos experimentos realizados neste trabalho a percentagem de remoção de cor do azo corante amarelo ouro remazol RNL por microorganismos anaeróbios no frasco controle (Branco) atingiu 30,7% nas primeiras 24 horas e 72,1% nas 48 horas de ensaio em batelada e 25°C de temperatura. Portanto, dentro da faixa mencionada por Santos *et al.*, (2007) e próxima ao percentual encontrado por Corrêa *et al.*, (2009a) nas primeiras 24 horas de ensaio. Há que se destacar que a remoção final encontrada nestes estudos foi durante um período de 48 horas em contraste com os experimentos supra citados que tiveram tempo final de ensaios acima de 144 horas.

O emprego de mediadores redox como AQS, AQDS, extrato de levedura e riboflavina, entre outros, têm levado a melhorias consideráveis na cinética de remoção de cor de azo corantes em sistemas anaeróbios. Costa *et al.* (2010) encontraram aumento na constante de degradação de 2,2 vezes para o corante RR2 em reatores anaeróbios alimentados com AQDS. van der Zee *et al.* (2001a) demonstraram um aumento na remoção de cor de 30% para 88% acrescentando-se AQDS como catalisador em sistema anaeróbio para degradação do corante RR2. Dos Santos (2005) encontrou aumento de 2,9 vezes na taxa de remoção de cor em frascos reatores com adição de AQS quando comparados a frascos sem a adição deste mediador para o azo

corante RR2. Os resultados do uso de extrato de levedura como fonte de mediadores redox na degradação anaeróbia do azo corante azul drimaren HF-RL divulgados por Corrêa *et al.* (2009a) e Baeta *et al.* (2012) revelaram uma eficiência de remoção de cor de até 87% nas primeiras 24 horas de ensaio e um percentual de remoção final acima de 90% após estabilizada a capacidade de remoção de cor nos reatores (entre sete e onze dias). Dos Santos (2005), estudou a riboflavina como mediador redox na degradação anaeróbia do azo corante RR2 e obteve um aumento na taxa de remoção de 19,9 vezes com adição de riboflavina aos sistemas de tratamento anaeróbio. Field e Brady (2003) encontraram um aumento de 61% na taxa de degradação do corante amarelo mordante 10 com acréscimo de riboflavina em sistemas anaeróbios operando em regime de batelada. Corrêa *et al.* (2009a) também relatam a eficiência da riboflavina como mediador redox com um alcance de remoção de cor de aproximadamente 20% nas primeiras 24 horas e uma remoção final por volta de 90% para o corante azul drimaren HF-RL em sistemas anaeróbios de tratamento. Neste trabalho, a figura 5.7 (pág. 62) mostra um aumento de 30,7% para 50,1% na remoção de cor do azo corante modelo em ensaios sem o acréscimo de mediadores e com adição de EL respectivamente nas primeiras 24 horas, sendo que, ao final de 48 horas de estudo a remoção de cor alcançada com EL foi de 82,6%. Para os estudos com adição de riboflavina a degradação do azo corante atingiu um percentual de 26,7% nas primeiras 24 horas, portanto, próximo ao percentual encontrado por Corrêa *et al.* (2009a) e ao final de 48 horas o percentual de remoção atingiu 84,3%. Possíveis explicações para discrepâncias entre as respostas encontradas nestes estudos e os resultados acima citados podem estar relacionadas a fatores como a estrutura dos corantes envolvidos em cada experimento, a interação eletroquímica entre esses corantes e os mediadores redox utilizados, as proporções corante-mediador redox usadas nos experimentos e até mesmo às fontes doadoras de elétrons empregadas.

Mediadores redox imobilizados em diferentes suportes têm sido avaliados a fim de melhorar a cinética de remoção de cor dos azo corantes em sistemas de tratamento anaeróbio. Vários estudos empregando como azo corante modelo o RR2 exibem seus resultados na literatura. AQDS imobilizada em nanopartículas de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  melhorou em 7,5 vezes a constante de degradação deste corante. AQDS imobilizada em resina de troca iônica aumentou tal constante em 1,9 vezes. NQS fixado em resina de

troca iônica acentuou a taxa de degradação anaeróbia do RR2 em 3,8 vezes, enquanto que, substâncias húmicas retidas em resinas de troca iônica e AQS imobilizada em espuma de poliuretano (PUF) aumentaram a taxa de degradação do RR2 em 2 vezes e 4 vezes respectivamente (Cervantes *et al.*, 2010; Alvarez *et al.*, 2010; Lu *et al.*, 2010). Os resultados dos estudos realizados neste trabalho apontam um aumento na porcentagem de remoção de cor do azo corante amarelo ouro remazol RNL de 30,7% nos ensaios sem mediador redox para 51,8% nos ensaios com CM3 em um intervalo de 24 horas. Ao final de 48 horas as porcentagens de remoção de cor não mediada e mediada por CM3 foram de 72,1% e 89,4% respectivamente. Quanto à taxa de remoção o aumento foi de 1,56 vezes na comparação dos ensaios livres de mediador redox com os ensaios incluindo CM3. Desta maneira fica comprovada a ação da CM3 como mediador redox no processo de degradação anaeróbia do azo corante AORRNL. A figura 5.7 (pág. 62) mostra ainda eficiências de degradação final do azo corante modelo próximas para os três MR utilizados, reforçando a comprovação da habilidade catalítica da CM3 e levando a crer que este MR possa também ser efetivo com outros tipos de corantes como aqueles descritos na revisão literária apresentada neste trabalho em estudos com EL e riboflavina. Há que se destacar que as eficiências de remoção de cor estão atreladas à variáveis como o tipo de corante e de suporte aplicados para a imobilização dos carreadores de elétrons. Esta afirmação pode ser evidenciada pelos resultados da literatura com diferentes mediadores redox imobilizados em resinas de troca iônica (AQDS, substâncias húmicas e NQS) e também pelas respostas encontradas por um mesmo carreador de elétrons imobilizado em diferentes suportes. (AQDS imobilizado em nanopartículas de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  e em resina de troca iônica).

Um experimento para verificar a influência do material suporte da riboflavina (CM1) na remoção do azo corante AORRNL por microorganismos anaeróbios foi incluído neste trabalho. O resultado deste experimento exposto na figura 5.7 mostra que a remoção do corante não pode ser creditada à presença do material suporte nos frascos reatores, pelo contrário, a inclusão da CM1 nestes frascos levou a uma inibição do mecanismo de degradação do azo corante modelo. Esse resultado, além de explicitar a ação catalítica da vitamina B2 ligada à celulose modificada, leva a crer que a CM1 tem efeitos deletérios à ação do consórcio anaeróbio na degradação do azo corante modelo.

