



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO FARMACÊUTICA

NEEMIAS CINTRA FERNANDES

Estudo ecotoxicológico de corante têxtil e remediação por Fenton e
Fenton-like

Goiânia - Goiás

2018

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

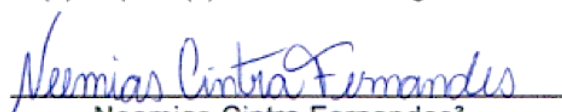
Nome completo do autor: Neemias Cintra Fernandes

Título do trabalho: Estudo ecotoxicológico de corante têxtil e remediação por Fenton e Fenton-like

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

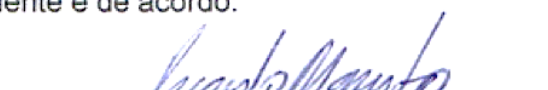
Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Neemias Cintra Fernandes²

Autor

Ciente e de acordo:



Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto²
Orientador

Data: 07/11/2018

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

NEEMIAS CINTRA FERNANDES

Estudo ecotoxicológico de corante têxtil e remediação por Fenton e
Fenton-like

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito para obtenção do Título Doutor em Inovação Farmacêutica

Área de Concentração:

Fármacos e Medicamentos

Orientador:

Professor Dr. Ricardo Neves Marreto

Goiânia - Goiás

2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Cintra Fernandes, Neemias
Estudo ecotoxicológico de corante têxtil e remediação por Fenton e Fenton-like [manuscrito] / Neemias Cintra Fernandes. - 2018.
xvii, 83 f.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Goiânia, 2018.

Bibliografia.

Inclui siglas, abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Disperse Red 343. 2. Corante têxtil. 3. Fenton. 4. Toxicidade aguda. 5. Fitotoxicidade. I. Neves Marreto, Dr. Ricardo, orient. II. Título.

CDU 615.1



Ministério da Educação
Universidade Federal de Goiás
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica
UFG/UFAM/UNIFAP/UFPA

ATA DA SEÇÃO PÚBLICA DE DEFESA DE TESE

Aluno (a): Neemias Cintra Fernandes

Orientador (a): Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto

Título da Dissertação: "Avaliação da decomposição do corante Disperse Red 343 por oxidação avançada e estudo ecotoxicológico".

Data: 18/06/2018

Horário: 14:00 horas

Local: Mini auditório da Faculdade de Farmácia/UFG

Sugestões*:

*Obs: sugestão de alteração de título da dissertação deve ser acompanhada de justificativa.

Estudo ecotoxicológico do corante tóxico e remediação por
Fenton e Fenton-like

Parecer da Banca Examinadora

Membro	Aprovado/ Reprovado	Assinatura
Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto (FF/UFG) <i>Presidente</i>	<i>Aprovado</i>	<i>[Assinatura]</i>
Profª. Drª. Orlene Silva da Costa (UEG)	<i>APROVADO</i>	<i>[Assinatura]</i>
Profª. Drª Gisele Augusto Rodrigues de Oliveira (FF/UFG)	<i>APROVADO</i>	<i>[Assinatura]</i>
Prof. Dr. Marcilio Sérgio Soares da Cunha Filho (UNB)	<i>Aprovado</i>	<i>[Assinatura]</i>
Profª. Drª. Núbia Natália de Brito (IQ/UFG)	<i>Aprovado</i>	<i>[Assinatura]</i>
Profª. Drª. Valéria de Oliveira (FF/UFG)		
Profª. Drª. Lígia Marquez Andrade (FF/UFG)		
Parecer Final	Aprovado/Reprovado	<i>Aprovado</i>



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO FARMACÊUTICA

Coordenador do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. José Realino de Paula

Vice-Coordenador do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Edemilson Cardoso da Conceição

Goiânia-GO

2018

**Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA

Aluno: Neemias Cintra Fernandes

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto

Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto/ Presidente

Professor Associado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,
FF/UFG.

Prof^a. Dr^a. Orlene Silva da Costa/ Membro Titular

Professora da Universidade Estadual de Goiás,
CCET/UEG.

Prof^a. Dr^a. Gisele Augusto Rodrigues de Oliveira/ Membro Titular

Professora Adjunto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,
FF/UFG.

Prof. Dr. Marcilio Sérgio Soares da Cunha Filho

Professor Associado da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília
FCS/UNB

Prof^a. Dr^a. Núbia Natália de Brito

Professora Adjunto do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás,
IQ/UFG.

Prof^a. Dr^a. Valéria de Oliveira

Professora Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,
FF/UFG.

Dr^a. Ligia Marquez Andrade

Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, FF/UFG.

Data: 18/06/2018

DEDICATÓRIA

À minha esposa, família, amigos e mestres.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pela plena saúde, capacidade e zelo imensurável dedicado em meu favor;

À minha linda esposa, Tatyane G. Dezzen Fernandes, pelo amor, carinho e paciência inesgotáveis;

À minha mãe pela dedicação e esforço em nos dar o melhor, sempre, em tudo e a toda a minha família, pela companhia, apoio e amor incondicional;

Ao meu orientador, professor Dr. Ricardo Neves Marreto, pela paciência, gentileza e disponibilidade;

À professora Dr^a Stephânia Fleury Taveira que, junto ao prof. Dr. Ricardo N. Marreto, tem se esforçado para estruturar e manter o Laboratório NanoSYS, fundamental para a execução desta pesquisa;

À professora Dr^a. Gisele Augusto Rodrigues, pelos conselhos, críticas, disponibilidade e apoio prestados;

Às colegas Lara, Laís e Gessyka, e a todos do Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia, pela ajuda sempre gentil e carregada de sincera boa vontade;

Às servidoras Fernanda e Elcione, da Faculdade de Farmácia, sempre prestativas e gentis;

Aos amigos e amigas Carol, Ellen, Luís, Leonardo e Christian pela força, motivação e apoio;

A todos os demais amados amigos e amigas pelo apoio, pela presença constante e lealdade;

Aos professores do PPGIF que, de todas as formas, contribuíram para minha formação pessoal e aprendizados dos mais diversos tipos;

Ao povo trabalhador e honesto desse Brasil que, heroicamente, tem custeado as despesas da UFG e permitido que eu e muitos outros disfrutemos da chance tão rara de estudar em uma instituição pública, gratuita e de qualidade;

Ao Instituto Federal de Goiás, pela concessão de licença para qualificação;

A todos que diretamente e indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo Geral.....	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. Indústria têxtil e contaminação ambiental.....	5
3.2. Corantes.....	6
3.2.1. Tratamento de águas residuárias contendo corantes.....	8
3.3. Tratamentos Oxidativos Avançados	9
3.3.1. Tipos de Processos Oxidativos Avançados.....	12
3.3.1.1. Processo Fenton	13
3.3.1.2. Reação da hidroxila com Compostos Orgânicos	17
3.3.1.3. Variáveis importantes na reação de Fenton	18
3.3.1.4. Relação entre variáveis	22
3.3.1.5. Processos Fenton e Fenton- <i>like</i> aplicados ao tratamento de compostos recalcitrantes.....	23
3.4. Testes de Toxicidade.....	25
3.5. Delineamento Experimental	27
3.5.1. Metodologia de Superfície de Resposta e Planejamento Box-Behnken	29
3.5.1.1. Análise de desejabilidade	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1. Equipamentos e Materiais.....	31
4.2. Métodos	33
4.2.1. Preparo e quantificação das dispersões-teste contendo corante DR343.....	33
4.2.2. Preparo, padronização e quantificação das soluções contendo H ₂ O ₂	33
4.2.3. Preparo das soluções de sais de ferro	34
4.2.4. Determinação de carbono orgânico total	34
4.3. Testes de Toxicidade.....	34
4.3.1. Teste de toxicidade aguda para avaliação da germinação de sementes e do crescimento de raízes de <i>Lactuca sativa</i>	34
4.3.2. Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo <i>Artemia salina</i>	36
4.3.3. Teste de toxicidade aguda com embriões e larvas de <i>zebrafish</i> (<i>Danio rerio</i>) (FET).....	38
4.4. Execução dos ensaios de Fenton e Fenton- <i>like</i>	40
4.5. Delineamento do Experimento	42
4.5.1. Análise de desejabilidade	44

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1. Avaliação Ecotoxicológica do Corante DR343 não tratado	45
5.1.1. Avaliação da fitotoxicidade do azo corante DR343 não tratado utilizando sementes de alface (L. sativa).	45
5.1.2. Avaliação da toxicidade aguda do azo corante DR343 não tratado para <i>A. salina</i>	46
5.1.3. Avaliação da toxicidade aguda do azo corante DR343 não tratado para D. rerio (zebrafish).....	47
5.2. Tratamento Fenton.....	49
5.2.1. Decomposição de DR343 por Fenton.....	49
5.2.2. Peróxido de hidrogênio residual - Fenton	52
5.2.3. Avaliação da toxicidade - Fenton.....	55
5.3. Tratamento Fenton-like	58
5.3.1. Degradação de DR343 por Fenton-like	58
5.3.2. Peróxido de hidrogênio residual - Fenton-like	61
5.3.3. Avaliação da toxicidade - Fenton-like	63
5.4. Otimização	65
5.4.1. Parâmetros de desejabilidade	65
5.4.2. Carbono orgânico total.....	69
6. CONCLUSÕES.....	71
7. REFERÊNCIAS	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Potencial padrão de redução (E^0) de espécies oxidantes.....	11
Tabela 2 - Oxidação avançada de corantes sintéticos por Fenton e Fenton- <i>like</i>	24
Tabela 3 - Relação entre LC_{50} ($mg.L^{-1}$) e classificação de toxicidade.....	38
Tabela 4 – Variáveis e níveis empregados no planejamento BBD para remoção do corante <i>Disperse Red 343</i> por meio de Oxidação Avançada tipo Fenton e Fenton- <i>like</i>	42
Tabela 5 - Variáveis independentes e condições experimentais do planejamento fatorial tipo BBD com quatro fatores em três níveis, empregado na oxidação do corante DR343 via Fenton e Fenton- <i>like</i>	43
Tabela 6 - Concentração média letal (CL_{50}) do corante DR343 não tratado para <i>A. salina</i> após 24 e 48 horas de exposição.....	47
Tabela 7 – Decomposição percentual do corante DR343 e quantidade de H_2O_2 residual segundo a matriz do planejamento Box-Behnken, aplicada ao tratamento das amostras com reagente de Fenton.	49
Tabela 8 - Análise de variância ajustada dos dados de decomposição do corante DR343 em testes Fenton	50
Tabela 9 - Análise de variância ajustada ao modelo polinomial quadrático referente a $[H_2O_2]$ residual (%) nos ensaios de decomposição do corante DR343 em testes Fenton.	53
Tabela 10 – Efeitos de fatores e níveis do delineamento Box-Behnken na mortalidade de <i>Artemia salina</i> nos testes Fenton.	55
Tabela 11 - Análise de variância ajustada ao modelo polinomial quadrático referente ao teste de mortalidade de <i>Artemia salina</i> (24 h) em amostras resultantes dos ensaios de decomposição do corante DR343 em testes Fenton.	56
Tabela 12 - Decomposição percentual do corante DR343 e quantidade de H_2O_2 residual segundo a matriz do planejamento Box-Behnken, aplicada ao tratamento de amostras com reagente Fenton- <i>like</i>	58
Tabela 13 - Análise de variância ajustada dos dados de decomposição do corante DR343 em testes Fenton- <i>like</i>	59
Tabela 14 - Análise de variância ajustado ao modelo polinomial quadrático referente ao H_2O_2 residual (%) presente após ensaios de degradação do corante DR343 em testes Fenton- <i>like</i>	61
Tabela 15 – Efeito dos fatores e níveis do delineamento Box-Behnken na mortalidade de <i>Artemia salina</i> nos testes Fenton- <i>like</i>	63

Tabela 16 - Análise de variância ajustada ao modelo polinomial quadrático referente ao teste de mortalidade de <i>Artemia salina</i> (24 h) em amostras resultantes dos ensaios de decomposição do corante DR343 em testes Fenton-like.....	64
Tabela 17 – Estimativa das condições ótimas para decomposição do azo corante DR343 por processos Fenton e Fenton-like.....	65
Tabela 18 - Comparação entre resultados previstos e os obtidos na decomposição do corante DR343 sob condições ótimas nos processos Fenton e Fenton-like. ...	66
Tabela 19 - Carbono orgânico total na dispersão de corante DR343 sem tratamento (100 mg.L ⁻¹) e nas amostras tratadas por Fenton e Fenton-like em condições otimizadas.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Relação de alguns dos poluentes gerados em cada um dos processos úmidos da indústria têxtil.....	6
Figura 2 - Processos oxidativos avançados típicos.....	13
Figura 3 - Desenho experimental do tipo Box-Behnken baseado em três variáveis de três níveis.....	30
Figura 4 - Estrutura molecular do corante <i>Disperse Red</i> 343 (DR343).....	32
Figura 5 - Síntese do esquema de preparo e execução dos testes de fitotoxicidade com sementes de <i>L. sativa</i>	35
Figura 6 - Síntese do esquema de preparo e execução dos testes de toxicidade aguda com <i>A. salina</i>	37
Figura 7 - Síntese do esquema de execução dos testes de toxicidade aguda em embriões de <i>zebrafish</i>	40
Figura 8 - Esquema de tratamento de dispersão aquosa contendo o corante DR343 por Fenton e Fenton-like.....	41
Figura 9 - Taxa de germinação relativa das sementes de alface (TGR) (a) e taxa de comprimento relativo (TCR) das raízes de alface (<i>L. sativa</i>) (b) expostas a diferentes concentrações (mg.L^{-1}) do corante DR343 não tratado. As barras de erro indicam o desvio padrão de três réplicas. CN – controle negativo.....	45
Figura 10 - Efeito do corante DR343 não tratado sobre a imobilização de <i>A. salina</i> após 24 e 48 h de exposição.....	46
Figura 11 - Taxa de sobrevivência de embriões e larvas de <i>zebrafish</i> expostos a dispersões de diferentes concentrações (mg.L^{-1}) do corante DR343. As barras de erro representam o desvio padrão de três replicatas. NC é o controle negativo.....	48
Figura 12 - Gráfico de contorno da decomposição percentual do corante DR343 em função das variáveis $[\text{Fe}^{2+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$	51
Figura 13 - Gráfico de contorno de resposta para a concentração percentual de H_2O_2 residual em função dos níveis das variáveis $[\text{Fe}^{2+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ em sistema Fenton.....	54
Figura 14 - Gráfico de contorno para a mortalidade percentual de <i>Artemia salina</i> (24 h) em função da interação entre as variáveis $[\text{Fe}^{2+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ em sistema Fenton.....	57
Figura 15 - Gráfico de contorno para a decomposição percentual do corante DR343 em função da interação entre as variáveis $[\text{H}_2\text{O}_2]$ e $[\text{Fe}^{3+}]$ em sistema Fenton-like.....	60
Figura 16 - Gráfico de contorno para a concentração percentual de H_2O_2 residual, em função da interação entre as variáveis $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ em sistema Fenton-like.....	62
Figura 17 - Gráfico de contorno para a mortalidade percentual de <i>Artemia salina</i> (24 h) em função da interação entre as variáveis $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ em sistema Fenton-like.....	64

