

II-091 - TRANSFORMAÇÃO ANAERÓBIA DE CORANTES AZO EM SISTEMA DE ALIMENTAÇÃO CONTÍNUA: CINÉTICA, SUBPRODUTOS, TOXICIDADE E COMUNIDADE MICROBIANA.

Rhayssa de Brito Silva⁽¹⁾

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Engenharia Civil, área de Tecnologia Ambiental, pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE-CTG) e Doutoranda em Hidráulica e Saneamento na EESC/USP.

Sávia Gavazza⁽²⁾

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professora Associada do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE/CTG).

Márcia Damianovic⁽³⁾

Engenheira Civil pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Mestre em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professora no Departamento de Hidráulica e Saneamento (EESC/USP).

Endereço⁽¹⁾: Laboratório de Processos Biológicos (LPB), Av. João Dagnone, 1100, Santa Angelina-São Carlos - São Paulo – CEP:13563-120, Brasil - email: rhayssabrito@usp.br;

RESUMO

Para vencer a barreira da difícil degradabilidade dos resíduos gerados por indústrias têxteis, tratamentos biológicos com mais de uma etapa vêm se demonstrando eficiente e, vantajoso do ponto de vista econômico. Para completa mineralização dos corantes azo, uma primeira etapa anaeróbia promove a quebra da ligação azo, formando aminas aromáticas, geralmente seguida de mineralização na presença de oxigênio. Aplicar oxigênio de forma direta é a rota mais imediata da degradação das aminas aromáticas, entretanto algumas aminas podem ser degradadas também em condições anóxicas específicas. Este trabalho pretende aplicar ao efluente têxtil tratamento biológico para remoção do corante, dos subprodutos por eles formados e para diminuição da toxicidade do efluente em regime de alimentação contínua. Os corantes selecionados para alimentar o sistema foram Reactive Orange 4 (RO4 - monoazo), Reactive Black 5 (RB5 - diazo), Direct Blue 71 (DB71 - triazo) e Direct Black 22 (DB22 - tetra-azo) a serem degradados sob condições anaeróbias, utilizando melaço como fonte externa de matéria orgânica. Estudos prévios para esses corantes realizados pela autora indicaram que o grupo ligante e a simetria da molécula podem influenciar mais na cinética de degradação do corante do que o próprio peso da molécula ou o número de ligações azo existentes (SILVA, 2019). A partir disso, esses corantes serão aplicados a reatores alimentados por regime de fluxo contínuo para avaliação da biotransformação dos corantes por associação de técnicas de cromatografia líquida e espectrometria de massa (LC/MS/MS).

PALAVRAS-CHAVE: Efluente têxtil, Corantes azo, Fluxo-contínuo, Cinética, Biotransformação, Espectrometria de massa.

INTRODUÇÃO

O mercado têxtil internacional movimenta mais de US\$200 bilhões por ano e emprega milhares de pessoas em todo o seu processo produtivo. Os principais produtores têxteis do mundo e os responsáveis pela produção de quase 70% de têxteis são encontrados no continente asiático.

Países como China, Índia e Brasil passaram a ganhar posições de destaque no setor têxtil. Hoje, o Brasil é o único país da América do Sul com grande destaque neste seguimento sendo o quinto maior produtor têxtil do mundo e o quarto maior parque produtivo de confecções (IEMI, 2017).

Após um período de crise econômica no país a indústria têxtil começou a apresentar sinais de melhoras a partir de 2017. Além do aumento de 5% na produção, o setor aumentou a geração de empregos para 3,5 mil postos de trabalho, totalizando 1,48 milhão de pessoas empregadas no setor (ABIT, 2018).

Os estados de São Paulo e Pernambuco compartilham posições de liderança no Brasil, sendo o primeiro e o oitavo produtor brasileiro, respectivamente.

No entanto, o desenvolvimento da indústria têxtil não é acompanhado da sustentabilidade ambiental requerida. A descarga de efluentes industriais, além de um problema estético, pode alterar o processo de autodepuração dos corpos d'água.

A estabilidade química do corante azo, comumente utilizado nas indústrias têxteis e de tinturas capilares, os tornam altamente recalcitrantes em ambientes naturais (CERVANTES; DOS SANTOS, 2011). Além disso, as águas residuárias geradas no processo industrial são complexas, ricas em sais inorgânicos, com elevada carga orgânica, alto teor de corantes e salinidade, e algumas vezes apresentam níveis elevados de sulfato, principalmente devido aos processos de tratamento incluídos na etapa de beneficiamento dos tecidos (VAN DER ZEE et al., 2003).