## 5.4.2 – Ensaios de adsorção e influência do meio reacional na degradação do corante

A tabela 5.2 mostra os resultados dos ensaios feitos visando verificar possíveis efeitos de adsorção ou participação de componentes do meio reacional na capacidade de degradação anaeróbia do azo corante modelo.

**Tabela 5.2** – Resultados dos ensaios de adsorção e influência do meio reacional na degradação do azo corante modelo.  $\lambda = 410\text{nm}$

Experimento	Branco	Lodo autoclavado	Sem lodo anaeróbio	Sem lodo anaeróbio e nutriente
Absorbância inicial (T=0h)	1,308	1,312	1,222	1,186
Absorbância final (T=48h)	0,553	1,292	1,218	1,169
% de remoção	57,7	0,015	0,003	0,014

Tendo em vista as respostas dos ensaios demonstradas na tabela acima, a adsorção do corante à CM3 ou ao lodo anaeróbio não podem ser considerados fatores determinantes para a melhoria na cinética de remoção de cor do azo corante amarelo ouro remazol RNL nas condições experimentais utilizadas. Analisando-se essas respostas, também pode ser descartada a ação de componentes do meio reacional contidos na solução nutriente como responsáveis por remoção de cor nos frascos reatores testados.

### 5.4.3 – Efeitos do meio reacional na estabilidade da CM3

A tabela a seguir mostra os resultados que permitiram avaliar os efeitos do meio reacional sobre a estabilidade da CM3 nos frasco reatores.

**Tabela 5.3** - Efeitos do meio reacional na estabilidade da CM3 na ausência de corante

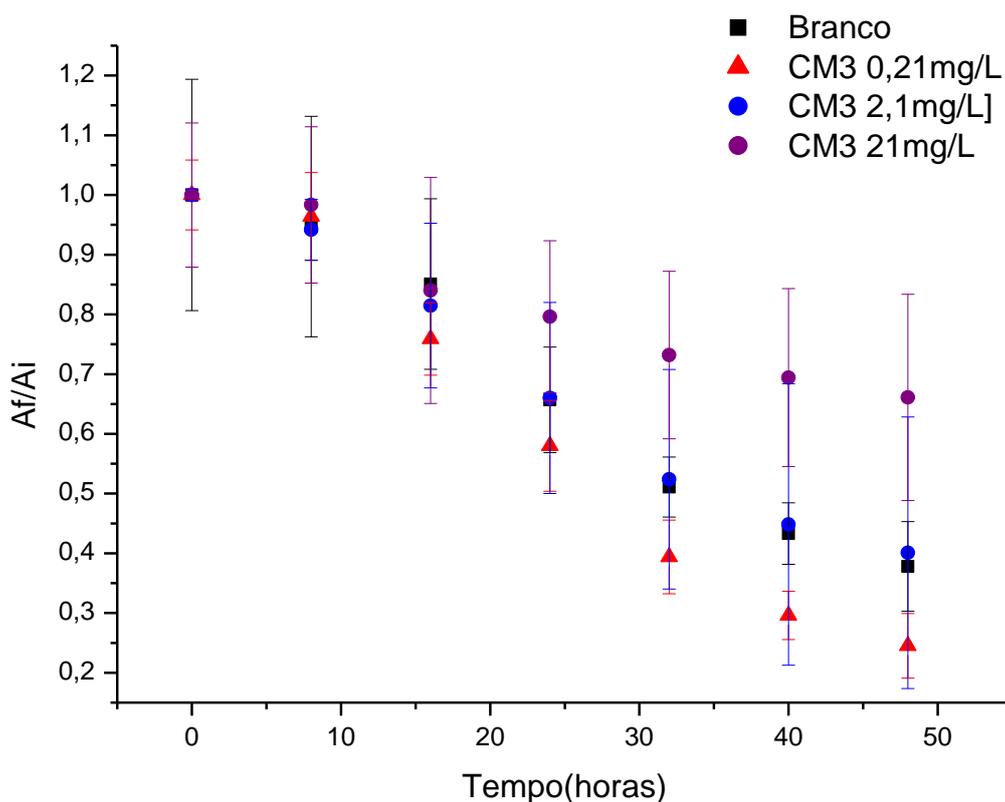
Experimento	Branco	Com CM3	Com Rib
Absorbância inicial (T=0h)	0,224	0,252	0,504
Absorbância em (T=24 h)	0,217	0,216	0,470
Absorbância final (T=48h)	0,215	0,238	0,492

$\lambda=267\text{nm}$

Os experimentos que têm as respostas mostradas na figura 5.3, (pág 57) foram realizados com adição de lodo anaeróbio e sem a presença do corante. Os resultados mostram não haver desprendimento de riboflavina da CM3 nas condições experimentais utilizadas. Isto porque, os valores das absorbâncias exibidos na tabela 5.3 não demonstraram variações significativas no decorrer do tempo em que os experimentos foram realizados.

### 5.4.4 – Efeitos do aumento da concentração de CM3 na degradação anaeróbia do azo corante amarelo ouro remazol RNL

Os efeitos do aumento da concentração de CM3 nos ensaios realizados para a degradação do azo corante AORRNL são apresentados na figura 5.8.



**Figura 5.8** - Relação da absorbância com o tempo na degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com diferentes concentrações de CM3.

Como pode ser visto na figura acima a ampliação da concentração inicial de CM3 de 0,245mg/L para 2,45mg/L e 24,5mg/L em ensaios experimentais distintos, apresentaram respectivamente eficiências de remoção do azo corante de 42%, 34% e 20,5% nas primeiras 24 horas e a percentagem de remoção final para cada ensaio com as diferentes concentrações foi também inversamente proporcional ao aumento da concentração, apresentando após 48 horas percentagens de remoção do azo corante de 75,5% (CM3 0,245mg/L), 59,9% (CM3 2,45mg/L) e 34% (CM3 24,5mg/L). Portanto houve uma clara diminuição na capacidade de degradação do azo corante AORRNL aplicando-se quantidades elevadas de CM3. Field e Brady (2003) estudando os efeitos catalíticos da riboflavina livre na degradação anaeróbia do azo corante amarelo mordante 10, afirmaram haver uma saturação cinética atrelada à atividade das enzimas riboflavina redutase e à concentração de riboflavina existente nos frascos reatores. Para eles, o aumento da concentração de riboflavina acima da capacidade da ação enzimática