- Figura 18 - Efeitos das dispersões de corante DR343 na mortalidade de *Artemia salina* após tratamento por processos Fenton e Fenton-like realizados sob condições otimizadas. As barras de erro representam o desvio padrão de três replicatas. 66
- Figura 19 - Taxa de germinação relativa das sementes de alface (TGR) (a) e taxa de comprimento relativo (TCR) das raízes de alface (*L. sativa*) (b) expostas a dispersão de corante DR343 após tratamento pelos processos Fenton (Fe^{2+}) e Fenton-like (Fe^{3+}) realizado sob condições ótimas. As barras de erro representam o desvio padrão de 3 replicatas. CN - controle negativo. 67
- Figura 20 - Efeitos letais das dispersões de corante DR 343 em embriões de *zebrafish* após tratamento pelos processos Fenton e Fenton-like realizados sob condições otimizadas. As barras de erro representam o desvio padrão de três replicatas. 68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	- Análise de variância
AO	- Agente oxidante
BBD	- Box-Behnken <i>design</i>
CAS	- <i>Chemical Abstracts Service</i>
CE ₅₀	- Concentração de efeito médio
CL ₅₀	- Concentração letal média
CN	- Controle negativo
COD	- <i>Chemical oxygen demand</i>
COT	- Carbono orgânico total
CONAMA	- Conselho Nacional de Meio Ambiente
CP	- Controle positivo
DBO	- Demanda biológica de oxigênio
DP	- Desvio padrão (<i>standard deviation</i>)
DQO	- Demanda química de oxigênio
DR343	- <i>Disperse Red 343</i>
DSS	- Dodecil sulfato de sódio (<i>sodium dodecil sulfate</i>)
F	- Razão modelo/erro;
FET	- <i>Fish embryo toxicity test</i>
gl	- Graus de liberdade
HepG2	- Células de hepatoblastoma humano
IC	- Intervalo de confiança
MQ	- Média quadrática
NOx	- Número de oxidação
OECD	- <i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>

OPPTS	- <i>Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances</i>
<i>p</i>	- Significância
P. A.	- Para análise
PBTA	- Fenilbenzotriazóis
pH	- Potencial hidrogeniônico
POA	- Processos oxidativos avançados
SMWW	- <i>Standard Methods for Examination of Water and Wastewater</i>
SQ	- Soma quadrática
TCR	- Taxa de crescimento relativa
TGR	- Taxa de germinação relativa
TOC	- <i>Total organic carbon</i>
UV	- Ultravioleta

RESUMO

Introdução: Os azo corantes, como o Disperse Red 343 (DR343) representam a mais importante classe de corantes têxteis, além de serem amplamente utilizados na indústria farmacêutica e alimentícia. Presentes em águas residuárias industriais e domésticas, estas moléculas são resistentes aos tratamentos convencionais de efluentes e podem, eventualmente, gerar produtos ainda mais tóxicos que os corantes originais. Os processos oxidativos avançados (POAs) têm sido empregados a fim de aumentar a biodegradabilidade ou mineralizar substâncias de difícil tratamento, reduzindo sua toxicidade e os riscos inerentes ao lançamento de poluentes no meio ambiente. **Objetivo:** Avaliar a ecotoxicidade e otimizar as condições de decomposição do azo corante têxtil DR343 utilizando reações do tipo Fenton e Fenton-like. **Metodologia:** Os processos oxidativos foram estudados utilizando planejamento fatorial do tipo Box Behnken Design (BBD), e a otimização das condições de reação foi realizada pela aplicação da função de desejabilidade. O pH do meio, o tempo de reação, as concentrações de ferro $[Fe^{2+}]$ (Fenton) e $[Fe^{3+}]$ (Fenton-like), assim como de agente oxidante $[H_2O_2]$ foram utilizadas como variáveis independentes no planejamento. As respostas estudadas foram a remoção do DR343, a concentração de peróxido de hidrogênio residual $[H_2O_{2residual}]$ e a mortalidade de *Artemia salina*. A toxicidade do corante não-tratado foi avaliada em diferentes organismos (sementes de alface, *Artemia salina* e embriões de *zebrafish*). As amostras tratadas sob condições ótimas foram submetidas aos mesmos protocolos. **Resultados:** A remoção do azo corante esteve na faixa de 5,8% a 100%, sendo afetada somente pela concentração de catalisador $[Fe^{2+}/Fe^{3+}]$ em ambos os processos. Por outro lado, o tempo de processo teve efeito significativo na mortalidade de *A. salina* em amostras submetidas ao processo Fenton, o que sugere formação de subprodutos de oxidação tóxicos no começo do processo, seguido pela mineralização das amostras. Condições ótimas para a reação de Fenton incluíram $[Fe^{2+}]$ de $0,33 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $[H_2O_2]$ de $4,50 \text{ mmol.L}^{-1}$. Nessas condições, observou-se decomposição de 100% do corante em 16,1 minutos. Por outro lado, as condições ótimas do processo Fenton-like incluíram $[Fe^{3+}]$ de $0,25 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $[H_2O_2]$ de $0,54 \text{ mmol.L}^{-1}$. Sob essas condições observou-se a decomposição total do corante em apenas 9,2 minutos. Não foi detectada $[H_2O_{2residual}]$ em ambos os processos otimizados. Nenhum efeito fitotóxico significativo foi observado nas dispersões do corante não-tratado, tampouco após o tratamento em ambos os processos. No caso dos ensaios com *A. salina*, observou-se diferenças entre os dois processos. As amostras tratadas por Fenton-like não apresentaram toxicidade significativa, enquanto que o processo Fenton induziu mortalidade significativa para esse organismo. Amostras tratadas sob condições ótimas, oriundas de ambos os métodos, não induziram efeitos letais ou subletais aos embriões e larvas de *zebrafish*. Foi observada redução de carbono orgânico total de 52,0% e 34,8% para Fenton e Fenton-like, respectivamente. **Conclusões:** O corante não-tratado não apresentou fitotoxicidade, assim como não gerou efeitos tóxicos significativos nos embriões de *zebrafish*. Ambos os processos estudados podem ser utilizados com sucesso para decompor o corante DR343 em água, entretanto, a reação de Fenton, apesar de obter melhores índices de mineralização, produziu subprodutos mais tóxicos quando comparado ao processo Fenton-like. **Palavras-chave:** Disperse Red 343. Corante têxtil. Fenton. Toxicidade aguda. Fitotoxicidade. *Artemia salina*. *Zebrafish*.

ABSTRACT

Introduction: Azo dyes represent the most important class of textile dyes, being widely used in the pharmaceutical and food industry. These molecules are present in domestic and industrial wastewater, and are resistant to conventional effluent treatment eventually producing more toxic products than the original dyes. Advanced oxidative processes (AOPs) have been implemented in order to decompose or mineralize substances that are difficult to treat, reducing their toxicity and the inherent risks of releasing pollutants into the environment. **Objective:** To study the ecotoxicity and optimize the operational conditions in the decomposition of textile azo dye DR343 using Fenton and Fenton-like reactions. **Method:** Oxidative processes were studied using the factorial design Box-Behnken Design (BBD), and the optimization of the reaction conditions was performed by applying the desirability function. The pH of the medium, the reaction time, the concentrations of iron [Fe^{2+}] (Fenton) and [Fe^{3+}] (Fenton-like) as well as the oxidizing agent [H_2O_2] were used as independent variables in the planning. The responses studied were the removal of DR343, the concentration of residual hydrogen peroxide [$\text{H}_2\text{O}_{2\text{residual}}$] and the mortality of *Artemia salina*. The toxicity of the untreated dye was evaluated in different organisms (lettuce seeds, *Artemia salina* and zebrafish embryos). Samples treated under optimal conditions were submitted to the same protocols. **Results:** The dye removal was in the range of 5.8% to 100%, being affected only by the concentration of catalyst [$\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$] in both processes. On the other hand, the process time had a significant effect on the mortality of *A. salina* in samples submitted to the Fenton process, which suggests formation of toxic oxidation byproducts at the beginning of the process, followed by the mineralization of the samples. Optimum conditions for the Fenton reaction included [Fe^{2+}] of 0.33 mmol.L^{-1} and [H_2O_2] of 4.50 mmol.L^{-1} . Under these conditions, 100% of the dye decomposition was observed in 16.1 minutes. On the other hand, the optimal conditions of the Fenton-like process included [Fe^{3+}] of 0.25 mmol.L^{-1} and [H_2O_2] of 0.54 mmol.L^{-1} . Under these conditions total dye decomposition was observed in only 9.2 minutes. No [$\text{H}_2\text{O}_{2\text{residual}}$] was detected in both optimized processes. No significant phytotoxic effects were observed on the untreated dye dispersions, nor after treatment in both procedures. In the case of the *A. salina* assays, differences between the two processes were observed. Samples treated by Fenton-like did not show significant toxicity, whereas the Fenton process induced significant mortality for this organism. Samples treated under optimal conditions, from both methods, did not induce lethal or sublethal effects on zebrafish embryos. Total organic carbon reduction of 52.0% and 34.8% was observed for Fenton and Fenton-like, respectively. **Conclusion:** Both the studied processes can be successfully used to decompose the DR343 dye in water, however, the Fenton reaction, despite obtaining better mineralization rates, produced more toxic by-products when compared to the Fenton-like process. The untreated dye did not show phytotoxicity, nor did it generate significant effects on zebrafish embryos.

Keywords: Disperse Red 343. Textile dye. Fenton. Acute toxicity. Phytotoxicity. *Artemia salina*. Zebrafish.

1. INTRODUÇÃO

A degradação ambiental reduz e contamina as reservas superficiais e subterrâneas de recursos hídricos e o fornecimento contínuo de água potável é um dos maiores desafios a serem enfrentados pela humanidade nas próximas décadas (WHO, 2016). Dessa forma, o conceito de água como recurso inesgotável e gratuito tem passado por uma revisão criteriosa, que visa conscientizar a população e garantir que o planeta Terra possua água suficiente para o abastecimento das cidades e para manutenção da agricultura, garantindo ainda a conservação dos recursos naturais do planeta para a presente e para as futuras gerações (ALLOUCHE, 2011; HANJRA; QURESHI, 2010; LAMBOOY, 2011).

Dentre uma infinidade de macro e micro poluentes despejados nos corpos hídricos em todo o planeta, destacam-se os poluentes fenólicos (LI et al., 2011a; ZENG et al., 2015), os pesticidas (IYER; IKEN, 2015; SCOTT; BEGLEY, 2010), os fármacos e seus metabólitos (CALISTO; ESTEVES, 2009; KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009; MOULAHCENE et al., 2015) e os corantes e pigmentos sintéticos (ONG et al., 2011).

Os corantes têm sido extensivamente utilizados nos mais diversos ramos industriais, tais como na indústria têxtil (ARORA, 2014; KANT, 2012), de tintas e esmaltes (AKYOL, 2012), de papéis (LI et al., 2011b), de alimentos e bebidas (KHALIKOVA et al., 2015; YAMJALA; NAINAR; RAMISSETTI, 2016), de couro (SRINIVASAN et al., 2009), de produtos farmacêuticos (CHEQUER et al., 2014) e de cosméticos dentre outros. Pesquisas têm demonstrado que algumas classes de corantes, em especial os azo corantes e seus subprodutos, podem ser genotóxicos, mutagênicos e/ou citotóxicos (CHEQUER et al., 2014; METCALF; EDDY, 2003), além de dificilmente serem biodegradados (KANT, 2012).

Levando em consideração que sistemas convencionais de tratamento de efluentes não são capazes de degradar a maior parte dos poluentes complexos, incluindo os corantes (MARTÍNEZ-HUITLE; BRILLAS, 2009; VIRKUTYTE; SILLANPÄÄ; LATOSTENMAA, 2002), é crescente o interesse na inovação e no aperfeiçoamento das tecnologias de remediação. Nesse contexto, tratamentos de remoção de cor de baixo custo e impacto ambiental reduzido têm sido constantemente desenvolvidos e aperfeiçoados (BOKARE; CHOI, 2014; HURWITZ et al., 2014; MENAPACE; DIAZ; WEISS, 2008). Dentre eles, os processos oxidativos avançados têm despontado como alternativa ou complemento às técnicas convencionalmente utilizadas para remoção de cor (THIAM et al., 2015), sendo notadamente capazes de aumentar a eficiência da remoção, acelerando a velocidade das reações de degradação e, na maior parte das vezes, reduzindo a utilização de reagentes químicos (BIANCO; DE MICHELIS; VEGLIÒ, 2011).

A indústria farmacêutica é grande geradora de resíduos líquidos de difícil tratamento. Parte destes rejeitos são provenientes de lavagens de ambientes e equipamentos de indústrias farmacêuticas, muitas vezes contendo azo corantes (ANJANEYA et al., 2011; COSTA et al., 2009; THIAM et al., 2015).