Para o tratamento do efluente têxtil, os processos físico-químicos são os mais utilizados nas lavanderias. Esse tipo de tratamento apesar de aparentemente remover a cor e a matéria orgânica do efluente, apenas transfere os poluentes da fase líquida para a fase sólida do tratamento (SPONZA e ISIK, 2004).

O tratamento biológico surge como alternativa devido à viabilidade econômica e à possibilidade de remoção simultânea de cor e matéria orgânica, de forma efetiva, e pode ser empregado em indústrias de vários portes (KHAN; BHAWANA; FULEKAR, 2013).

Para completa mineralização dos compostos o processo de degradação ocorre em dois estágios. O primeiro, estágio requer condições anaeróbias, para remoção de cor devido a clivagem reductiva da ligação azo do corante sob ação de enzimas azo redutase (ARORA, 2015) e o estágio seguinte para mineralização das aminas geradas ao final da etapa anaeróbia, como subprodutos da quebra das ligações do corante, é condicionado a presença do oxigênio que age como aceptor de elétrons (Figura 1) (PANDEY et al., 2007).

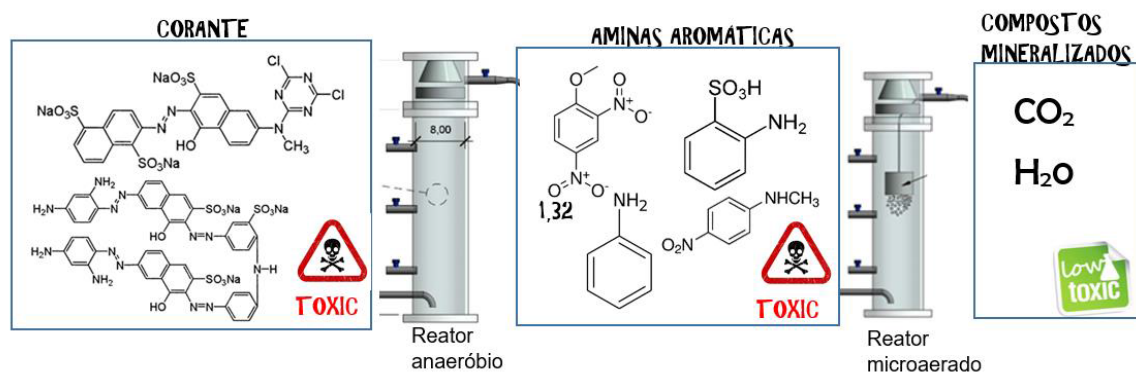


Figura 1. Esquema ilustrativo dos estágios necessários para possível mineralização dos corantes e diminuição da toxicidade.

A complexidade das aminas aromáticas merece atenção especial pois esses subprodutos são encontrados não somente nesse tipo de efluente, mas também em resíduos gerados por indústrias farmacêuticas de borracha, de explosivos e petroleiras (PEREIRA et al., 2011) e vários trabalhos já comprovam o potencial cancerígeno desses compostos (PIOLATTO et al. 1991; BAAN et al. 2008; PIRA et al., 2010).

Dada a importância desse assunto para as indústrias têxteis nacionais o grupo de pesquisa da UFPE, trabalha nessa temática há 12 anos. Os trabalhos produzidos sobre esse tema apresentam relevância no cenário científico e aplicações práticas. Dois deles relataram como a microaeração pode substituir a aeração convencional, diminuindo o custo energético e ainda assim mineralizando as aminas aromáticas resultantes do processo sob análise das variações microbianas (AMARAL et al., 2014; MENEZES et al., 2019, CARVALHO et al., 2020).

Dessa forma, o presente trabalho tem o intuito de entender melhor os mecanismos de biotransformação de corantes do tipo azo (mono, di, tri e tetraazo) utilizando efluente sintético em reatores de fluxo contínuo comumente utilizados por essas indústrias e relacionar os subprodutos formados a estrutura molecular de cada corante.