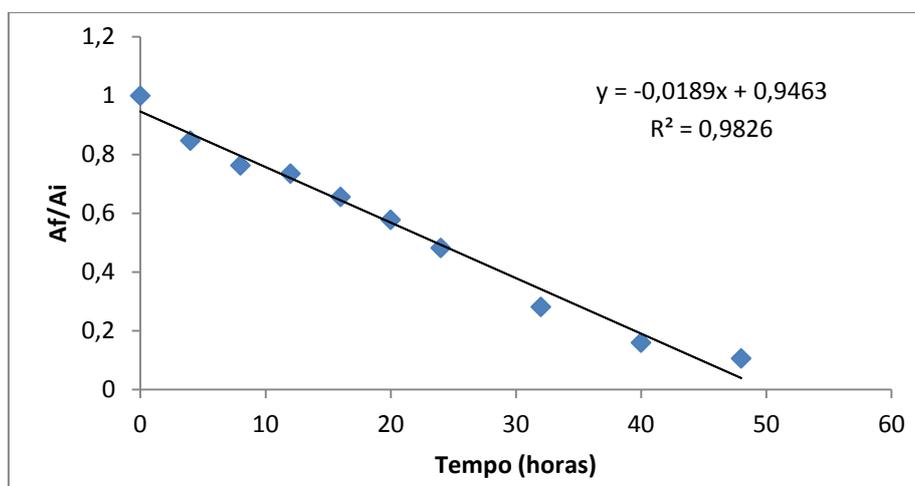
impede o aumento da velocidade de redução do corante proporcionalmente ao acréscimo de riboflavina. Portanto, a eficiência de remoção de cor a partir de uma certa concentração de riboflavina dependerá apenas da atividade das enzimas riboflavina redutase. Os resultados obtidos neste experimento, demonstram uma clara redução na eficiência de remoção de cor com o aumento brusco da concentração de CM3, contrariando os resultados de Field e Brady (2003) que observaram um patamar de velocidade máxima de degradação do azo corante estabelecido pela limitação da capacidade de ação das enzimas riboflavina redutase. Uma hipótese para explicar tal situação pode estar relacionada ao suporte utilizado para imobilizar a riboflavina, pois, como pôde ser visto, no experimento com adição de CM1 aos reatores sem a presença de mediadores redox, houve uma clara diminuição na eficiência de remoção de cor.

#### **5.4.5 - Estudo cinético da degradação anaeróbia do AORRNL com adição de CM3**

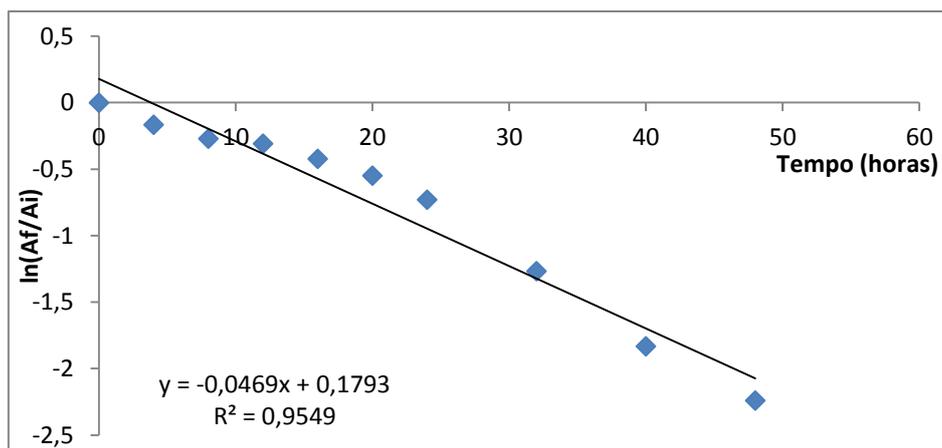
Vários estudos descrevem os efeitos de mediadores redox imobilizados na biodegradação anaeróbia de azo corantes. Nestes estudos podem ser notadas variações no comportamento dos mediadores redox de acordo com o suporte em que estão imobilizados ou com o a estrutura do corante em que foram utilizados.

A atuação do mediador redox AQDS imobilizado em resina de troca iônica mostra que a sua ação na biodegradação anaeróbia do corante RR2 aumenta o valor da constante de degradação em 1,9 vezes e para os corantes vermelho metil e alaranjado metil esse aumento foi de 4 vezes, seguindo um modelo cinético de primeira ordem. Esse mesmo carreador de elétrons imobilizado em nanopartículas de  $Al(OH)_3$ , foi capaz de melhorar a taxa de remoção de cor do corante RR2 em sistema anaeróbio em 7,5 vezes seguindo uma cinética de primeira ordem. AQS imobilizada em PUF proporcionou um aumento na taxa de degradação anaeróbia do corante amaranço de 5 vezes e para os corantes vermelho reativo 141, vermelho ácido 73 e preto direto 22 o acréscimo na taxa de degradação foi por volta de 2,5 vezes, seguindo uma cinética de segunda ordem. Substâncias húmicas imobilizadas em resina de troca iônica apresentaram melhoria na taxa de degradação do azo corante RR2 de 2 vezes, seguindo um modelo cinético de segunda ordem.

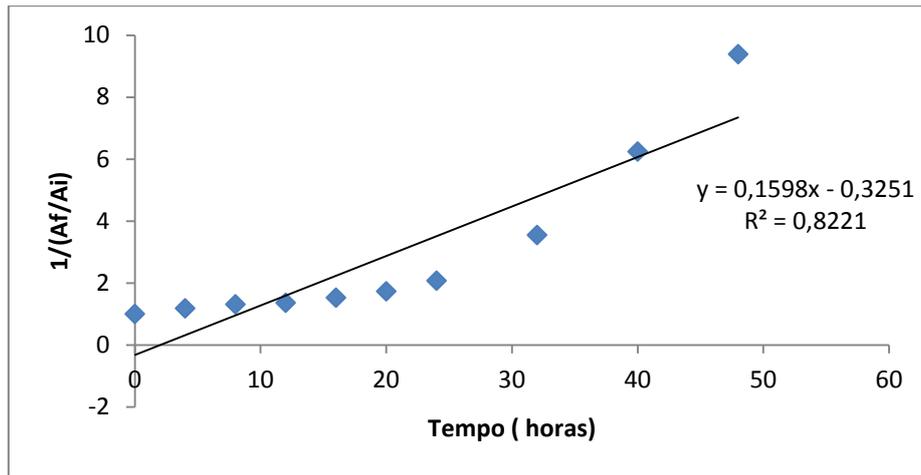
Neste trabalho, a degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição da CM3 e no frasco controle (Branco) exibiram melhores ajustes seguindo a cinética de ordem zero com um aumento de 1,56 vezes na taxa de remoção do azo corante nos experimentos que utilizaram CM3 como mediador redox. Este tipo de comportamento cinético também foi encontrado por Field e Brady (2003) estudando a riboflavina em sua forma livre com o azo corante amarelo mordante 10 obtendo um aumento máximo na taxa de degradação do corante de 2 vezes. Os gráficos do estudo cinético realizado neste trabalho são mostrados na figura 5.8 e no anexo 3 (pág. 86).