Processos oxidativos avançados têm sido utilizados com êxito na degradação de efluentes provenientes da indústria farmacêutica (KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009). Fármacos tais como diazepam, propranolol e lincomicina (BAUTITZ, 2010), amoxicilina (HOMEM; ALVES; SANTOS, 2010), mitoxantrona (CAVALCANTE et al., 2013) e 5-fluorouracil (KOLTSAKIDOU et al., 2017), dentre outros, já foram mineralizados por processos Fenton e suas modificações.

Para além da indústria farmacêutica, os corantes azo são amplamente utilizados na indústria têxtil, apesar de serem de difícil tratamento e de apresentarem efeitos

alergênicos, tóxicos, cancerígenos, teratogênicos e mutagênicos (KOBYLEWSKI; JACOBSON, 2010). A indústria têxtil é a maior fonte de contaminação de corpos hídricos por azo corantes no planeta. O Banco Mundial estima que 17 a 20% de toda a poluição industrial de água provém das indústrias têxteis. O corante DR343, objeto do estudo deste trabalho, é um corante do tipo azo de grande importância na indústria têxtil (KANT, 2012; YAGUB et al., 2014).

Não há, até o presente momento, nenhum estudo publicado reportando a toxicidade do azo corante DR343, tampouco avaliando sua decomposição e toxicidade dos subprodutos oriundos de sua oxidação. Neste contexto, o presente trabalho apresenta, pela primeira vez, um estudo da decomposição do azo corante DR343 por meio de processos de oxidação avançada tipo Fenton e Fenton-modificado (*Fenton-like*), incluindo a otimização de suas condições reacionais e determinação da ecotoxicidade do corante não tratado e dos subprodutos gerados por sua oxidação avançada.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar e otimizar a decomposição do azo corante DR343 por meio dos processos de oxidação avançada Fenton e Fenton-*like*.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da concentração de catalisador e de agente oxidante, pH e tempo de reação sobre a decomposição e toxicidade do azo corante *Disperse Red 343* por meio de reações de Fenton e Fenton-*like*;
- Otimizar estatisticamente as condições reacionais dos processos de Fenton e Fenton-*like* utilizando o planejamento do tipo Box-Benhken e a função de desejabilidade;
- Avaliar a toxicidade da dispersão aquosa do corante DR343, antes e após tratamento sob condições otimizadas, por meio dos testes de toxicidade aguda com sementes de alface, com náuplios de *Artemia salina* e com embriões de *zebrafish*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

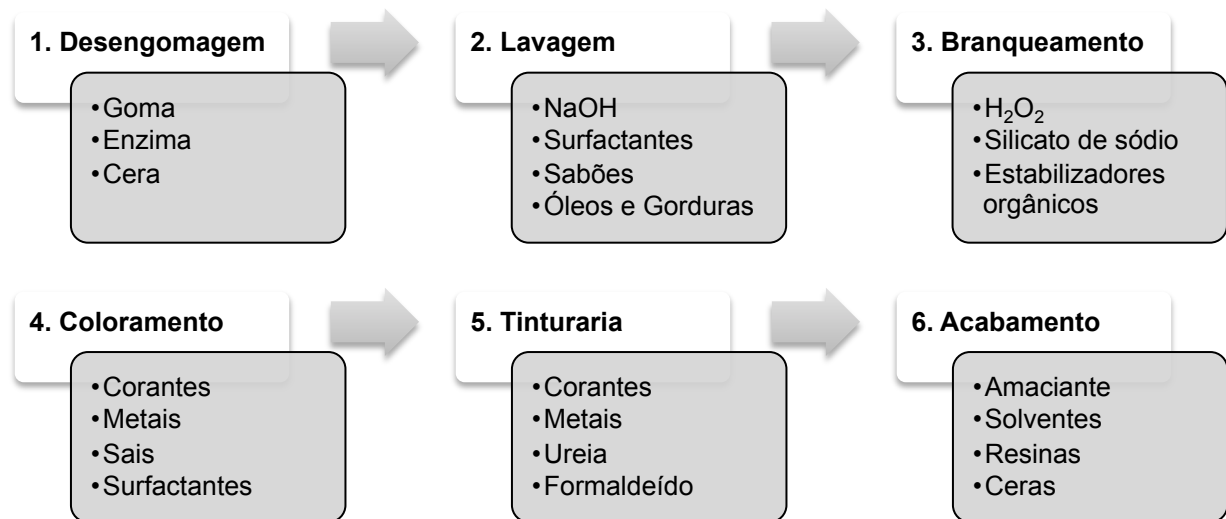
3.1. Indústria têxtil e contaminação ambiental

O setor têxtil possui grande importância na economia mundial e o Brasil ocupa relevante posição neste cenário, possuindo o quarto maior parque produtivo de confecção e o quinto maior parque fabril têxtil do mundo, composto por 29.000 empresas formais e empregando 1.700.00 pessoas de forma direta, com faturamento de 45 bilhões de dólares em 2017 (DEPEQ, 2017; MOSCA et al., 2015).

Alguns importantes setores da indústria têxtil são fortemente dependentes da água, principalmente os setores de preparação do tecido, de tinturaria e de acabamento, que são os que consomem maior quantidade de recursos hídricos e geram de 50 L a 100 L de efluente por quilo de tecido produzido (ARSLAN-ALATON; TURELI; OLMEZ-HANCI, 2009).

Dentre as diversas fases de produção de tecidos, a etapa de tingimento é a que agrega às águas residuárias o maior número de substâncias químicas. O final do processo de tingimento envolve a realização de banhos de lavagem e rinsagem, que possibilitam a retirada do corante não fixado às fibras e resultam na geração de efluentes de natureza complexa, contendo diversas substâncias tais como corantes, íons metálicos e surfactantes, dentre outras. A Figura 1 apresenta a relação de algumas das substâncias utilizadas em diferentes etapas do processamento úmido têxtil, e que são incorporadas ao efluente gerado por estas indústrias (HOLKAR et al., 2016; KANT, 2012).

Figura 1 - Relação de alguns dos poluentes gerados em cada um dos processos úmidos da indústria têxtil.



Fonte: Adaptado de Holkar et al. (2016).

Efluentes têxteis não-tratados, se lançados em corpos d'água superficiais, podem causar o rápido esgotamento do oxigênio dissolvido e dificultar a penetração da luz solar, provocando alteração nos ciclos biológicos, prejudicando os processos de fotossíntese e resultando na deterioração da qualidade da água, diminuição da solubilidade de gases e, finalmente, ocasionando efeitos tóxicos agudos à flora e fauna (DE LUNA et al., 2014; LALNUNHLIMI; VEENAGAYATHRI, 2016). A edição de 2012 do Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos manifestou preocupação com a presença de moléculas de corantes oriundas de efluentes de indústrias de tingimento (UNESCO, 2012).

3.2. Corantes

Corantes são moléculas orgânicas que possuem dois grupamentos: cromóforos e auxiocromos. O grupamento cromóforo é composto por grupo funcional insaturado, com ligações covalentes responsáveis pela absorção eletrônica, tais como nitroso, azo, nitro e carbonila. O grupamento auxiocromo intensifica a ação dos cromóforos,

deslocando a banda para o visível e também melhora a afinidade do corante com a fibra; a união entre o corante e as fibras é dada pelo estabelecimento de ligações fracas ou covalentes entre grupos funcionais (IQBAL, 2008). Os primeiros registros do uso de corantes datam de 3500 a.C., sendo esses materiais extraídos de frutas, flores, insetos e vegetais e, desde então, a humanidade tem utilizado massivamente uma crescente variedade de corantes, a fim de conferir cor a uma infinidade de produtos que vão desde tecidos e plásticos a medicamentos, alimentos e cosméticos. A cor de determinado produto está, por muitas vezes, diretamente associada ao seu sucesso ou fracasso comercial (KANT, 2012).

A cor inerente aos corantes está associada a sua estrutura química, mais especificamente à presença de um grupo chamado cromóforo (GUPTA; SUHAS, 2009). Uma das formas mais frequentes de classificação de corantes baseia-se em suas características químicas (VELOSO, 2012). As principais classes de corantes utilizados em escala industrial são os corantes do tipo azo, antraquinonas, sulfúricos, indigoides, trifenilmetil e derivados de ftalocianinas (FORGACS; CSERHÁTI; OROS, 2004).

Além do uso abundante de corantes na indústria têxtil, também é amplo o emprego de azo corantes na indústria farmacêutica, principalmente na forma de excipientes, no intuito de melhorar o aspecto das formulações e evitar confusão durante a fase produtiva ou na administração do medicamento. Além da utilização de corantes para moldar características sensoriais de medicamentos, a literatura reporta a finalidade terapêutica de algumas moléculas de corantes, como por exemplo o azul de metileno e a acriflavina (WAINWRIGHT, 2008).

Enquanto alguns países obrigam a indicação, no rótulo, da presença de determinados corantes em medicamentos, outros já baniram de seus mercados determinadas formulações contendo certos tipos de corantes, principalmente por conta

do aparecimento de reações adversas graves, como alergias severas (*Brilliant Blue*), urticárias (*Sunset Yellow*), crises asmáticas agudas (Tartrazina) e comprovado potencial carcinogênico, como é o caso do azocorante Amaranth, cujo uso farmacêutico está atualmente banido (BERLIN et al., 1997; PIFFERI; RESTANI, 2003).

3.2.1. Tratamento de águas residuárias contendo corantes

O desenvolvimento e aprimoramento de tratamento de efluentes contendo azo corantes é de fundamental importância, uma vez que os corantes do tipo azo perfazem cerca de 70% da produção mundial de corantes, estimada em 7×10^7 toneladas por ano e deste total somente 80% são efetivamente utilizados nos processos produtivos; os 20% restantes são perdidos para o ambiente, sendo lançados em corpos hídricos na forma de rejeitos industriais (KANT, 2012; THIAM et al., 2015).

A origem sintética e a complexidade estrutural dos corantes lançados no ambiente fazem deles moléculas estáveis e de difícil biodegradação, visualmente observáveis mesmo em baixíssimas concentrações (na ordem de 1 mg.L^{-1}) e com potenciais atividades carcinogênicas, mutagênicas e tóxicas (GUPTA; SUHAS, 2009; MANSOUR et al., 2011; SRINIVASAN; VIRARAGHAVAN, 2010).

Dado o grande volume de utilização de corantes nas mais variadas atividades industriais contemporâneas, a presença dessas moléculas é rotineira em diversos tipos de efluentes industriais. Os corantes estão presentes em rios e sedimentos por todo o planeta, e apresentam efeitos tóxicos diversos em todas as formas de vida (LEITE et al., 2016; VACCHI et al., 2016).

A fim de promover a preservação ambiental, a melhora da qualidade dos recursos hídricos e possibilitar o enquadramento dos efluentes lançados pela indústria aos rigorosos padrões legais, que preconizam estritos limites para cor e matéria orgânica total (CONAMA, 2011) métodos de tratamento tais como a cloração, por

exemplo, têm sido extensivamente aplicados na descoloração e desinfecção de efluentes têxteis, entretanto, esta prática pode gerar compostos conhecidos como fenilbenzotriazóis (PBTAs) (KUMMROW; UMBUZEIRO, 2008) e outros produtos mutagênicos (OLIVEIRA et al., 2010), e deve ser evitada no tratamento de águas residuárias contendo azo corantes dispersivos (OLIVEIRA et al., 2010; VACCHI et al., 2013). De acordo com Almeida; Dilarri e Corso (2016), não há um método específico para tratamento de efluentes têxteis, farmacêuticos ou efluentes contendo coloração elevada. O que se faz é otimizar a eficiência de métodos já existentes, tornando-os menos onerosos e mais sustentáveis.

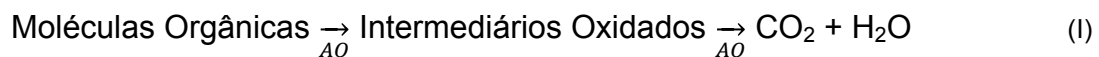
Considerando que 3,3% das indústrias têxteis e de confecção estão instaladas no Centro Oeste do Brasil (DEPEQ, 2017) e que Goiás possui o segundo maior polo farmacêutico do Brasil, instalado no Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA) (RIBEIRO; LUZ, 2017), com estimativas de crescimento de 5% ao ano até 2020 (EVALUATEPHARMA, 2015), é relevante desenvolver técnicas capazes de tratar efluentes contendo corantes e outras moléculas de difícil tratamento (COSTA et al., 2009). Neste contexto, diversas pesquisas têm buscado otimizar a remoção de corantes, bem como torná-la menos onerosa e menos prejudicial ao ambiente (ARORA, 2014; ARORA; SAINI; SINGH, 2011; CAI et al., 2015; HAO; KIM; CHIANG, 2000; YAMJALA; NAINAR; RAMISETTI, 2016). Tecnologias envolvendo oxidação, e mais especialmente oxidação avançada, têm se mostrado como alternativas eficientes no tratamento de águas contaminadas por azo corantes.

3.3. Tratamentos Oxidativos Avançados

Oxidação é o processo definido pela transferência de elétrons entre reagentes por meio da reação entre um agente oxidante (AO) que perde elétrons, aumentando

seu número de oxidação, e uma substância capaz de receber elétrons e, devido a isso, sofrer redução em seu número de oxidação (NOx) (JARDIM; CANELA, 2004).

Os processos oxidativos biológicos, químicos e físicos-químicos aplicados para destruição de poluentes orgânicos, apesar de possuírem relevantes diferenças em seu modo de operação, possuem o mesmo princípio básico de dissipação oxidativa de energia proveniente da matéria orgânica (HUANG; DONG; TANG, 1993). A reação de oxidação de moléculas orgânicas pode ser descrita, de maneira geral, pela reação I (JARDIM; CANELA, 2004; SYSTEMS; CITY; DRIVE, 1994).