OBJETIVO

O objetivo geral do trabalho é avaliar a biotransformação anaeróbia dos corantes Reactive Orange 4 (monoazo), Reactive Black 5 (diazó), Direct Blue 71 (triazó) e Direct Black 22 (tetra-azo) sob a ótica do comportamento cinético, subprodutos, toxicidade e comunidade microbiana em reator de fluxo contínuo. Bem como a mineralização das aminas aromáticas resultantes da degradação do corante, sob condições microaeradas.

MATERIAS E MÉTODOS

Reatores

O aparato experimental consistirá em dois reatores contínuos em série sequenciais (Reator anaeróbio de leito estruturado (RAnLE) e um reator micro-aerado) para avaliar o tratamento completo da água residuária com a suplementação do melaço, doador escolhido em estudo preliminar.

A condição anaeróbia do RAnLE prevê a remoção de cor e, para degradação das aminas aromáticas, a microaeração (segundo reator), ambos em fluxo ascendente.

Ambos os reatores terão altura de 67 cm, diâmetro de 8 cm, totalizando 3,5 L de volume útil. O RAnLE possuirá meio suporte de poliuretano para fixação e crescimento da biomassa. O segundo reator receberá aeração por meio de sistema de ar difuso, com o oxigênio fornecido por bombas típicas de “aquário” e dispersados por pedra porosa dentro do reator, visando manter o teor de oxigênio dissolvido abaixo de $1,0 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$.

Os reatores devem ser protegidos da iluminação. E a alimentação desses deve ser feito por meio de bombas peristálticas. O efluente tratado sai na parte superior do reator microaerado e os reatores possuem outras saídas para análises em diferentes alturas, como indicado na Figura 2.

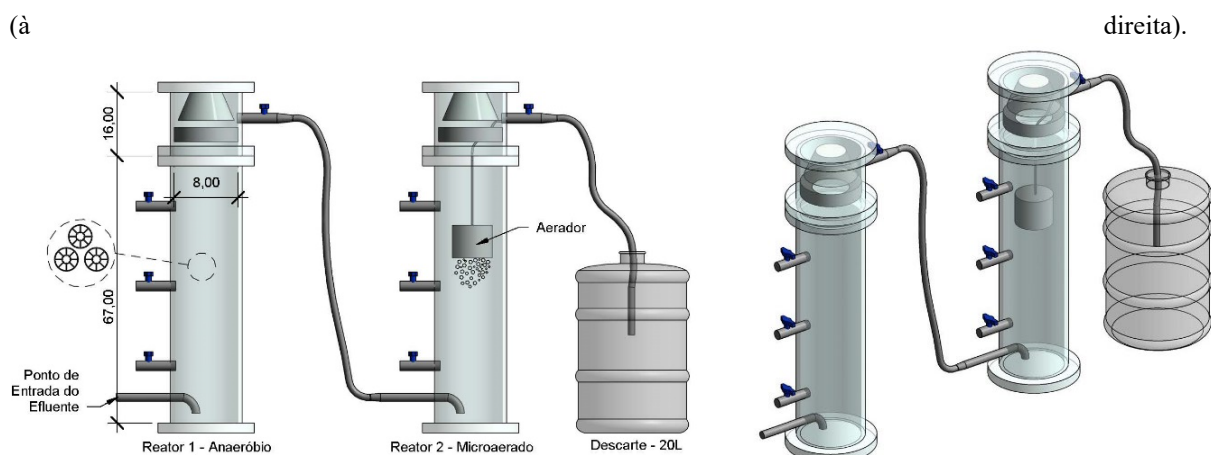


Figura 2. Esquema do aparato experimental com medidas em centímetros, vista frontal (à esquerda) e perspectiva

Inóculo

O reator será inoculado com comunidade anaeróbia previamente adaptada a degradação dos corantes a serem avaliados nesse projeto, provenientes de reatores em batelada operados em escala de bancada. O reator biológico microaerado não será inoculado, inicialmente.

O inóculo quando utilizado para a degradação dos corantes, em experimento prévio, já estava adaptado à efluentes têxteis com alto teor de sulfato. Boa diversidade bacteriana foi detectada no inóculo (Carvalho, 2016) com predominância dos filos Proteobacteria (Abundância relativa – AR entre 13,17 e 44,21%), Firmicutes (AR 7,12 - 41,94%), Bacteroidetes (AR 13,05 – 26,17%) e Chloroflexi (AR 2,51 – 4,77%).