**Figura 5.9** - Ajuste linear para a cinética de ordem 0 para a degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3.



**Figura 5.10**- Ajuste linear para a cinética de 1ª ordem para a degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3.



**Figura 5.11-** Ajuste linear para a cinética de 2ª ordem para a degradação anaeróbia do azo corante AORRNL com adição de CM3.

## 6- Conclusão

Tendo em vista os resultados apresentados neste trabalho, é possível dizer que a metodologia utilizada para a modificação química da celulose e imobilização da riboflavina por ligação covalente à esse polímero foi eficaz. Desta maneira, o novo material CM3 foi sintetizado com sucesso.

Os ensaios para se verificar a estabilidade da riboflavina fixada à celulose demonstraram que a CM3 não desprende a vitamina B2 no meio aquoso em uma faixa de pH, que se estende do pH 2 até pH 9. A CM3 também mostrou-se estável frente à presença de microorganismos anaeróbios, não tendo liberado a riboflavina no meio reacional nas condições experimentais testadas. Estas constatações, dão suporte a uma importante característica deste material, que é a sua insolubilidade em meio aquoso devida à celulose presente em sua composição. Tal característica se destaca porque traz a possibilidade de reutilização da CM3 nos sistemas de tratamento. Essa reutilização pode ser possível através da retenção da CM3 nos reatores ou pela sua recuperação após o tratamento por meio de decantação. Já em condições de pH elevado a riboflavina é facilmente desprendida do material suporte, tornando-se solúvel e podendo ser perdida no efluente final.

Os experimentos empregando CM3 revelaram a ação deste novo material na melhoria da cinética de degradação do azo corante AORRNL em reator anaeróbio em escala de bancada. O aumento na taxa de degradação com aplicação de CM3 foi de 1,56 vezes na comparação com os reatores em que nenhum tipo de MR foi utilizado. Fenômenos de adsorção do corante ao lodo ou do corante à CM3, assim como, a composição da solução nutriente puderam ser descartados como fatores responsáveis por melhorias na cinética de degradação, evienciando desta maneira, a capacidade de ação da riboflavina imobilizada em celulose como mediador redox na degradação anaeróbia do azo corante modelo. As respostas similares encontradas para a degradação do azo corante AORRNL obtidas nos experimentos com adição de CM3 (51,8% em 24horas e 89,4% em 48horas) riboflavina livre (26,7% em 24horas e 84,3% em 48horas) e extrato de levedura (50,1% em 24horas e 82,6% em 48horas) distintamente, reforçam o caráter transportador de elétrons da CM3 e sugere que este material pode ser

utilizado para participar como mediador redox em processos de degradação de azo corantes onde riboflavina livre e extrato de levedura obtiveram sucesso.

Os ensaios que avaliaram a eficiência de remoção de cor nos reatores aplicando-se diferentes concentrações de CM3, mostraram forte decaimento na capacidade de degradação do azo corante modelo acompanhada pelo aumento da concentração. 42% (CM3 0,245mg/L), 34% (CM3 2,45mg/L) e 20,5% (CM3 24,5mg/L), nas primeiras 24 horas e após 48 horas de ensaio, as percentagens de remoção foram 75,5% (CM3 0,245mg/L), 59,9% (CM3 2,45mg/L) e 34% (CM3 24,5mg/L). Desta maneira, fica claro que o aumento da concentração de CM3 à proporções elevadas, não é benéfico para a ação deste material como mediador redox.

Enfim, através deste trabalho pode-se concluir que a imobilização da riboflavina através da síntese da CM3 foi efetuada com sucesso e que a riboflavina imobilizada em celulose pode ser utilizada como mediador redox abrindo a possibilidade de seu reuso com conseqüente diminuição nos custos de processos que utilizam carreadores de elétrons na degradação anaeróbia de azo corantes.

## **7- Sugestões para trabalhos futuros**

- Verificar a ação da CM3 com diferentes azo corantes
- Verificar qual a melhor concentração de CM3 para se empregar nos tratamentos
- Verificar a ação da CM3 em fluxo contínuo
- Verificar a ação da CM3 em mais de um ciclo
- Verificar a ação da CM3 em efluentes têxteis reais

## 8 - Referências bibliográficas

- Abe.M, Kyogouku, Y., Kitagawa, T., Kawano, K., Ohishi, N., Takai-Suzuki, A., Yagi, K. **Infra red spectra and molecular association of lumiflavin and riboflavin derivatives.** *Spectrochimica Acta*, v. 42A, n.9, p. 1059-1068. 1986.
- Akram, A.; Stuckey, D. C. **Flux and performance improvement in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBR) using powdered activated carbon (PAC).** *Process Biochemistry*, v. 43, n. 1, p. 93-102, 2008.
- Almeida, Edna; Assalin, Márcia Regina; Rosa, Maria Aparecida; Durán, Nelson. **Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio.** *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 818-824, 2004.
- Alvarez, L.H.; Perez-Cruz, M. A.; Rangel-Mendez, J.R.; Cervantes, F.J. **Immobilized redox mediator on metal-oxides nanoparticles and its catalytic effect in a reductive decolorization process.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 184, n. 1-3, p. 268-272, 2010.
- Aquino, S. F et al., **Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios.** *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 12, p. 192-201, 2007.
- Aquino, S. F. e Chernicharo, C. A. L. **Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVS) em reatores anaeróbios sob estresse: Causas e estratégias de controle.** *Engenharia Sanitária e ambiental*, v. 10, p. 152-161, 2005.
- Baeta, B. E. L. Aquino, S.F.; Silva, S.Q.; Rabelo C. A. R. **Anaerobic degradation of azo dye Drimaren blue HFRL in UASB reactor in the presence of yeast extract a source of carbon and redox mediator.** *Biodegradation*, v. 23, n. 2, p. 199-208, 2012.
- Boncz, Marc Á. *Selective oxidation of organic compounds in waste water by ozone-based oxidation processes.* Tese (PhD thesis). Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2002.