A oxidação de moléculas orgânicas pode se desenvolver de forma incompleta ou completa, neste último caso, resultando na conversão total de tais moléculas nos compostos CO₂, H₂O e íons inorgânicos (caso haja heteroátomos na molécula orgânica), denominando-se mineralização (CATALKAYA; KARGI, 2007; OLVERA-VARGAS et al., 2014; SIRÉS et al., 2007).

Quando a oxidação da matéria orgânica não ocorre de forma completa, nem sempre os intermediários orgânicos produzidos (subprodutos) possuem toxicidade mais branda que as moléculas orgânicas que os originaram, o que resulta em preocupação ambiental caso haja lançamento de tais subprodutos (BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014; DE LUNA et al., 2014; FERNADES RÉGO et al., 2014; MUNTER, 2001).

Métodos de tratamento envolvendo oxidação, especialmente os denominados POAs têm despontado como promissores, haja visto que são capazes de remover moléculas de corante de difícil degradação, por meio da utilização de reagentes com baixa toxicidade e custo relativamente baixo. Dentre os vários agentes oxidantes aplicados atualmente na oxidação de poluentes orgânicos, destacam-se o peróxido de

hidrogênio (H₂O₂), ozônio (O₃), cloro (Cl₂), dióxido de cloro (ClO₂) e permanganato de potássio (KMnO₄) (JARDIM; CANELA, 2004).

O conceito de POAs foi inicialmente estabelecido de modo a definir os processos oxidativos que ocorrem à temperatura e pressão próximas da ambiente e que envolvem a geração de radicais livres, especificamente o radical hidroxila ([•]OH), em quantidade suficiente para propiciar a purificação da água (GLAZE; KANG; CHAPIN, 1987). À época da definição inicial, foram incluídos nesta categoria sistemas envolvendo O₃/UV, O₃/H₂O₂ e outros processos capazes de gerar radicais hidroxila, envolvendo a adição de metais e óxidos metálicos no meio (NOGUEIRA et al., 2007).

Em uma definição mais atual, os POAs são denominados processos químicos, fotoquímicos ou eletroquímicos de baixo impacto ambiental baseados na produção *in situ* de radicais-livres, do tipo hidroxila ([•]OH), como principal oxidante (MUNTER, 2001).

Radical livre é o átomo ou molécula que apresenta um desemparelhamento de elétrons em sua última camada eletrônica (FERREIRA et al., 1997) o que confere alta reatividade a estas espécies químicas (HALLIWELL, 2012). A Tabela 1 apresenta a reatividade de algumas das principais espécies oxidantes.

Tabela 1 - Potencial padrão de redução (E⁰) de espécies oxidantes.

Espécie	E ⁰ (V)
Flúor (F ₂)	3,03
Radical hidroxila ([•] OH)	2,80
Oxigênio atômico (O)	2,42
Ozônio (O ₃)	2,07
Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂)	1,77
Permanganato de Potássio (KMnO ₄)	1,67
Dióxido de cloro (ClO ₂)	1,50
Ácido Hipocloroso (HClO)	1,49
Cloro (Cl ₂)	1,36
Oxigênio (O ₂)	1,23
Bromo (Br ₂)	1,09

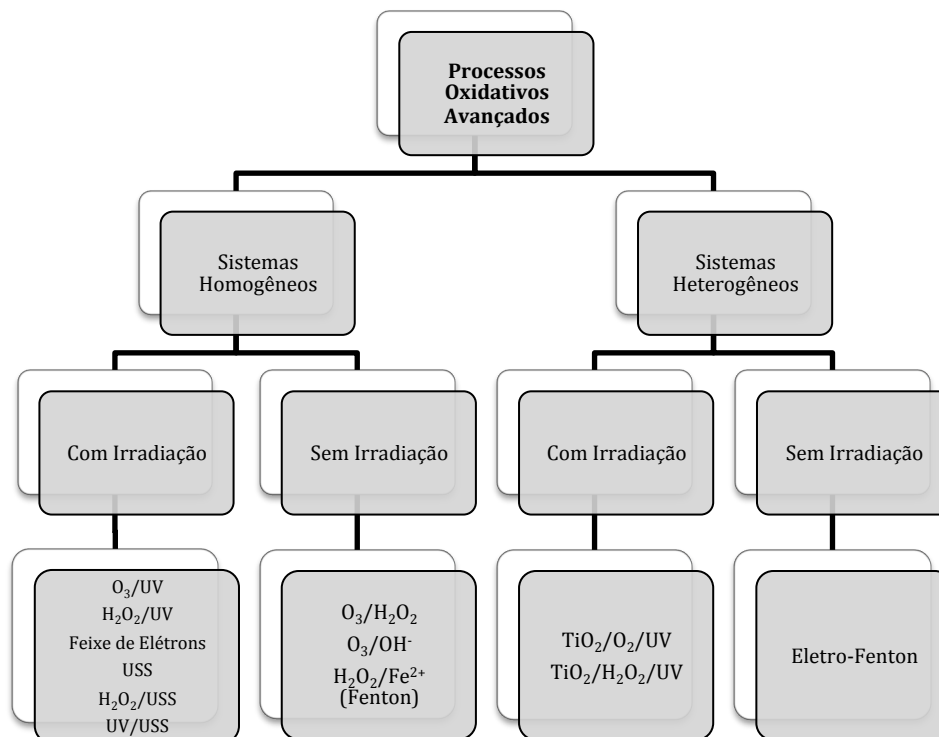
Fonte: Adaptado de Babuponnusami; Muthukumar (2014).

O radical $\cdot\text{OH}$ é o segundo oxidante com maior potencial redox dentre os conhecidos, sendo mais fraco apenas que o flúor. Por possuir um alto potencial padrão de redução, o radical hidroxila é capaz de reagir não-seletivamente com a maioria dos compostos orgânicos por hidroxilação, como no caso de olefinas ou compostos aromáticos, ou desidrogenação, como em alcanos ou álcoois, até a total mineralização do composto (MUNTER, 2001; SIRÉS; BRILLAS, 2012).

3.3.1. Tipos de Processos Oxidativos Avançados

Os processos oxidativos avançados podem ser classificados de acordo com o tipo de catalisador utilizado, sendo que os sistemas heterogêneos utilizam catalisadores em estado sólido, enquanto que em sistemas homogêneos o catalisador integra a mesma fase fluida em que se encontra a matéria orgânica a ser tratada (SIRÉS et al., 2014). Um exemplo de processo oxidativo é a catálise heterogênea, que envolve o uso de semicondutores sólidos, como o TiO_2 , associados à radiação visível ou ultrassom (US) (GIRALDO et al., 2010; NOBILE; TAKASHIMA, 2007; RAMÍREZ et al., 2015). Outros exemplos são a fotólise e a fotólise associada a H_2O_2 (PERALTA-HERNÁNDEZ et al., 2008; PIPI et al., 2014; SHEN; WANG, 2002), ozonização (SHU; CHANG, 2005; SRINIVASAN et al., 2009), oxidações do tipo Fenton, Fenton-*like* e foto-Fenton (ANTONIN et al., 2015; FLORENZA et al., 2014; GARCIA-SEGURA; BRILLAS, 2014), todos eles frequentemente estudados. A Figura 2 apresenta as principais técnicas de oxidação avançada, classificadas quanto ao tipo de sistema catalítico empregado.

Figura 2 - Processos oxidativos avançados típicos.



Fonte: Adaptado de Huang; Dong; Tang (1993).

Como não demandam a utilização de reagentes químicos inerentemente poluentes, os POAs são considerados 'processos limpos', e têm sido aplicados individualmente ou em sistemas baseados em combinações sinérgicas (EREN, 2012; OLLER; MALATO; SÁNCHEZ-PÉREZ, 2011). Dentre as várias tecnologias atualmente disponíveis para o pré-tratamento de efluentes, uma das mais promissoras é a oxidação com reagente de Fenton (BIGDA, 1996; OTURAN, 2000).

3.3.1.1. Processo Fenton

Descrito em 1894 por H.J.H. Fenton, durante pesquisas envolvendo a oxidação de ácido tartárico na presença de ferro (FENTON, 1894), a reação de Fenton consiste em um processo catalítico entre o peróxido de hidrogênio e íons de ferro, resultando na produção de radicais hidroxila extremamente reativos. A reação de Fenton baseia-se na transferência de elétrons entre a molécula de H₂O₂ e o íon de ferro, que age como catalisador homogêneo e é o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre

(ARNOLD; HICKEY; HARRIS, 1995; BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003; NOGUEIRA et al., 2007)

Uma ampla variedade de aplicações do reagente de Fenton é reportada na literatura científica, e os estudos abrangem o tratamento de poluentes, como por exemplo os oriundos da indústria têxtil (KARTHIKEYAN et al., 2011; SALGADO et al., 2009), efluentes de indústria de cosméticos e de corantes (PERALTA-HERNÁNDEZ et al., 2008), de chorume, pesticidas (CATALKAYA; KARGI, 2007), resíduo farmacêutico (SIMÕES, 2013), indústria de polpa de papel e celulose (HERMOSILLA et al., 2014), efluentes contendo fenóis (KUŠIĆ et al., 2006), resíduos de refinaria de petróleo (BIANCO; DE MICHELIS; VEGLIÒ, 2011) e lodos (ALIZADEH FARD et al., 2013; MOHAPATRA et al., 2010) dentre outros, proporcionando oxidação de poluentes em águas residuárias tóxicas que impossibilitam tratamento biológico (HERMOSILLA et al., 2014; PIPI et al., 2014).

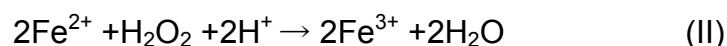
Também são relatadas uma variedade de aplicações na remediação de solos contaminados (NOGUEIRA et al., 2007; YEUNG; GU, 2011), tratamento do lixiviado proveniente de aterros sanitários (KUMAR et al., 2016; WU et al., 2014), tratamento de efluentes contendo poluentes orgânicos refratários (DE ARAÚJO et al., 2016) e a utilização do reagente de Fenton na etapa preliminar da remediação de efluentes a serem tratados por sistemas biológicos, com o propósito de aumentar a biodegradabilidade de compostos recalcitrantes e diminuir a toxicidade dos efluentes a tais sistemas (BIANCO; DE MICHELIS; VEGLIÒ, 2011; OLLER; MALATO; SÁNCHEZ-PÉREZ, 2011).

As vantagens da utilização do reagente de Fenton em relação a outros métodos oxidativos são numerosas e incluem: 1) simplicidade; 2) alta eficiência; 3) capacidade de mineralizar poluentes ou torná-los mais biodegradáveis; 4) a possibilidade de

minimizar a formação de subprodutos tóxicos, tais como os organoclorados; 5) estabilidade para tratar uma ampla variedade de contaminantes; 6) aplicabilidade da reação sem necessidade de utilização de equipamentos especiais ou reagentes caros ou de difícil obtenção/armazenamento; 7) ausência de dificuldades de transferência de massa devido à sua natureza catalítica homogênea (ARNOLD; HICKEY; HARRIS, 1995; BENATTI; TAVARES, 2012; HUANG; DONG; TANG, 1993; MALIK; SAHA, 2003; MUNTER, 2001; SOPAJ et al., 2015).

A compreensão da cinética e dos principais mecanismos envolvidos na reação de Fenton é peremptória, uma vez que permite ao pesquisador compreender a extensão de sua aplicação e formas de atuação frente aos contaminantes potencialmente suscetíveis de degradação/ tratamento.

Vários são os estudos relacionados ao entendimento do mecanismo e cinética da reação de Fenton. Apesar de não existir ainda um consenso estabelecido, é geralmente aceito que o passo limitante para a promoção desta reação é a formação dos radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) a partir da decomposição catalítica do peróxido de hidrogênio por Fe^{2+} em meio reacional fortemente ácido, que acontece segundo a reação II (A. SYCHEV, 1995; DA FONSECA ARAUJO; YOKOYAMA; TEIXEIRA, 2006; GARCIA-SEGURA; BRILLAS, 2014; NEYENS; BAEYENS, 2003).

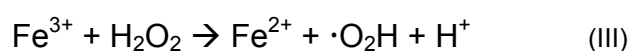


Segundo a literatura, são os radicais hidroxila formados e de elevado potencial de oxidação (+2,80V), os responsáveis pela decomposição dos compostos orgânicos. Uma vez que o Fe^{2+} é o catalisador desta reação, é necessário que tal substância esteja presente em quantidade suficiente no meio reacional, ou que seja regenerado em velocidade suficientemente alta (MALIK; SAHA, 2003; PIGNATELLO, 1992). A

geração dos radicais hidroxila envolve uma reação complexa que se processa em meio aquoso (A. SYCHEV, 1995; NEYENS; BAEYENS, 2003; WALLING, 1975).

Os íons férricos (Fe^{3+}) gerados podem ser reduzidos ao reagirem com o excesso de peróxido de hidrogênio presente no meio reacional, conforme representado pela reação III. Tal reação, denominada 'Fenton-like', é mais lenta que a reação de Fenton, e permite a regeneração do Fe^{2+} em um mecanismo cíclico efetivo (BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014; KUŠIĆ; LONČARIĆ BOŽIĆ; KOPRIVANAC, 2007) .

Em meios reacionais onde há excesso de peróxido de hidrogênio, a reação de Fenton somente se processa nos períodos iniciais da reação. Após um breve intervalo de tempo, a taxa de oxidação é controlada pelas reação do tipo Fenton-like (FAN et al., 2013; LUNAR et al., 2000; WALLING, 1975).



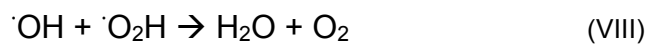
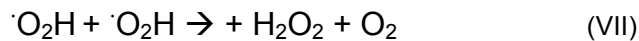
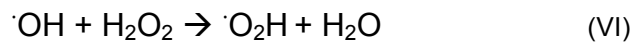
Nas reações do tipo Fenton-like, além da regeneração dos íons Fe^{2+} , há também a produção de radicais hidroperoxil ($\cdot\text{HO}_2$). Os radicais hidroperoxil também são capazes de atacar moléculas orgânicas, entretanto, possuem menor potencial redox em relação aos radicais hidroxila (BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014; NEYENS; BAEYENS, 2003; PIGNATELLO, 1992)

A reação IV representa o término da cadeia radicalar no processo Fenton (BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014; NEYENS; BAEYENS, 2003):



É importante observar que, durante o progresso da reação de Fenton e produção dos radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$), tais radicais podem ser sequestrados pelo H_2O_2 e também pelo íons de ferro presentes no meio, ocasionando reações do tipo radical-

radical ou peróxido de hidrogênio-radical, conforme demonstrado nas reações V a VIII (A. SYCHEV, 1995; BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014; WALLING, 1975).