Além disso, bactérias redutoras de sulfato (BRS) também foram detectadas no inóculo sendo os gêneros Desulfobulbus, Desulfomicrobium, Desulfotomaculum e Desulfovibrio foram os mais abundantes, dentre as BRS.

Composição do efluente têxtil sintético

O efluente utilizado será sintetizado em laboratório e composto por corantes, melaço comercial (Melaço de Cana de Açúcar, 95% carboidrato, produzido em Pernambuco, marca Mel Bom®), como fonte externa de carbono, macro e micronutrientes, e bicarbonato de sódio, como tampão.

As concentrações dos compostos utilizados para simular o efluente têxtil são listadas na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração dentro do reator dos compostos que compõem o efluente sintético

Composto	Concentração
Corante	65 mg/L
Melaço (fonte de carboidrato)	2,5 g/L
Sulfato	250 mg/L
Oxigênio* (acceptor de elétrons)	< 1 mg/L
Lodo	2,5 g SSV/L
Macro e micronutrientes	De acordo com Amorim et al., 2013

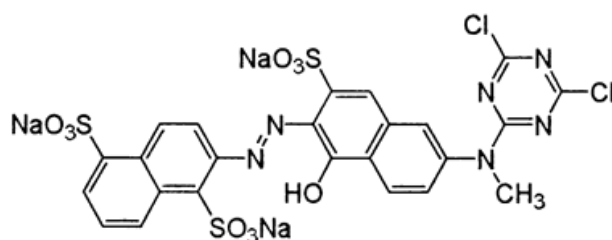
*No reator micro-aerado

Os quatro corantes indicados farão parte da composição do efluente têxtil sintético simulando as condições encontradas na água residuária das lavanderias que utilizam os corantes azo.

Os corantes Reactive Orange 4 (RO4) - cedido e utilizado pela lavanderia parceira do grupo de pesquisa da UFPE -, Reactive Black 5 (RB5) -comprado da Sigma-Aldrich, com 50% de pureza-, Direct Blue 71 (DB71) - comprado da Sigma-Aldrich, com 50% de pureza, Direct black 22 (DB22) -doado pela empresa Exatacor Araquímica Ind. e Com. de Corantes, utilizado previamente por Menezes (2017), caracterizado com pureza de 50%, têm suas estruturas e características apresentadas nas Figuras

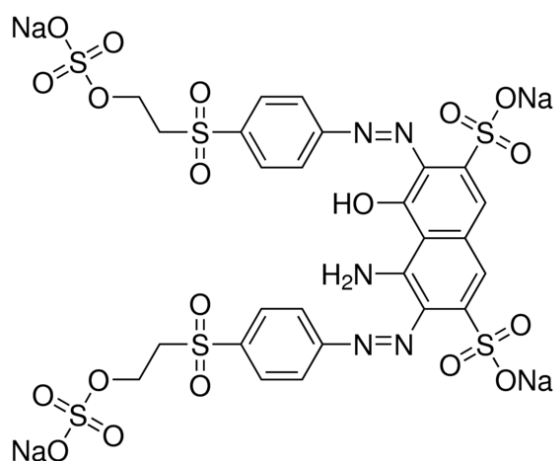
3, 4, 5 e 6.

Os corantes serão utilizados inicialmente separadamente dentro dos reatores, à medida em que a identificação e o comportamento de cada composto for sendo compreendida e validada com a metodologia implementada, os quatro corantes então serão adicionados simultaneamente no RAnLE aproximando assim o efluente sintético as condições reais das lavanderias brasileiras.



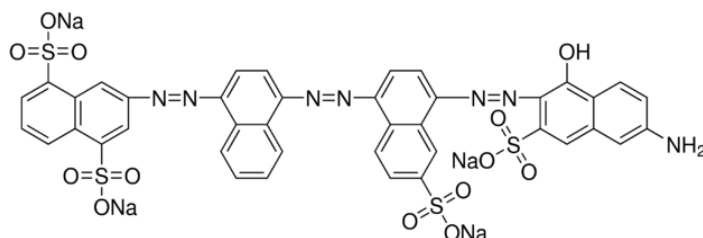
CAS: 12225-82-0
 Fórmula molecular:
 $C_{24}H_{13}Cl_2N_6Na_3O_{10}S_3$
 Massa molecular: 781.47 g/mol
 $\lambda_{\text{máx}} = 489 \text{ nm}$

Figura 3. Estrutura química do corante Reactive Orange 4.