- Cervantes, F.J.; Garcia-Espinosa, Alberto; M. Antonieta Moreno-Reynosa ;J. Rene Rangel-Mendez. **Immobilized Redox Mediators on Anion Exchange Resins and Their Role on the Reductive Decolorization of Azo Dyes.** *Environmental Science & Technology*, v. 44, n. 5, p. 1747-1753, 2010
- Cervantes, F.J.; Gonzalez-Estrella; Jorge Marquez; Arturo Alvarez, Luis H.; Arriaga, Sonia **Immobilized humic substances on an anion exchange resin and their role on the redox biotransformation of contaminants.** *Bioresource Technology*, v. 102, n. 2, p. 2097-2100, 2011.
- Cervantes, F.J.; Javier E. Enríquez , Eden Galindo-Petatán, Héctor Arvayo , Elías Razo-Flores, Jim A. Field. **Biogenic sulphide plays a major role on the riboflavin-mediated decolourisation of azo dyes under sulphate-reducing conditions.** *Chemosphere*, v. 68, n. 6, p. 1082-1089, 2007.
- Cervantes, F.J.; van der Veld S.; Lettinga, G.; Field, J.A. **Competition between methanogenesis and quinone respiration for ecologically important substrates in anaerobic consortia.** *Fems Microbiology Ecology*, v. 34, n. 2, p. 161-171, 2000.
- Cervantes, F.J.; van der Zee, F.P.; Lettinga, G. **Enhanced decolourisation of acid orange 7 in a continuous UASB reactor with quinones as redox mediators.** *Water Science and Technology*, v. 44, n. 4, p. 123-128, 2001.
- Chernicharo, C. A. L. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – “Reatores Anaeróbio”. Belo Horizonte, SEGRAC, 2ª Ed.: v.5, 2007.
- Chung, K. T.; Stevens, S.E. **Degradation of azo dyes by environmental microorganisms and helminths.** *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 12, n. 11, p. 2121-2132, 1993.
- Chung, K.T.; Cerniglia, C.E. **Mutagenicity of azo dyes: Structure-activity relationships.** *Mutation Research*, v. 277, n. 3, p. 201-220, 1992. ISSN 0921-8262.
- Claus, H; Faber; G; König,H.. **Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases.** *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 59, p. 672-678, 2002.

- Corrêa C.A.R. *Efeito da Adição do Extrato de Levedura na Degradação de Corante Azo em Reator UASB*. Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto 2009b.
- Correa, C.A.R.; Aquino, S.F.; Caldas P.C.D.; Silva, S.D. **Use of yeast extract as source of carbon and redox mediators for the anaerobic degradation of azo dyes.** *Engenharia Sanitaria E Ambiental*, v. 14, n. 4, p. 559-568, 2009a
- Corti Gabriela S., Botaro, Vagner, R., Gil, Laurent F., Gil, Rossimiriam P. F. **Estudo da capacidade de complexação de íons Cu<sup>2+</sup> em solução aquosa usando celulose modificada com anidrido succínico e com poliaminas.** *Polímeros*, v.4, n. 5, p. 313-317, 2004.
- Costa, M. C. Mota, S., Nascimento, R. F., Dos Santos A. B. Anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) as a catalyst to enhance the reductive decolourisation of the azo dyes Reactive Red 2 and Congo Red under anaerobic conditions. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 105-110, 2010
- Dos Santos, A. B.; Bisschops I. A.E.; Cervantes F. J.; Van Lier J. B. **Effect of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic (30°C) and thermophilic (55°C) treatments for decolourisation of textile wastewaters.** *Chemosphere*, v. 55, n. 9, p. 1149-1157, 2004
- Dos Santos, A.B. **Aplicação conjunta de tratamento anaeróbico termofílico por lodo granular e de mediadores redox na remoção de cor de águas residuárias têxteis.** *Engenharia sanitária e ambiental*, v. 10, n. 3, p.253-259, 2005a.
- Dos Santos, A.B. *Reductive decolourisation of dyes by thermophilic anaerobic granular sludge*. 2005. 176 f. Tese (PhD Tesis). Sub department of Environmental Technology. Wageningen University, Wageningen The Netherlands 2005b.
- Dos Santos, A.B.; Cervantes, F.J.; van Lier, J.B. **Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology.** *Bioresource Technology*, v. 98, n. 12, p. 2369-2385, 2007

- Ellouze, E.; Tahri, N.; Bem Amar, R. **Enhancement of textile wastewater treatment process using Nanofiltration.** *Desalination*, v. 286, p. 16-23, 2012
- Field, J.A.; Brady, J. **Riboflavin as a redox mediator accelerating the reduction of the azo dye Mordante Yellow 10 by anaerobic granular sludge.** *Water Science and Technology*, v. 48, n. 6, p. 187-193, 2003.
- Field, J.A.; Cervantes, F. J.; Van der Zee; Lettinga, G. **Role of quinones in the biodegradation of priority pollutants: a review.** *Water Science and Technology*, v. 42, n. 5, p. 215-222, 2000 ISSN 0273-1223
- Guaratini, Cláudia C. I. e Zanoni M. V. B. **Corantes Têxteis.** *Química Nova*, v. 23, n. 1, p. 71- 78, 2000.
- Gurgel, L. V. A., Karnitz O., Gil, Rossimiriam Pereira de Freitas, Gil, L.F. **Adsorption of Cu(II), Cd(II), and Pb(II) from aqueous single metal solutions by cellulose and mercerized cellulose chemically modified with succinic anhydride.** *Bioresource Technology*, v. 99, n. 8, p. 3077-3083, 2008.
- Gurgel, L. V. A.; Gil, L. F. **Adsorption of Cu(II), Cd(II), and Pb(II) from aqueous single metal solutions by succinylated mercerized cellulose modified with triethylenetetramine.** *Carbohydrate Polymers*, v. 77, n. 1, p. 142-149, 2009.
- Hai, F. I., Yamamoto, K., Nakajima, F., Fukushi, K. **Bioaugmented membrane bioreactor (MBR) with a GAC-packed zone for high rate textile wastewater treatment.** *Water Research*, v. 45, n. 6, p. 2199-2206, 2011.
- Hilal, N., Al-Zoubi, H., Darwish, N.A., Mohammed, A.W., Abdu Arabi, M. **A comprehensive review of nanofiltration membranes: Treatment, pretreatment, modelling, and atomic force microscopy.** *Desalination*, v. 170, n. 3, p. 281-308, Nov 5 2004.
- Huber, T., Müssig, J., Curnow, O., Pang, S., Bickerton, S., Staiger, Mark P. **A critical review of all-cellulose composites.** *Journal of Materials Science*, v. 47, n. 3, p. 1171-1186, Feb 2012.
- Jamal, F., Qidwai, T., Pandey, Prabhask K., Singh R., Singh, S. **Azo and anthraquinone dye decolorization in relation to its molecular structure using soluble**