Na ausência de matéria orgânica ou excesso de H_2O_2 , ocorre a decomposição do peróxido de hidrogênio em oxigênio molecular e água, conforme a reação IX. Este processo é indesejável, já que não possui rendimento em termos de oxidação de contaminantes e aumenta desnecessariamente os custos do processo (WALLING, 1975).



3.3.1.2. Reação da hidroxila com Compostos Orgânicos

Nas reações Fenton em presença de corantes, o radical hidroxila ataca preferencialmente o grupo cromóforo da molécula. O tratamento de efluentes contendo azo corantes deve promover a lise da ligação do grupo cromóforo (-N=N-), aumentando a biodegradabilidade do produto formado (TROVÓ et al., 2016).

A reação do $\cdot\text{OH}$ com moléculas orgânicas pode ser classificada com base em três diferentes mecanismos: adição da hidroxila ao contaminante, abstração de hidrogênio e consequente formação de água e transferência de elétrons (HUANG; DONG; TANG, 1993; WALLING, 1975).

As moléculas orgânicas passíveis de ataques do tipo abstração de hidrogênio são, geralmente, hidrocarbonetos alifáticos, enquanto hidrocarbonetos insaturados ou aromáticos são mais suscetíveis a ataques do tipo adição eletrofílica. As reações de

transferência eletrônica são mais observadas em moléculas em que os mecanismos de abstração de hidrogênio e adição eletrofílica são desfavoráveis, tais como no caso de hidrocarbonetos clorados (NOGUEIRA et al., 2007).

Na reação de Fenton, variáveis importantes tais como o pH do meio reacional, concentração de H_2O_2 e de íons de ferro podem interferir significativamente no rendimento, custos e velocidade dos processos. Tais variáveis devem ser conhecidas e controladas adequadamente, visando garantir a máxima eficiência dos processos, mínimo consumo de reagentes e máxima mineralização (GUO et al., 2018; KUMAR et al., 2016).

Experimentos envolvendo o monitoramento do consumo de agente oxidante e da cinética reacional exigem a interrupção da degradação do H_2O_2 em momento oportuno, a fim de cessar a produção de radicais hidroxila e, conseqüentemente, paralisar a decomposição da matéria orgânica. Diferentes técnicas são utilizadas para proporcionar este efeito. Elevação de pH à faixa de neutralidade (BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003), aplicação de metanol (ARNOLD; HICKEY; HARRIS, 1995; PRATO-GARCIA; BUITRÓN, 2011) uso de bissulfito de sódio (GHISELLI et al., 2004) e da enzima catalase (ARSLAN-ALATON, 2007; NOGUEIRA; OLIVEIRA; PATERLINI, 2005; TROVÓ, 2009) são algumas das alternativas possíveis.

3.3.1.3. Variáveis importantes na reação de Fenton

3.3.1.3.1. pH

O pH, medida da concentração do íon hidrogeniônico ou de sua atividade, é parâmetro importante nas várias fases de tratamento químico de águas residuárias e tem grande influência na eficiência de remoção de matéria orgânica via processos de oxidação avançada, tais como o Fenton (RICHTER; NETTO, 1991). O pH desempenha papel fundamental na reação de Fenton, haja visto que ele determina o comportamento

dos íons ferrosos e férricos presentes na reação. Estudos envolvendo degradação de corantes têm aplicado faixas de pH entre 2,5 e 4,0 (BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003; KANG; HWANG, 2000; KWON et al., 1999; NOGUEIRA; GUIMARÃES, 2000).

A reação geral de Fenton (reação II) sugere que a presença de íons H^+ favorece a decomposição do H_2O_2 , indicando a necessidade de meio ácido a fim de se deslocar o equilíbrio químico e propiciar maior geração de radicais hidroxila. Valores de pH próximos a 3,0 ocasionam a máxima oxidação de matéria orgânica via reação de Fenton (LIN; LO, 1997). A reação de Fenton é menos sensível ao pH que a reação Fenton-like (Fe^{3+}) (PIGNATELLO, 1992).

Em pH acima de 4, os íons Fe^{2+} tornam-se instáveis, precipitando na forma de hidróxidos de ferro e também na forma de complexos formados com a matéria orgânica, diminuindo a concentração de ferro em solução (LUNAR et al., 2000), enquanto valores de pH inferiores a 2,5 podem ocasionar no sequestro de radicais hidroxila. Valores elevados de pH podem resultar na autodecomposição do H_2O_2 (PIGNATELLO, 1992; RAO et al., 2016).

3.3.1.3.2. Concentração de H_2O_2

A concentração de peróxido de hidrogênio exerce fundamental importância na eficiência dos processos Fenton. Grandes concentrações de H_2O_2 e/ou elevados tempos de reação propiciam taxas mais elevadas de mineralização de compostos orgânicos, enquanto doses menores de H_2O_2 favorecem a oxidação parcial e consequente aumento na biodegradabilidade de poluentes (CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001).

Estudos têm estabelecido a dosagem ótima de H_2O_2 em torno de 20 mmol.L^{-1} para remoção de cor em soluções de corantes e apontaram que concentrações excessivas de H_2O_2 causam reduções significativas na velocidade de reação,

diminuindo a eficiência de decomposição dos corantes, possivelmente pela produção do radical hidroperoxil (HO_2^{\cdot}), que possui capacidade reativa inferior à do radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) (ARSLAN-ALATON; TURELI; OLMEZ-HANCI, 2009; DA FONSECA ARAUJO; YOKOYAMA; TEIXEIRA, 2006; PIPI et al., 2014; POON et al., 1999).

Elevadas concentrações de H_2O_2 em meio reacional também estão associadas à precipitação íons de ferro presentes (KARTHIKEYAN et al., 2011), além do aumento de custos do processo e prejuízos a etapas posteriores de tratamento biológico. Por outro lado, baixas concentrações de H_2O_2 não fornecem quantidade suficiente de radicais hidroxila para oxidar satisfatoriamente a matéria orgânica presente (LIN; LO, 1997; TROVÓ et al., 2016).

O peróxido de hidrogênio apresenta maior estabilidade em meio reacional com pH ácidos, na faixa de pH compreendida entre 3 e 4. Valores de pH iguais ou superiores a 5 favorecem a autodegradação do peróxido de hidrogênio, ocasionando redução na eficiência de decomposição da matéria orgânica presente (GOGATE; PANDIT, 2004; HOMEM; ALVES; SANTOS, 2010; NEYENS; BAEYENS, 2003).

A presença de matéria orgânica no meio, conforme descrito por NEYENS e BAEYENS (2003), também é capaz de influenciar a eficiência de aproveitamento do consumo de H_2O_2 , uma vez que a reação entre radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) e a matéria orgânica inibe a reação entre $\cdot\text{OH}$ e H_2O_2 e também dificulta a reação entre $\cdot\text{OH}$ e os íons ferrosos presentes no meio.

3.3.1.3.3. Concentração de íons de Ferro

A concentração de íons de ferro é fator determinante para a cinética da reação de Fenton (CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001), uma vez que estes íons são catalisadores, sendo assim necessária sua presença em quantidade suficiente no meio reacional. Em excesso, a concentração de íons de ferro ser prejudicial, consumindo os

radicais hidroxila ativos (PERALTA-HERNÁNDEZ et al., 2008). Durante a degradação do corante azo *Acid Red 18* via Fenton, pesquisadores observaram que quanto menor a concentração de ferro no meio, maiores os intervalos de tempo necessários para obtenção de descoloração (BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003).

Valores de concentrações de íons Fe^{2+} na faixa entre 3 a 15 $mg.L^{-1}$ são os mínimos indicados para promover a reação de Fenton em intervalos de tempo razoáveis (KUŠIĆ et al., 2006). A dosagem de ferro em efluentes em tratamento também deve ser controlada a fim de que se atenda a resolução CONAMA nº 430/2011, que preconiza concentrações de ferro solúvel em 15 $mg.L^{-1}$ para descarte no meio ambiente (CONAMA, 2011).

O pH também exerce influência na concentração de Fe^{2+} livre, devido à formação de complexos ferrosos que impedem a formação de radicais hidroxila em pHs acima de 4 e na inibição da formação radicais hidroxila em pHs entre 1 e 2, devido à reação com H^+ (PIGNATELLO, 1992; RAO et al., 2016).

3.3.1.3.4. Tempo e Temperatura

O tempo é uma variável relevante a ser avaliada durante os processos Fenton. Estudos indicaram que quando estes processos desenvolvem-se em baixas concentrações de reagentes, o intervalo de tempo requerido para a decomposição do poluente tornou-se significativamente maior, ocorrendo o inverso quando as concentrações de reagentes são elevadas (HOMEM; ALVES; SANTOS, 2010). Outros estudos indicam que mais de 90% da degradação da matéria orgânica ocorre nos 10 primeiros minutos da reação (NTAMPEGLIOTIS et al., 2006).

Diferentes autores têm estudado a influência da temperatura na eficiência das reações de Fenton e Fenton-*like*, entretanto não há consenso formado em relação ao estabelecimento de um valor ótimo de temperatura para essas reações (NIDHEESH;

GANDHIMATHI; RAMESH, 2013). Temperaturas mais elevadas (superiores a 60°C) causam decomposição do peróxido de hidrogênio, inviabilizando a reação; Meriç et al. (2005) e Lin e Lo (1997) consideraram a temperatura de 30°C como ótima para remoção de cor em solução de corantes. Malik e Saha (2003) reportaram aumento nos índices de degradação de matéria orgânica quando a temperatura é aumentada entre 20°C e 40°C.

Em estudo envolvendo a decomposição do corante *Acid Black 1*, Wang (2008) utilizou os processos Fenton (Fe^{2+}) e Fenton-like (Fe^{3+}) a fim de comparar a cinética e eficiência dos processos envolvendo diferentes catalisadores. Os estudos indicaram que a temperatura exerceu influência pouco significativa na degradação do corante em uma faixa entre 15°C e 45°C.

Adicionalmente à influência individual de cada um dos fatores, faz-se necessário conhecer e controlar a influência que as diversas variáveis exercem, no sistema, umas sobre as outras. Diversos estudos têm tratado deste tema.

3.3.1.4. Relação entre variáveis

A quantidade e a relação estequiométrica dos diferentes reagentes utilizados no processo Fenton, aplicado à degradação de moléculas de corantes, varia de acordo com o tipo de corante em tratamento (TANG; CHEN, 1996; TROVÓ et al., 2016). As variáveis determinantes na reação de Fenton são as concentrações de reagentes [Fe^{2+}], [Fe^{3+}] e [H_2O_2] e também condições reacionais tais como tempo, pH, temperatura e quantidade de constituintes orgânicos e inorgânicos presentes no meio. Apesar de existirem numerosos estudos envolvendo a avaliação da relação entre as concentrações de ferro e peróxido de hidrogênio na reação de Fenton, não existe consenso a respeito do tema (ARSLAN-ALATON; TURELI; OLMEZ-HANCI, 2009; CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001).

O uso de quantidades excessivas dos reagentes H_2O_2 e Fe^{2+} pode ocasionar competição entre eles e o corante pelo radical hidroxila, o que ocasiona perda de eficiência no processo e elevação do custo de tratamento (PIGNATELLO, 1992; RAO et al., 2016). A concentração de H_2O_2 define a eficácia na decomposição do contaminante, ao passo que a concentração de íons de Fe é fator importante na determinação cinética da reação (CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001).

Dentre as razões $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ tipicamente empregadas no tratamento de contaminantes, destacam-se as adotadas por Lange et al. (2006) que relataram razão $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ entre 5:1 e 25:1, em massa. Tang e Huang (1997) e Ruppert et al. (1993) recomendaram o uso de razão molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ entre 10 e 40 e Bianco et. al. (2011), relataram remoção de 80% de demanda química de oxigênio (DQO) em efluente tratado via Fenton, utilizando relação $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ de 15:1.

Diversos estudos voltados à decomposição de poluentes orgânicos, das mais variadas categorias, têm sido desenvolvidos com aplicação de processos do tipo Fenton. A seguir estão relacionadas algumas destas pesquisas com detalhamento das condições reacionais e eficiências obtidas.

3.3.1.5. Processos Fenton e Fenton-like aplicados ao tratamento de compostos recalcitrantes

A utilização de Processos Oxidativos Avançados (POA), especialmente os processos baseados na reação de Fenton, tem despontado como alternativa promissora para reduzir cor em efluentes, tendo sido testada com sucesso na descoloração de águas residuárias, tanto na remoção de corantes azo quanto de outros compostos recalcitrantes, denominação dada a compostos de difícil degradação, que não são tratados via tecnologias convencionais, e bioacumulativos (ALMEIDA;

DILARRI; CORSO, 2016; NIDHEESH; GANDHIMATHI; RAMESH, 2013; NOBILE; TAKASHIMA, 2007).

Diferentes autores têm aplicado processos Fenton no tratamento de poluentes recalcitrantes tais como fenóis (KUŠIĆ et al., 2006), resíduos laboratoriais (BENATTI; TAVARES, 2012; GHISELLI et al., 2004) corantes alimentícios (KARKMAZ et al., 2004), corantes têxteis (KARTHIKEYAN et al., 2011; SALGADO et al., 2009), herbicidas (PIGNATELLO, 1992), corantes provenientes de efluentes da indústria farmacêutica (COSTA et al., 2009) e azo corantes em geral (PERALTA-HERNÁNDEZ et al., 2008). Relatos indicaram que a concentração de azo-corantes em efluentes industriais reais varia entre 10 a 200 mg.L⁻¹. (BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003; CRUZ-GONZÁLEZ et al., 2010, 2012; NOBILE; TAKASHIMA, 2007; PERALTA-HERNÁNDEZ et al., 2008; RUIZ et al., 2011; VACCHI et al., 2013).