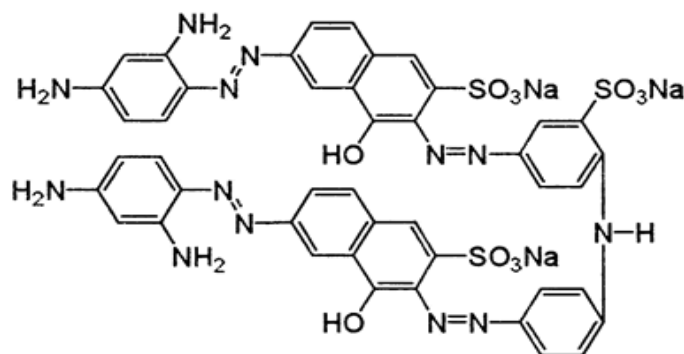
CAS: 17095-24-8
 Fórmula molecular:
 $C_{26}H_{21}N_5Na_4O_{19}S_6$
 Massa molecular: 991.82 g/mol
 $\lambda_{\text{máx}} = 580 \text{ nm}$

Figura 4. Estrutura química do corante Reactive Black 5.



CAS: 4399-55-7
 Fórmula molecular:
 $C_{40}H_{28}N_7NaO_{13}S_4$
 Massa molecular: 965.94 g/mol
 $\lambda_{\text{máx}} = 586 \text{ nm}$

Figura 5. Estrutura química do corante Direct Blue 71



CAS: 6473-13-8
 Fórmula molecular:
 $C_{44}H_{32}N_{13}Na_3O_{11}S_3$
 Massa molecular: 1083,97 g/mol
 $\lambda_{\text{máx}} = 476 \text{ nm}$

Figura 6. Estrutura química do corante Direct Black 22.

Monitoramento dos reatores e da água residuária

Para o monitoramento dos reatores, serão feitas as análises descritas na Tabela 2 no ponto de saída do efluente em cada reator. .

Tabela 2. Parâmetros de monitoramento, frequência e métodos de análise.

Parâmetro	Frequência de monitoramento	de Metodologia/Referência
Oxigênio dissolvido (OD)	3 vezes por semana	SM 4500-O
Salinidade	3 vezes por semana	SM 2520B
pH	3 vezes por semana	SM 4500- H+ B
Potencial Oxirredução (ORP)	3 vezes por semana	SM 2528B
DQO	2 vezes por semana	SM 5220D
Alcalinidade parcial	2 vezes por semana	SM 2320B
Alcalinidade total	2 vezes por semana	SM 2320B
Nitrato/Nitrito/Sulfato	Quinzenalmente*	SM 4110B
Sulfeto	Semanalmente*	SM 4500S2-F
Gás	3 vezes por semana	Cromatografia gasosa
Carboidrato	2 vezes por semana	Yemm e Willis (1954)
Cor/ Aminoácidos aromáticos (ABS)	2 vezes por semana	Pinheiro, Touraud e Thomas (2004)
Ácidos graxos voláteis (AGV)	2 vezes por semana	Adaptado de Adorno, Hisarawa, Varesche (2014)
Análise dos constituintes	2 vezes por semana	Cromatografia acoplada a espectrometria de massa**
Toxicidade	Início de cada fase experimental	Microtox® (Vibrio fischeri)

*A depender da fase operacional do experimento

**Fase de implementação atual

A medição da cor e das aminos aromáticas será feita por varredura espectrofotométrica da amostra para determinação da absorbância no intervalo de comprimento de onda entre 200 e 800 nm. A faixa UV (de 200 a 350 nm) é utilizada para observação da presença das aminos aromáticas nas amostras, evitando interferências da cor visível (PINHEIRO; TOURAUD; THOMAS, 2004). E a quantificação da cor é feita através da curva que relaciona o comprimento de onda de absorção de luz do corante e a concentração desse composto.

A biotransformação dos corantes utilizados também será analisada via cromatográfica por meio de Espectrometria de massa. Apesar da larga utilização da cromatografia líquida (HPLC) para identificação desses compostos comumente reportada na literatura (WAG; SU; YONG, 2007)), essa metodologia não vem sendo suficiente para a identificação estrutural dos compostos devido a interferência espectral dos intermediários e ao elevado grau de impureza dos corantes (REETSMAS, 2003).