- Trichosanthes dioica peroxidase supplemented with redox mediator.** *Catalysis Communications*, v. 12, n. 13, p. 1218-1223, 2011.
- Karnitz Júnior, O., Gurgel, L. V. A., Perin de Melo, J. C., Botaro, V. R., Melo, T. M. S., Gil. R. P. F., Gil, L. F., 2007. **Adsorption of heavy metal ion from aqueous solution single metal solution by chemically modified sugarcane bagasse.** *Bioresource Technology*, v. 98, n. 6, 1291-1297, 2007.
- Karnitz, O.; Gurgel, L. V. A.; Gil, L. F. **Removal of Ca(II) and Mg(II) from aqueous single metal solutions by mercerized cellulose and mercerized sugarcane bagasse grafted with EDTA dianhydride (EDTAD).** *Carbohydrate Polymers*, v. 79, n. 1, p. 184-191, 2010.
- Keck, A., Klein, J., Kudlich, M., Stolz, A., Knackmuss, Hans-Joachim, Mattes R. **Reduction of azo dyes by redox mediators originating in the naphthalenesulfonic acid degradation pathway of Sphingomonas sp. strain BN6.** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 9, p. 3684-3690, 1997.
- Klemm D.; Heublein, B.; Fink, H.P.; Andreas Bohn. **Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material.** *Angewandte Chemie-International Edition*, v. 44, n. 22, p. 3358-3393, 2005.
- Kochius, S. Magnusson, A. O., Hollmann, F., Schrader, J., Holtmann, D. **Immobilized redox mediators for electrochemical NAD(P)(+) regeneration.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 93, n. 6, p. 2251-2264, 2012.
- Kudlich, M. Keck, A., Klein, J., Stolz, A. **Localization of the enzyme system involved in anaerobic reduction of azo dyes by Sphingomonas sp. strain BN6 and effect of artificial redox mediators on the rate of azo dye reduction.** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 9, p. 3691-3694, 1997.
- Kunz, A., Peralta-Zamora, P.; Moraes, S. Gomes de; Durán, N. **Novas Tendências no tratamento de efluentes têxteis.** *Química Nova*, v.25, n.1, p.78-82, 2002.

- Lu, H., Zhoul, J., Wang, J., Si, W., Teng, Hu, Liu, Guangfei. **Enhanced biodecolorization of azo dyes by anthraquinone-2-sulfonate immobilized covalently in polyurethane foam.** *Bioresource Technology*, v. 101, n. 18, p. 7185-7188, 2010.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M.; Parker, J. *Brock biology of microorganisms*. New Jersey: Prentice-Hall. 2003.
- M.R. Alcântara, D. Daltin. **A química do processamento têxtil.** *Química Nova*, v. 19, n.3, p. 320-330, 1996.
- McMullan, G., Meehan, C., Conneely ·A., Kirby·N., Robinson, T., Nigam P., Banat , I. M., Marchant, R., Smyth, W. F. **Microbial decolourisation and degradation of textile dyes.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 56, n. 1-2, p. 81-87, 2001.
- Mendez-Paz, D., Omil, F., Lema, J. M. **Anaerobic treatment of azo dye Acid Orange 7 under batch conditions.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 36, n. 2, p. 264-272, 2005.
- Nakanishi, K. *Infrared Absorption Spectroscopy: practical*. 2<sup>a</sup> ed., San Francisco, Holden-Day, Inc., 1977, p. 17-57.
- Oliveira, Rafael leite de; Anderson Marc A.; Umbuzeiro, Gisela de Aragão; Zocolo, Guilherme Julião; Zaroni, Maria Valnice Boldrin. **Assessment of by-products of chlorination and photoelectrocatalytic chlorination of an azo dye.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 205, p. 1-9, 2012.
- Pandey, A. Singh, P., Iyengar, L. **Bacterial decolorization and degradation of azo dyes.** *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 59, n. 2, p. 73-84, 2007.
- Penzkofer, A. **Photoluminescence behavior of riboflavin and lumiflavin in liquid solutions and solid films.** *Chemica Physics* v. 400 p.142-153, 2012.
- Pereira, A. C., Santos, A. D.; Kubota, L. T. **Electrochemical behavior of riboflavin immobilized on different matrices.** *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 265, n. 2, p. 351-358, 2003.
- Pinheiro, H. M., Touraud, E., Thomas, O. **Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters.** *Dyes and Pigments*, v. 61, n. 2, p. 121-139, 2004.

- Rau, J.; Knackmuss, H. J. Stolz, A. **Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria.** *Environmental Science & Technology*, v. 36, n. 7, p. 1497-1504, 2002.
- Roberts, J. A., Sutton, P. M., Mishra, P. N. **Application of the membrane biological reactor system for combined sanitary and industrial wastewater treatment.** *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 46, n. 1, p. 37-42, 2000.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant R., Nigam, P. **Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative.** *Bioresource Technology*, v. 77, n. 3, p. 247-255, 2001.
- Seghezze, L., Zeeman, G., van Lier, Jules B., Hamelers, H.V.M., Lettinga, G. **A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors.** *Bioresource Technology*, v. 65, n. 3, p. 175-190, 1998.
- Souza, Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de; Bonilla, Karin Angela Santos; Souza, Antônio Augusto Ulson de. **Removal of COD and color from hydrolyzed textile azo dye by combined ozonation and biological treatment.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 179, p. 35-42, 2010.
- Souza, A. C. S. de, Ferreira, C. V., Jucá, M. B., Aoyama, H., Cavagis, A. D. M., Peppelenbosch, M. P. **Riboflavina: uma vitamina multifuncional.** *Química Nova*, v. 28, n. 5, p. 887-891, 2005.
- Stolz, A. **Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 56, n. 1-2, p. 69-80, 2001.
- Tan, N. C. G., Prenafeta-Boldú, F. X., Opsteeg, J. L., Lettinga, G., Field, J. A. **Biodegradation of azo dyes in cocultures of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment cultures.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 51, n. 6, p. 865-871, 1999.
- Van Der Bruggen, B., Curcio, E., Drioli, E. **Process intensification in the textile industry: the role of membrane technology.** *Journal of Environmental Management*, v. 73, n. 3, p. 267-274, 2004.