A Tabela 2 apresenta uma relação de estudos de oxidação avançada dos tipos Fenton e Fenton-*like* na decomposição de corantes sintéticos.

Tabela 2 - Oxidação avançada de corantes sintéticos por Fenton e Fenton-*like*.

Corante	Processo Oxidativo	Remoção ¹	Fonte
<i>Acid Red 18</i>	Fenton- <i>like</i> (Fe ⁰)	99,9% - Cor	Barbusiński; Majewski, 2003
<i>Acid Red Blue 161</i>	Fenton e Foto-Fenton	77% - DQO	Trovó et al., 2016
<i>Brillant Green</i>	Fenton	91% - DQO	Rao et al., 2016
<i>Direct Blue 2B e Direct Red 12B</i>	Fenton	97% - Cor	Malik; Saha, 2003
<i>Orange 2</i>	Fenton	99,7% - Cor 70,7% - COT	Ramirez; Costa; Madeira, 2005
<i>Reactive Blue 49 e Reactive Blue 137</i>	Fenton e Fenton- <i>like</i> (Fe ³⁺ e Fe ⁰)	> 95% - Cor 72,1% - COT	Kušić; Lončarić Božić; Koprivanac, 2007
<i>Reactive Red 120</i>	Fenton- <i>like</i> (Fe ⁰)	92% - Cor	Tang; Chen (1996)

¹ DQO: Demanda Química de Oxigênio; COT: Carbono Orgânico Total.

Apesar da existência de diversos relatos sobre a degradação de corantes sintéticos pelos processos Fenton não há, até o presente momento, relatos envolvendo

a degradação do corante DR343. É importante ressaltar que os processos convencionais ou aqueles que utilizam sistemas de oxidação avançada podem gerar subprodutos tóxicos; neste sentido, Oliveira et al. (2010) e Vacchi et al. (2013) descreveram que diversos testes de toxicidade têm sido empregados na avaliação da toxicidade do corante em sua forma purificada e também de subprodutos de degradação originados por diferentes processos de descoloração.

3.4. Testes de Toxicidade

A toxicologia é a ciência que estuda os efeitos nocivos que as substâncias químicas podem provocar em organismos vivos. Por meio de ensaios laboratoriais e do uso de diferentes organismos, a toxicologia é capaz de avaliar o efeito tóxico de substâncias de natureza química complexa, produzindo respostas que as análises físico-químicas não seriam capazes de fornecerem (COSTA et al., 2008; TRUHAUT, 1977). A ecotoxicologia é um ramo da toxicologia que estuda os efeitos tóxicos de substâncias sobre populações de organismos vivos não humanos constituintes de ecossistemas (TRUHAUT, 1977) e que visa desenvolver protocolos padronizados de testes de toxicidade, estatisticamente significativos e reprodutíveis. Estes testes podem ser classificados em agudos ou crônicos (COSTA et al., 2008) e são realizados em organismos que apresentam baixos limites de tolerância a certos poluentes sofrendo, em presença destes, efeitos morfológicos, fisiológicos ou comportamentais (MAGALHÃES; FERRÃO, 2008).

A avaliação da toxicidade crônica engloba a análise do efeito da substância por uma parte ou todo o ciclo de vida do organismo-teste. Os testes de toxicidade aguda permitem determinar, estatisticamente, valores de CE_{50} , que é a concentração efetiva média que causa efeito agudo em 50% dos organismos expostos, bem como a CL_{50} , definida como a concentração letal que causa morte de 50% dos organismos expostos

nas condições do teste (ARENZON; NETO; GERBER, 2011; COSTA et al., 2008; THOMPSON; WADHIA; LOIBNER, 2009).

Testes de toxicidade aguda são fundamentais na identificação e avaliação do perigo de produtos químicos presentes em efluentes em geral. Os corantes, especificamente, merecem elevada atenção quanto a seus produtos de decomposição, visto que os compostos intermediários formados podem apresentar toxicidade mais elevada que as moléculas originais (MARSON et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2010). Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos no sentido de avaliar a toxicidade de corantes e as alterações na toxicidade após diversos tipos de tratamentos de efluentes.

Pizato et al. (2017) utilizaram *A. salina* na investigação da toxicidade de efluente real proveniente de indústria têxtil da região Sudoeste do estado do Paraná, no Brasil. Os testes de toxicidade foram realizados com o efluente antes e após tratamento biológico de remoção de cor com o fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI. Os resultados demonstraram capacidade de remoção de cor de até 91,2%, porém houve significativo aumento de toxicidade do efluente após tratamento, uma vez que CL₅₀ do efluente bruto diluído foi de 14,72% (v/v) e ao final do tratamento foi de 4,98% (v/v).

Vacchi et al. (2016), Leite et al. (2016) e Oliveira et al. (2010), em diferentes estudos do azo corante *Disperse Red 1* (DR1), constataram que este apresentou toxicidade para *Daphnia similis* e também potencial genotóxico em *Salmonella*/microsoma, bem como nos testes com células HepG2 (hepatoblastoma humano).

Almeida (2013) estudou a degradação biológica dos corantes *Acid Blue 161* (AB161) e *Procion Red MX-5B* (PR MX-5B), assim como investigou sua toxicidade aguda em dois organismos-teste, *A. salina* e *L. sativa*. Ao estudar os corantes não tratados, os autores observaram que o corante AB161 apresentou maior toxicidade que o corante PR MX-5B em ambos os organismos. O corante AB161 apresentou CL₅₀

de $2175 \pm 161 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e o corante PR MX-5B mostrou CL_{50} de $2574 \pm 280 \mu\text{g.mL}^{-1}$. O estudo constatou também que a associação dos dois corantes não tornou o meio mais tóxico aos organismos avaliados. É interessante relatar que os testes de toxicidade realizados após a biodegradação desses materiais mostraram um aumento de 40% na toxicidade das soluções tratadas (para as sementes de *L. sativa*). De forma similar, após o tratamento do corante PR MX-5B, puro ou associado, verificou-se aumento de 100% de mortalidade dos náuplios de *A. salina*.

De acordo com o Art. 18, § 1º, da Resolução 430/11 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2011), os critérios de ecotoxicidade aquática devem ser baseados em resultados de ensaios ecotoxicológicos realizados com organismos pertencentes a pelo menos dois níveis tróficos diferentes, sendo um classificado como organismo produtor primário, algum representante dos consumidores primários e/ou também representantes de consumidores secundários. Neste contexto, o uso conjunto de sementes de alface (produtor primário), de *Artemia salina* (consumidor primário) e de peixes *zebrafish* (consumidores secundários) atende a normativa e são considerados como alternativas viáveis, de baixo custo e com possibilidade de manipulação em grande escala (BALBINOT; KURTZ; MARQUEZE, 2014; COSTA et al., 2008; USEPA, 1996, 2002).

3.5. Delineamento Experimental

Em experimentos em que diversos fatores podem ser capazes de influenciar os resultados, a abordagem experimental tradicional, que consiste na variação de um fator por vez, baseia-se em fixar em um ponto médio a grandeza de uma variável e testar diferentes níveis de outra variável, até a determinação de um valor ótimo para a variável em análise. Após a identificação do valor ótimo para a primeira variável testada, fixa-se esse valor e procede-se a realização de testes semelhantes com cada

uma das variáveis em estudo, estando as demais fixadas, até a determinação individual do valor ótimo de cada um dos parâmetros avaliados (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001; SUN et al., 2009).

Apesar da determinação de um fator por vez ter sido amplamente utilizada, ela não leva em conta a complexa relação entre as variáveis do processo, tornando esta metodologia menos adequada e mais dispendiosa (ARSLAN-ALATON; TURELI; OLMEZ-HANCI, 2009).

De acordo com Barros Neto et al. (2001), a determinação da influência das diferentes variáveis inerentes a um experimento frente a uma resposta de interesse é um grande problema na execução dos ensaios. Determinar com assertividade as variáveis escolhidas para serem estudadas, monitorar e quantificar a influência delas nas respostas obtidas, bem como a relação entre essas variáveis, é tarefa complexa e não-trivial.

No intuito de otimizar experimentos, reduzir o número de testes e garantir uma abordagem matemática precisa, o planejamento fatorial desponta como ferramenta estatística de grande interesse (AY; CATALKAYA; KARGI, 2009). O planejamento fatorial tem sido aplicado em diversos estudos envolvendo a otimização de processos de tratamento de corantes em efluentes reais e simulados, mostrando-se bastante útil na determinação tanto das concentrações mais efetivas de reagentes químicos quanto das condições experimentais mais favoráveis, de modo a gerar melhor resultado em relação à decomposição dos contaminantes em estudo, menor tempo de processo e economia de custos (BARKA et al., 2014; CUNICO et al., 2008; PAPIC et al., 2010).

A determinação das condições experimentais em que as reações de Fenton desenvolvem-se com maior eficiência na remoção de poluentes tem sido investigada por vários autores (ANOTAI et al., 2011; AY; KARGI, 2010; CATALKAYA; KARGI,

2007; CUNICO et al., 2008). Grande parte desses estudos, no entanto, baseiam-se na abordagem experimental tradicional (BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003; KARTHIKEYAN et al., 2011; SUN et al., 2009).

Tendo em consideração que os processos Fenton são complexos e envolvem múltiplas variáveis capazes de influenciar a eficiência global de remoção dos contaminantes, a mudança de um fator a cada vez é trabalhosa e pode levar a erros de interpretação, impossibilitando a avaliação de efeitos cruzados entre variáveis distintas. Nesses casos a aplicação de planejamentos fatoriais possibilita a realização de menor número de experimentos com melhor relação custo/benefício (ARSLAN-ALATON; TURELI; OLMEZ-HANCI, 2009; DOPAR; KUSIC; KOPRIVANAC, 2011).

3.5.1. Metodologia de Superfície de Resposta e Planejamento Box-Behnken

Metodologias de superfície de resposta (MSR) são um conjunto de técnicas estatísticas e matemáticas utilizadas na modelagem e na análise de problemas em que a resposta de interesse é influenciada por diversas variáveis e quando objetiva-se otimizar a resposta (BOX; DRAPER, 1987; MONTGOMERY; RUNGER, 2009).

Estabelecido em 1960, o planejamento experimental Box-Behnken, também conhecido como Box-Behnken *Design* (BBD), é uma importante metodologia de superfície de resposta, que permite avaliar simultaneamente diferentes variáveis mantendo intervalos uniformes entre os níveis delas, sem o uso de condições extremas para todas e onde todas as variáveis são estudadas em três níveis (-1, 0 e +1). Por se tratar de desenho fatorial incompleto, o planejamento Box-Behnken resulta na necessidade de realização de menor número de experimentos, conseguindo boas respostas em modelos quadráticos, além de não incluir os extremos (níveis máximos ou mínimos de todos os fatores estudados) (BEZERRA et al., 2008; CECON; SILVA, 2011).

O número de experimentos estabelecidos para a aplicação do planejamento Box-Behnken (N) é dado pela equação 1 (BEZERRA et al., 2008; BOX; BEHNKEN, 1960; CECON; SILVA, 2011):

$$N = 2k(k-1) + C \quad \text{Equação 1}$$

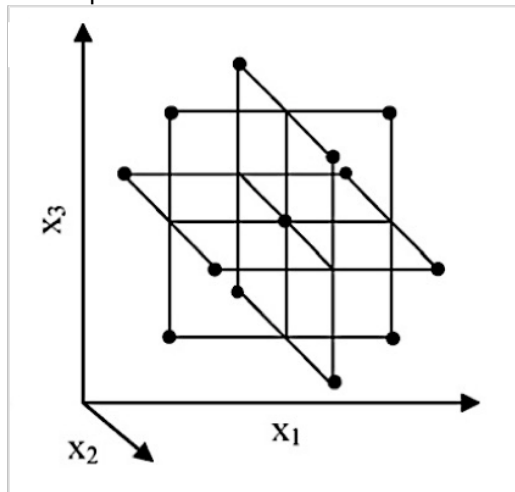
Onde:

k = número de variáveis

C = número de replicatas no ponto central estabelecidas para o estudo, que deve possuir três ou mais fatores.

A Figura 3 apresenta a representação espacial dos níveis estudados para cada uma das variáveis (eixos X_1 , X_2 e X_3) em um estudo do tipo Box-Behnken de três variáveis em três níveis.

Figura 3 - Desenho experimental do tipo Box-Behnken baseado em três variáveis de três níveis.



Fonte: Adaptado de Bezerra et al. (2008).

As equações obtidas por meio da MSR podem ser representadas graficamente e, de acordo com Montgomery e Runger (2009), sua aplicação permite dentre as outras finalidades: 1) elucidar a maneira com que as variáveis em teste afetam as respostas; 2) determinar as inter-relações entre as variáveis testadas; 3) identificar e otimizar os efeitos das combinações entre as variáveis testadas sobre a resposta obtida.

3.5.1.1. Análise de desejabilidade

A análise de desejabilidade consiste em utilizar as equações das regressões obtidas na realização dos experimentos integrantes do planejamento executado e resolvê-las matematicamente a partir dos valores desejados para as respostas, elaborados conforme os critérios de otimização desejados (KUMAR et al., 2016).