Perfil Temporal e espacial

Conforme resultados obtidos em experimentos prévios da autora a transformação dos corantes sob condições anaeróbicas ocorre em maior velocidade e em valores médios superiores a 70% nas primeiras 24 horas após a partida dos reatores, com biomassa adaptada.

Por isso, no início do experimento será feito um perfil temporal durante as primeiras 24 horas. Nesse período serão analisados carboidratos, cor e formação de aminos aromáticas por varredura espectrofotométrica da amostra para determinação da absorbância no intervalo de comprimento de onda entre 200 e 800 nm.

A medida que forem observados formação de novos compostos nas varreduras a coleta também deverá incluir análise dos constituintes por meio de cromatografia acoplada a espectrometria de massa, para possível identificação dos compostos formados.

Sempre que o sistema apresentar autossuficiência no tratamento, indicada pela produção de alcalinidade, remoções de cor e DQO próximas a 80%, com formação e posterior degradação de aminos aromáticas e ORP próximo a -400 mV em UH, um perfil espacial será realizado nos dois reatores. As coletas serão feitas em diferentes alturas dos dois reatores, os pontos amostrais ainda serão definidos. As análises realizadas nesse período dependem da fase operacional e do desempenho dos reatores, entretanto serão de acordo com a metodologia indicada na Tabela 2

RESULTADOS ESPERADOS

O projeto encontra-se atualmente em implementação da metodologia para identificação dos corantes a serem utilizados por associação de equipamentos cromatográficos (LC/MS/MS). Está sendo realizada a definição das condições operacionais para identificação de cada corante a partir da adaptação da metodologia proposta por DING, SUN, XU (2009) para 9 diferentes corantes (Direct Black 38, Direct Blue 6, Direct Red 28, Acid Red 26, Disperse Blue 1, Disperse Yellow 3, Disperse Orange 11, Basic Red 9, Basic Violet 14) com estruturas semelhantes aos que serão utilizados nesse projeto.

Contudo, com base na experiência dos grupos de pesquisa da UFPE e da EESC-USP, ainda se faz necessário o traçado de rotas metabólicas com identificação dos compostos intermediários de degradação do corante e dos compostos “caixa de pandora”. Além disso, a forma como ocorrem as alterações do comportamento da comunidade microbiana sob diferentes condições operacionais. Por se tratarem de fundamentos, e não apenas conhecimento empírico, estas observações poderão ser aplicadas para diferentes compostos e configurações de reatores.

Dessa forma, com a aplicação desses corantes, unindo os resultados obtidos anteriormente, em reatores alimentados por fluxo contínuo espera-se que algumas lacunas sejam preenchidas como:

- a) Observação do desempenho operacional de reatores contínuos em série anaeróbio e microaerado, em escala laboratorial, na remoção de cor e matéria orgânica, em condições anaeróbias;
- b) Identificação dos metabólitos intermediários formados e degradados durante os processos;
- c) Cinética de remoção de cor e sua relação com as estruturas;
- d) Caracterização da toxicidade das moléculas envolvidas; e
- e) Identificação da microbiota adaptada as condições anaeróbias e microaeradas dos dois reatores a serem operados.

Devido à aplicabilidade do experimento e considerando a variedade de corantes com diferentes estruturas utilizados na indústria têxtil o projeto tem alto valor científico. Os resultados esperados a partir desse estudo terão relevante importância para a ciência e para o desenvolvimento das indústrias têxteis de São Paulo e da região do Polo de Confecções do Agreste de Pernambucano.