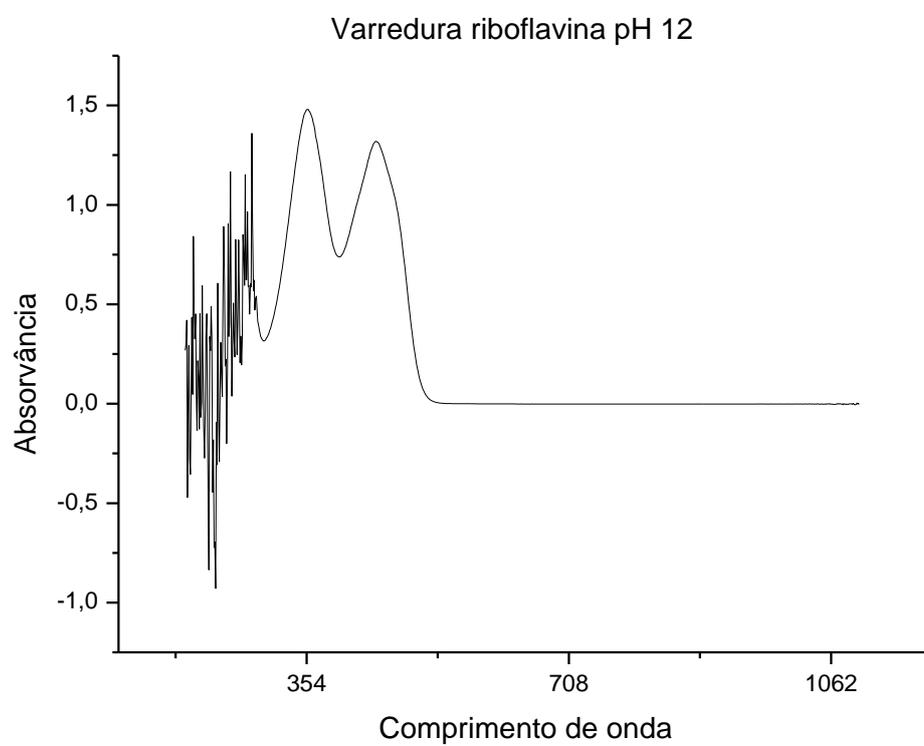
- Van der Zee, F. P., Bisschops, Iemke A.E., Blanchar, Valérie G., Bouwman, Renske H.M., Lettinga, Gatzke, Field, Jim A. **The contribution of biotic and abiotic processes during azo dye reduction in anaerobic sludge.** *Water Research*, v. 37, n. 13, p. 3098-3109, 2003a.
- Van der Zee, F. P., Bisschops, Iemke Renske H.M., Lettinga, Gatzke, Field, Jim A. **Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes.** *Environmental Science & Technology*, v. 37, n. 2, p. 402-408, 2003b.
- Van der Zee, F. P., Bouwman, Renske H.M., Strik, David P.B.T.B., Lettinga, Gatzke, Field, Jim A. **Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors.** *Biotechnology and Bioengineering*, v. 75, n. 6, p. 691-701, 2001a.
- Van der Zee, F. P., Cervantes, F. J. **Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: A review.** *Biotechnology Advances*, v. 27, n. 3, p. 256-277, 2009.
- Van der Zee, F. P., Lettinga, Gatzke, Field, Jim A. **Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge.** *Chemosphere*, v. 44, n. 5, p. 1169-1176, 2001b.
- Van der Zee, F. P., Villaverde, S. **Combined anaerobic–aerobic treatment of azo dyes—A short review of bioreactor studies.** *Water Research*, v. 39, n. 8, p. 1425-1440, 2005.
- Van Lier, J. B., Cervantes, F. J., Dos Santos, A. B. **Impacto dos mediadores redox na remoção de cor de corantes azo e antraquinônico por lodo granular anaeróbio sob condições mesofílicas e termofílicas.** *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 12, n. 1, p. 102-108, 2007.
- Von Sperling, Marcos. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.* Belo Horizonte: SEGRAC, 2ª Ed.: v. 2, 1996.
- Yamashita, M., Rosatto, S. S., Kubota, L. T. **Electrochemical comparative study of riboflavin, FMN and FAD immobilized on the silica gel modified with zirconium oxide.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 13, n. 5, p. 635-641, 2002.

Yasar, S., Cirik, K., Cinar, O. **The effect of cyclic anaerobic-aerobic conditions on biodegradation of azo dyes.** *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 35, n. 3, p. 449-457, 2012.

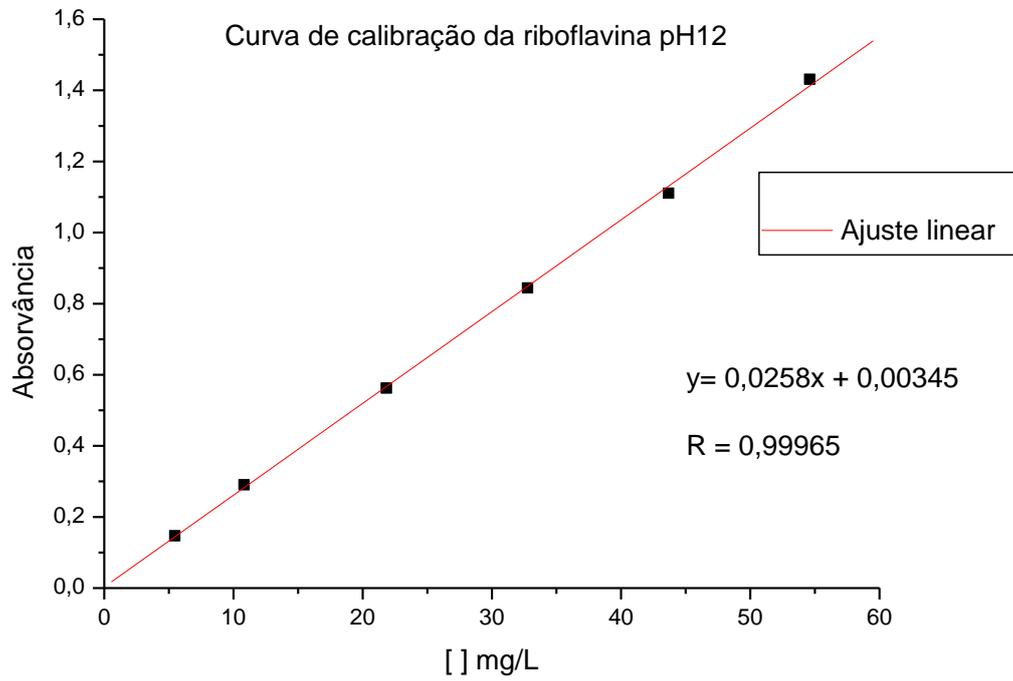
Zanoni, M.V.B.e Carneiro, P. A. **O descarte dos corantes têxteis.** *Corantes Têxteis* ed. 174, p.61-64, 2001.