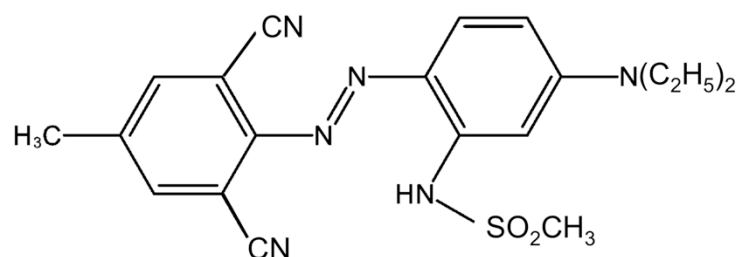
Funções de desejabilidade podem ser aplicadas a fim de se obter níveis otimizados para variáveis independentes e aprimorar os processos estudados em termos de eficiência química e de custos. Diversos autores têm aplicado a MSR na determinação de condições otimizadas para degradação de poluentes de diferentes naturezas. Adicionalmente, têm sido relatadas suas aplicações na quimiometria e química analítica (ANOTAI et al., 2011; AY; DOPAR; KUSIC; KOPRIVANAC, 2011; KUMAR et al., 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Equipamentos e Materiais

Os experimentos de oxidação avançada foram realizados utilizando-se placa agitadora (RT10 *Stirrer plate* – IK, Alemanha), pHmetro digital (PG1800 – GEHAKA, Brasil) e espectrofotômetro UV-Vis (UV-2000A – Instrutherm, Brasil). O corante comercial têxtil *Disperse Red 343* (DR343 - CAS N° 99031-78-6, MM 410,49 g.mol⁻¹), cuja molécula está apresentada na Figura 4, foi gentilmente doado pela empresa DyStar (Brasil) e utilizado como recebido.

Figura 4 - Estrutura molecular do corante *Disperse Red 343* (DR343).



Fonte: Adaptado de Arora; Saini; Singh (2011).

Na execução dos experimentos de Fenton e Fenton-*like* foi utilizada solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30% m/v (Isofar, Brasil), cloreto ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) e cloreto férrico ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) (Synth, Brasil). Soluções de hidróxido de sódio (NaOH) P.A. (Synth, Brasil) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) P.A. (Synth, Brasil) foram utilizadas para o ajuste de pH do meio reacional. Catalase de fígado bovino (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) foi utilizada para interromper as reações Fenton e Fenton-*like*. Metavanadato de amônio (NH_4VO_3) P.A. (Química Moderna, Brasil) foi utilizado para quantificação de H_2O_2 residual. Todas as soluções foram preparadas com água purificada.

Para os testes fitotoxicidade, as sementes de alface foram adquiridas em loja local de produtos agropecuários e, após expostas às amostras, foram mantidas em incubadora DBO com fotoperíodo (SL 224-364 Solab); sulfato de zinco heptahidratado (Sigma-Aldrich, Brasil) foi utilizado como controle positivo. Nos testes de toxicidade aguda com *A. salina* foram utilizados sal marinho sintético (Qingdao Co., China), cistos de *A. salina* provenientes do estado do Rio Grande do Norte (Flagner S.S., Brasil) e equipamento contador de colônias (CP600 Plus - Phoenix Lufenco); dodecil sulfato de sódio (SDS) (Sigma-Aldrich, Brasil) foi utilizado como controle positivo. Os ovos de *zebrafish* utilizados foram produzidos localmente, por meio de peixes mantidos em Rack Hydrus (Alesco, Brasil); 3,4-dicloroanilina (Sigma-Aldrich, Brasil) foi utilizada

como controle positivo. As leituras dos ovos de *zebrafish* foram realizadas com estereomicroscópio (Carl Zeiss Stemi 2000-C, Jena, Alemanha).

4.2. Métodos

4.2.1. Preparo e quantificação das dispersões-teste contendo corante DR343

As dispersões do corante comercial DR343 foram preparadas na concentração 100 mg.L⁻¹, em água purificada. As determinações das concentrações de corante DR343 nas dispersões antes e após tratamento foram realizadas conforme preconizado pelo *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (SMWW), método 2120 C (APHA, 1998) por meio espectrofotometria em 524 nm, utilizando espectrofotômetro UV-Vis e cubeta de quartzo, de percurso ótico de 10 mm. Para calibração, uma curva analítica foi preparada a partir de uma série de dispersões aquosas do corante DR343, em concentrações na faixa entre 0,5 e 100 mg.L⁻¹, todas preparadas em triplicata a partir de dispersão estoque de DR343 (200 mg.L⁻¹) recém preparada.

4.2.2. Preparo, padronização e quantificação das soluções contendo H₂O₂

A solução de peróxido de hidrogênio utilizada nos tratamentos foi preparada a partir da diluição da solução comercial de H₂O₂ a 30% em água purificada, até concentração de 1,0 mol. L⁻¹. Essa solução foi mantida protegida da luz, sob refrigeração, a fim de evitar decomposição. A solução-estoque de H₂O₂ foi padronizada por permanganometria (VOGEL, 1960).

A determinação de peróxido de hidrogênio residual no meio reacional foi feita de modo indireto, com utilização de metavanadato de amônio (NH₄VO₃), por espectrofotometria UV-Vis em 450 nm (NOGUEIRA; OLIVEIRA; PATERLINI, 2005; OLIVEIRA et al., 2001). Para tanto, adicionou-se 1 mL de solução de metavanadato de

amônio 62 mmol.L^{-1} e 1 mL da amostra tratada em um balão volumétrico de 10 mL. O volume do balão foi completado com água purificada e homogeneizado. A absorbância da solução resultante foi medida e o teor de peróxido de hidrogênio residual foi determinado a partir da equação da reta resultante da curva analítica previamente construída (OLIVEIRA et al., 2001).

4.2.3. Preparo das soluções de sais de ferro

Como fonte de catalisador para as reações Fenton e Fenton-*like*, utilizou-se, respectivamente, solução aquosa $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (como fonte de íons Fe^{2+}) e solução aquosa de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (como fonte de íons Fe^{3+}). As soluções foram preparadas semanalmente e guardadas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

4.2.4. Determinação de carbono orgânico total

Experimentos de determinação de carbono orgânico total (COT) foram realizados pelo laboratório credenciado Aqualit Tecnologia em Saneamento Ltda., segundo método 5310 C do SMWW (APHA, 1998).

4.3. Testes de Toxicidade

4.3.1. Teste de toxicidade aguda para avaliação da germinação de sementes e do crescimento de raízes de *Lactuca sativa*

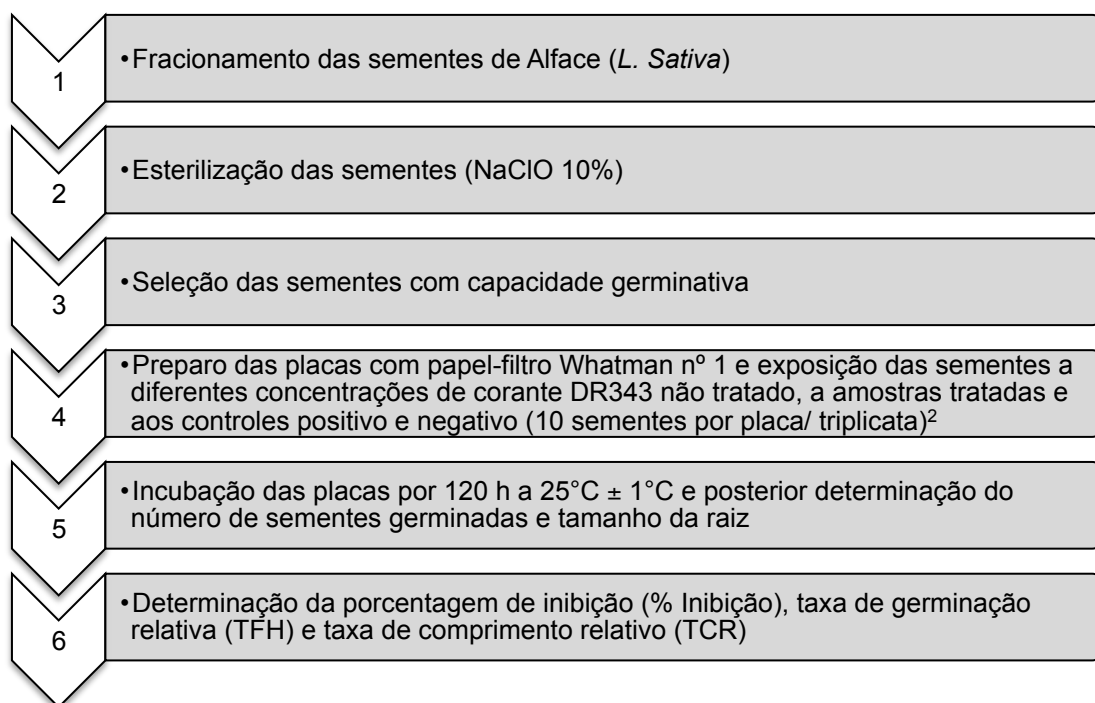
Os testes de germinação de sementes e crescimento de raízes foram realizados conforme o protocolo *Ecological Effects Test Guidelines* OPPTS 850.4200 (USEPA, 1996). As sementes de alface (*L. sativa*), previamente adquiridas em lojas de suprimentos agrícolas, foram esterilizadas com solução de hipoclorito de sódio a 10% (v/v) por 5 minutos e então enxaguadas por várias vezes em água purificada, a fim de prevenir crescimento fúngico.

Dez sementes foram posicionadas sobre papel-filtro (*Whatman* n° 1) mantidos em placas de Petri (n = 3). Três mililitros das dispersões do corante DR343 não tratado

(0,01; 0,1; 1; 10 e 100 mg.L⁻¹), ou de dispersões tratadas sob condições otimizadas, foram adicionados às placas. Água purificada foi usada como controle negativo e sulfato de zinco heptahidratado (0,68 mg.L⁻¹) como controle positivo.

Os testes foram considerados válidos quando a germinação das sementes do controle negativo foi igual ou superior a 65% e quando as raízes atingiram, pelo menos, 5 mm de comprimento após 120 h de incubação no escuro total a 25 ± 1 °C (USEPA, 1996). Após 120 h de exposição, o número de sementes germinadas foi contado e o comprimento das raízes foi medido com auxílio de uma régua. A síntese do procedimento de preparo e execução dos testes de fitotoxicidade é apresentada na Figura 5.

Figura 5 - Síntese do esquema de preparo e execução dos testes de fitotoxicidade com sementes de *L. sativa*.



² Suspensões do corante DR343 a 0,01; 0,1; 1,0; 10,0; 100,0 mg.L⁻¹ ou dispersões tratadas sob condições ótimas. Água deionizada foi usada como controle negativo e sulfato de zinco heptahidratado a 0,68 mg.L⁻¹ como controle positivo.

A porcentagem de inibição da germinação (% inibição), a taxa de germinação relativa (TGR) e taxa de comprimento relativo (TCR) foram calculados conforme as equações de 2 e 3, respectivamente.

$$TGR = \frac{n^{\circ} \text{ de sementes germinadas}}{n^{\circ} \text{ total de sementes}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

$$TCR = \frac{\text{média do comprimento da raiz}}{\text{média no comprimento da raiz no controle}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Os resultados foram estatisticamente tratados pelo *software GraphPad Prism 7* (San Diego CA, USA). A análise de variância (ANOVA) de sentido único, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnett's foram aplicados para determinar se houve diferença estatística significativa entre as amostras testadas, bem como os controles utilizados. O Probit foi utilizado para determinar a concentração de efeito médio (EC₅₀) sobre a germinação das sementes e sobre o comprimento das raízes, com intervalo de confiança de 95%.

4.3.2. Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia salina*

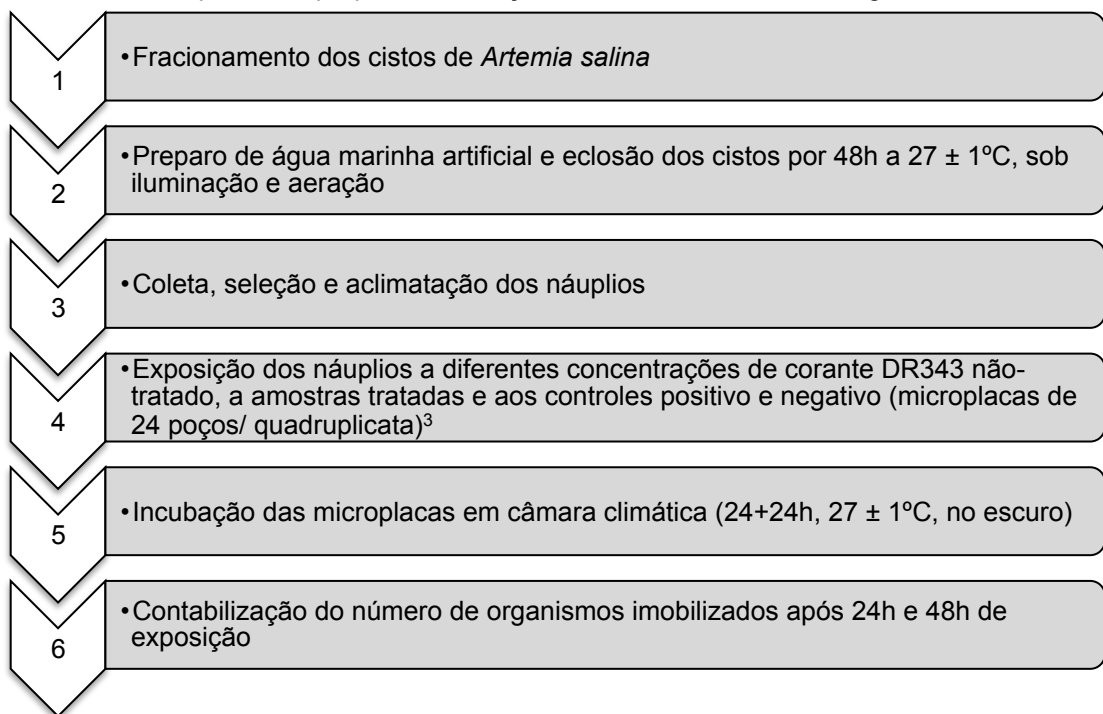
Os testes de toxicidade aguda em *A. salina* foram realizados de acordo com Meyer et al. (1982) e com o Protocolo 202 da Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD, 2004), com modificações.