CONCLUSÕES

Ainda existem lacunas a serem preenchidas em relação a influência da estrutura molecular na biotransformação dos corantes e, a mineralização das aminas aromáticas sob condições alternativas, utilizando fluxo contínuo como sistema de alimentação dos reatores biológicos. Portanto, a nova configuração experimental proposta para esse projeto assume importância experimental uma vez que o fluxo contínuo evita o acúmulo de subprodutos tóxicos dentro dos reatores podendo aumentar o desempenho do sistema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABIT. Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. Indústria Têxtil e de Confecção Brasileira, 2018. Disponível em: < <http://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor> >. Acesso em: 12/04/2018.
2. ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and validation of two methods to quantify volatile acids (C2-C6) by GC/FID: headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). American Journal of Analytical Chemistry. v. 5, p. 406-414.2014.
3. AMARAL, F. M.; KATO, M. T.; FLORÊNCIO, L.; GAVAZZA, S. Color, organic matter and sulfate removal from textile effluents by anaerobic and aerobic processes. Bioresource Technology. v. 163, p. 364–369. 2014.
4. AMORIM, S. M.; KATO, M. T.; FLORÊNCIO, L.; GAVAZZA, S. Influence of redox mediators and electron donors on the anaerobic removal of color and chemical oxygen demand from textile effluent. Clean – Soil, Air, Water.v. 41, n. 9 p, 928–933. 2013
5. APHA, AWWA, WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20. ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 2005.
6. ARORA, P. K. Bacterial degradation of monocyclic aromatic amines. Frontiers of Microbiology. v.6, p. 820.2015
7. CARVALHO, J.R.S. AMARAL, F.M. FLORENCIO, L. KATO, M.T. DELFORNO, T. P. GAVAZZA, S. Microaerated UASB reactor treating textile wastewater: The core microbiome and removal of azo dye Direct Black 22. Chemosphere. v.242. 2020
8. CERVANTES, F. J.; DOS SANTOS, A. B. Reduction of azo dyes by anaerobic bacteria: microbiological and biochemical aspects. Reviews in environmental science and biotechnology. v. 10, n. 2, p. 125–137.2011;
9. DING, Y., SUN, C.; XU, X. Simultaneous identification of nine carcinogenic dyes from textiles by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry via negative/positive ion switching mode. European Journal of Mass Spectrometry, v.15, p. 705–713, set. 2009.
10. IEMI. Inteligência de mercado. <<http://www.iemi.com.br/em-janeiro-vestuario-produziu-53-mais/>> Acesso em: 12/04/2018.
11. KHAN, R.; BHAWANA, P.; FULEKAR, M. H. Microbial decolorization and degradation of 17 synthetic dyes: A review. Reviews in Environmental Science and Biotechnology. v. 12, n. 1, p. 75–97.2013.
12. MENEZES, O.; BRITO, R.; HALLWAS, F.; FLORÊNCIO, L.; KATO, M.T.; GAVAZZA, S. Coupling intermittent micro-aeration to anaerobic digestion improves tetra-azo dye Direct Black 22 treatment in sequencing batch reactors, Chemical Engineering Research and Design, 2019.
13. PANDEY, A.; SINGH, P.; IYENGAR, L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. International biodeterioration and biodegradation. v. 59, n. 2, p. 73–84.2007.
14. PEREIRA, R.; PEREIRA, L.; VAN DER ZEE, F. P.; ALVES, M. M. Fate of aniline and sulfanilic acid in UASB bioreactors under denitrifying conditions. Water research.. v. 45, p. 191 – 200. 2011.
15. 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.
16. PIOLATTO, G.; NEGRI, E.; VECCHIA, E.; PIRA, E.; DECARLI, A.; PETO, J. Bladder cancer mortality of workers exposed to aromatic amines: an updated analysis. British Journal of Cancer. v. 63, n. 3, p. 457–459.1991.
17. PIRA, E., PIOLATTO, G., NEGRI, E., ROMANO, C., BOFFETTA, P., LIPWORTH, L. Bladder cancer mortality of workers exposed to aromatic amines: a58-year follow-up. Journal of the National Cancer Institute. v. 102, p. 1096–1099.2010.
18. SILVA, R.B. Comportamento cinético da degradação de corantes azo e aminas aromáticas sob diferentes condições redox. Recife, 2018. Dissertação de mestrado – Centro de Tecnologia e Geociências – Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

19. SPONZA, D.T.; ISIK, M. Monitoring of toxicity and intermediates of C.I. Direct Black 38 azo dye through decolorization in an anaerobic/aerobic sequential reactor system. *Journal of Hazardous Materials*. B114, p. 29–39, 2004.
20. VAN DER ZEE, F. P.; BISSCHOPS, I. A. E.; BLANCHARD, V. G.; BOUWMAN, R. H. M.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. The contribution of biotic and abiotic processes during azo dye reduction in anaerobic sludge. *Water Research*. v. 37, n. 13, p. 3098-3109, 2003.
21. WANG, J. P.; SU, H. W., HONG, C. Testing method for disperse dyestuffs in textiles. *Chinese Dyeing and Finishing*, v. 33, p. 32, 2007 (in Chinese).