Zylla, R. Sójka-Ledakowicz, J., Stelmach, E., Ledakowicz S. **Coupling of membrane filtration with biological methods for textile wastewater treatment.** *Desalination*, v. 198, n. 1, p. 316-325, 2006.

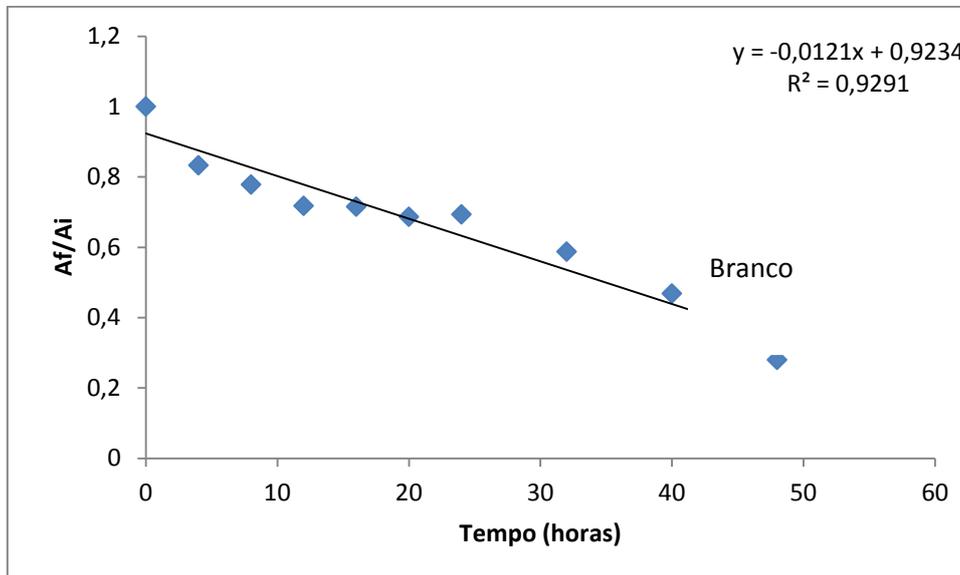
## Anexo I - Varredura dos espectros de absorvância da riboflavina em pH 12



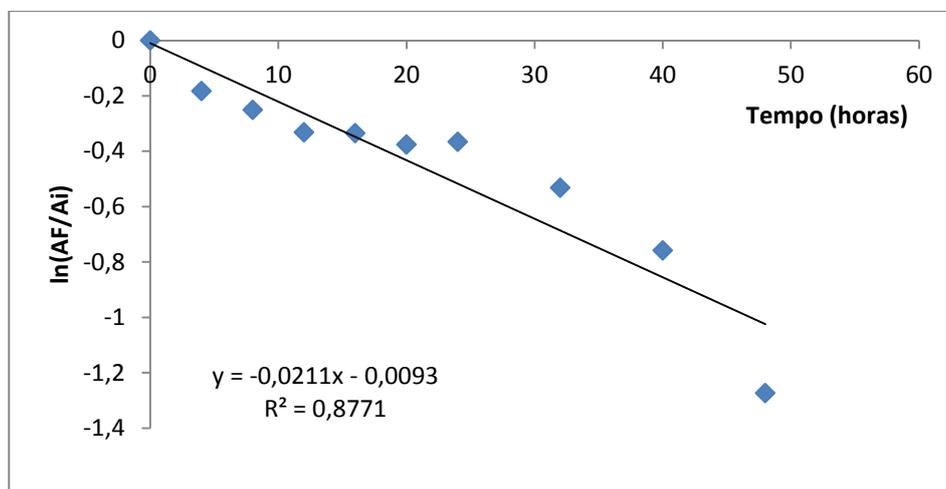
## Anexo II - Curva de calibração da riboflavina em pH 12



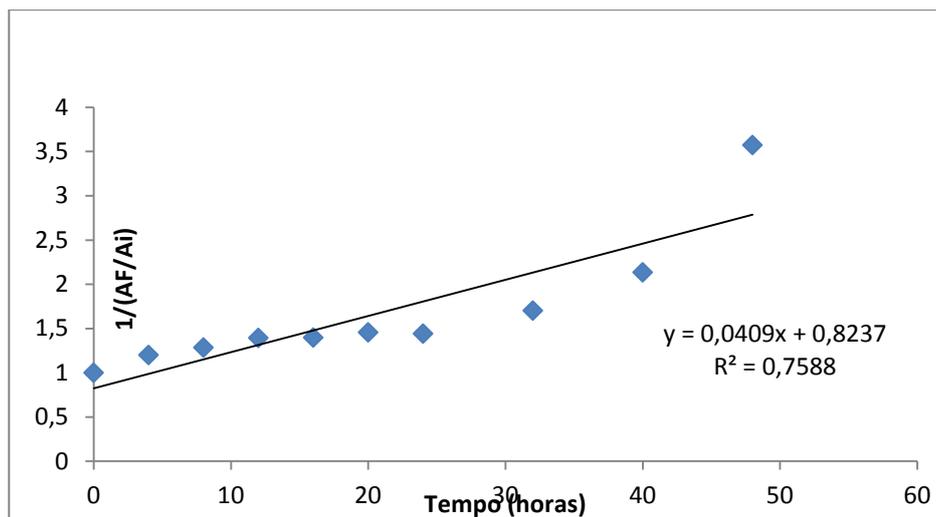
**Anexo III- Regreção linear dos resultados experimentais da degradação anaeróbia do azo corante AORRNL sem adição de mediadores redox (Branco).**



Regressão linear para a cinética de ordem 0 para o experimento de degradação anaeróbia do AORRNL sem mediador redox (Branco).



Regressão linear para a cinética de 1ª ordem para o experimento de degradação anaeróbia do AORRNL sem mediador redox (Branco).



Regressão linear para a cinética de 2ª ordem para o experimento de degradação anaeróbia do AORRNL sem mediador redox (Branco).