Náuplios de *A. salina* foram obtidos pela incubação de cistos desidratados em água marinha artificialmente preparada (3,5% p/v, de sal marinho em água purificada). A dispersão de cistos foi mantida a 27 ± 1°C, sob aeração e iluminação constante por 48 h. Para o teste, 20 náuplios foram divididos em 4 grupos de 5 organismos cada, os quais foram expostos a 2 mL da dispersão de corante não tratado (6,25; 12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 mg.L⁻¹) e de amostras tratadas, conforme os planejamentos Box-

Behnken. As amostras obtidas sob condições ótimas nos processos Fenton e Fenton-like também foram avaliadas.

Água salina foi utilizada como controle negativo e solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 10 mg.L⁻¹ como controle positivo. Microplacas foram incubadas no escuro, em câmara climática, por 24 h a 27 ± 1°C. Após 24 h, o número de náuplios mortos (imobilizados) nos grupos expostos foi contado e comparado com o controle negativo. As dispersões tratadas sob condições otimizadas também foram avaliadas após 48 h de exposição. A síntese do procedimento de preparo e execução dos testes de toxicidade aguda em *A. salina* é apresentada na Figura 6.

Figura 6 - Síntese do esquema de preparo e execução dos testes de toxicidade aguda com *A. salina*.



³Suspensões do corante DR343 a 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 mg.L⁻¹ ou dispersões tratadas. Água salina foi usada como controle negativo e dodecil sulfato de sódio a 10 mg.L⁻¹ como controle positivo.

O potencial de toxicidade do corante foi determinado tendo como referência a classificação baseada em Bae e Freeman (2007), apresentada na Tabela 3. Como

critério de validação do teste foi estabelecido uma mortalidade inferior a 10% no grupo controle negativo.

Tabela 3 - Relação entre LC₅₀ (mg.L⁻¹) e classificação de toxicidade.

LC ₅₀ (mg.L ⁻¹)	Classificação de Toxicidade
> 100	Relativamente não tóxico
10 - 100	Moderadamente tóxico
1 - 10	Muito tóxico
< 1	Extremamente tóxico

Fonte: Adaptado de Bae; Freeman (2007).

Os resultados foram estatisticamente analisados pelo software *GraphPad Prism* 7 (San Diego CA, USA). A análise de variância (ANOVA) de sentido único, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnett's foram aplicados para determinar se houve diferença estatística significativa entre as amostras testadas, bem como os controles utilizados. O Probit foi utilizado para determinar a concentração letal (CL₅₀) da dispersão do corante, com intervalo de confiança de 95%.

4.3.3. Teste de toxicidade aguda com embriões e larvas de *zebrafish* (*Danio rerio*) (FET)

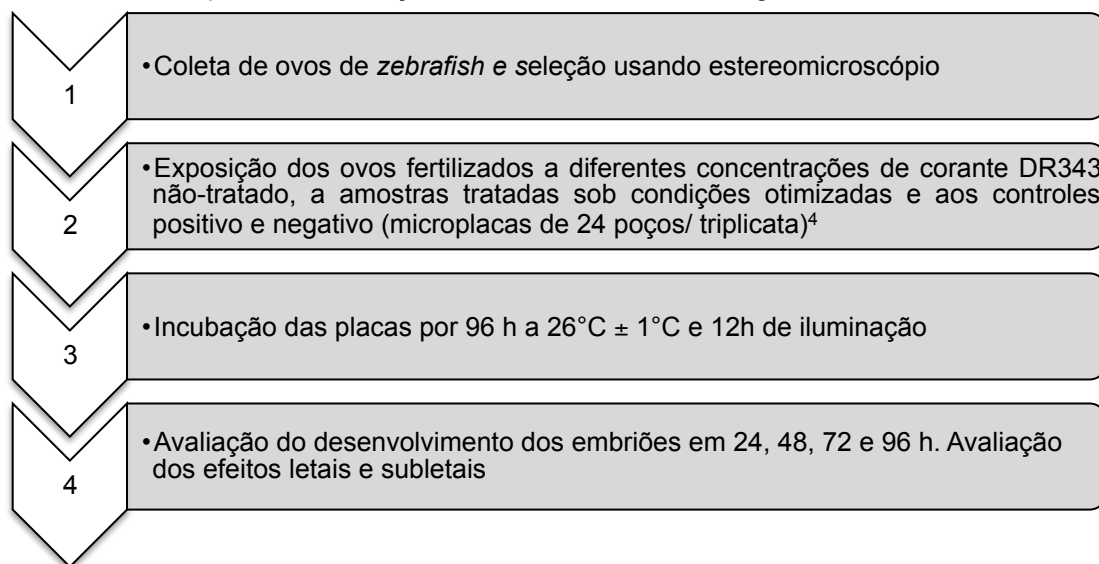
Adultos machos e fêmeas de *zebrafish* (*Danio rerio*) foram obtidos de um fornecedor local e mantidos em um sistema de recirculação Rack Hydrus (Alesco, Brasil), utilizando água obtida por osmose reversa. Nesse sistema, a água passa por diversos níveis de filtração, sendo esterilizada por luz UV. O pH e a condutividade elétrica são ajustados automaticamente. A temperatura foi mantida a 26 ± 1°C, a condutividade a 750 ± 50 µS, pH de 7,5 ± 0,5 e o oxigênio dissolvido com saturação igual ou superior a 95%. Esta água foi utilizada no preparo das soluções teste para todos os ensaios realizados. Os organismos vivos foram alimentados com flocos alimentares secos obtidos comercialmente e náuplios de *A. salina*.

O teste de toxicidade aguda com embriões e larvas de *zebrafish* (*Danio rerio*) foi executado conforme a OECD TG 236 (OECD, 2013). Os ovos de *zebrafish* foram coletados aproximadamente 30 minutos após o acasalamento natural, enxaguados em água e examinados por meio de um estereomicroscópio (Carl Zeiss Stemi 2000-C, Jena, Alemanha). Os ovos não-fertilizados, lesionados ou danificados foram descartados. O êxito da fertilização foi conferido: somente reproduções com taxa de fertilização mínima de 90% dos ovos obtidos foram utilizadas.

Vinte ovos fertilizados foram aleatoriamente selecionados e cuidadosamente distribuídos em placas de 24 poços (1 ovo/ poço), preenchidas com 2 mL de dispersão do corante não tratado (6,25; 12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 mg.L⁻¹) ou de amostras obtidas sob condições ótimas, nos processos Fenton e Fenton-*like*. A água de manutenção foi utilizada como controle negativo e solução de 3,4-dicloroanilina (4,5 mg.L⁻¹) como controle positivo.

Os testes foram realizados em triplicata em câmara climática a 26 ± 1°C e 12 h de iluminação. O desenvolvimento dos embriões foi avaliado em 24, 48, 72 e 96 horas após a fertilização, usando um estereomicroscópio. Efeitos letais e subletais foram observados e reportados. A síntese do procedimento de preparo e execução dos testes de toxicidade aguda em embriões de *zebrafish* é apresentada na Figura 7.

Figura 7 - Síntese do esquema de execução dos testes de toxicidade aguda em embriões de *zebrafish*.



⁴Suspensões do corante DR343 a 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 mg.L⁻¹ ou dispersões tratadas sob condições otimizadas. Água de manutenção foi usada como controle negativo e solução de 3-4 dicloroanilina a 4,5 mg.L⁻¹ como controle positivo.

Os resultados foram estatisticamente analisados pelo software *GraphPad Prism* 7 (San Diego CA, USA). A análise de variância (ANOVA) de sentido único, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnett's foi utilizada. Cada valor experimental foi comparado a seu controle correspondente. A significância estatística foi aceita quando $p < 0,05$.

4.4. Execução dos ensaios de Fenton e Fenton-like

Cem mililitros de dispersão de corante DR343 a 100 mg.L⁻¹ (BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003) foram adicionados em erlenmeyers de 250 mL. Em seguida, foram adicionadas alíquotas de solução aquosa de FeSO₄.7H₂O (Fe²⁺) ou de solução aquosa de FeCl₃.6H₂O (Fe³⁺). Na sequência, o pH do efluente sintético foi ajustado por meio da adição de soluções aquosas de H₂SO₄ ou NaOH, até o pH desejado.

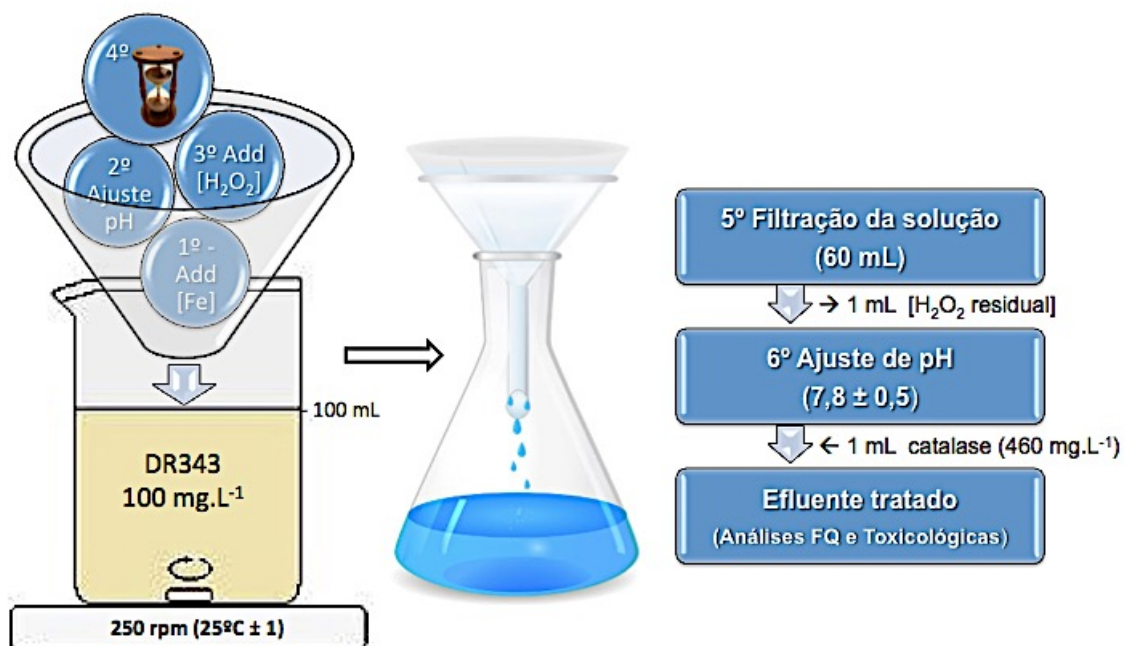
Os erlenmeyers foram levados à placa agitadora e mantidos a 250 rpm. Em seguida, a reação de oxidação avançada foi iniciada pela adição de volumes pré-

estabelecidos de peróxido de hidrogênio. A partir deste momento iniciou-se a contagem do tempo de reação. Os ensaios foram realizados em temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 1$).

Após o tempo determinado, cada uma das soluções foi filtrada em papel de filtro Whatman (\varnothing 125 mm) e o pH foi ajustado para $7,8 \pm 0,5$, por meio de adição de NaOH ($1,0 \text{ mol.L}^{-1}$). Neste momento foi efetuada a retirada de alíquota de 1 mL de solução, a fim de se determinar a concentração de peróxido de hidrogênio residual.

Retirou-se, também, volume de 60 mL de solução filtrada, adicionando-se 1 mL de solução de catalase (460 mg.L^{-1} , pH 7,8), a fim de fazer cessar a reação de oxidação e evitar ação continuada do peróxido de hidrogênio ainda presente no meio. A síntese do procedimento experimental executado para oxidação avançada Fenton e Fenton-like do corante DR343 presente em dispersões aquosas é apresentada na Figura 8 .

Figura 8 - Esquema de tratamento de dispersão aquosa contendo o corante DR343 por Fenton e Fenton-like.



Os testes foram realizados de acordo a matriz de planejamento tipo Box-Behnken (seção 4.5).

4.5. Delineamento do Experimento

Um delineamento experimental do tipo Box-Behnken *Design* (BBD), com quatro fatores em três níveis, foi utilizado para determinar o efeito das variáveis da reação de Fenton e Fenton-*like* sobre as respostas selecionadas (ANOTAI et al., 2011; BOX; BEHNKEN, 1960; KÖRBAHTI, 2007).

A Tabela 4 apresenta as variáveis testadas e os respectivos níveis aplicados, que foram estabelecidos com base em testes preliminares (não apresentados) e a partir de faixas de pH, concentração de peróxido de hidrogênio, concentração de catalisador e tempos reacionais utilizados por pesquisadores em diferentes estudos de remoção de contaminantes por meio de processos tipo Fenton e Fenton-*like* (BARBUSIŃSKI; MAJEWSKI, 2003; KÖRBAHTI, 2007; KUŠIĆ et al., 2006; MALIK; SAHA, 2003; NEYENS; BAEYENS, 2003; PAPIĆ et al., 2010; TANG; CHEN, 1996).

Tabela 4 – Variáveis e níveis empregados no planejamento BBD para remoção do corante *Disperse Red 343* por meio de Oxidação Avançada tipo Fenton e Fenton-*like*.

Variáveis	Níveis		
	Inferior (-1)	Central (0)	Superior (+1)
pH inicial	3,0	3,5	4,0
[Fe] mmol.L ⁻¹	0,10	0,25	0,40
[H ₂ O ₂] mmol.L ⁻¹	0,5	2,5	4,5
Tempo (min)	5	30	55

As quatro variáveis foram testadas em 3 níveis com triplicata no ponto central, totalizando 27 ensaios para cada um dos processos estudados. A Tabela 5 apresenta a matriz do planejamento fatorial utilizado.

Tabela 5 - Variáveis independentes e condições experimentais do planejamento fatorial tipo BBD com quatro fatores em três níveis, empregado na oxidação do corante DR343 via Fenton e Fenton-like.

Ensaio	pH	[Fe]	[H ₂ O ₂]	Tempo
1	0	-1	0	-1
2	0	0	1	-1
3	0	-1	-1	0
4	-1	1	0	0
5	1	0	-1	0
6	-1	0	0	1
7	0	0	0	0
8	-1	0	-1	0
9	0	0	-1	1
10	1	0	0	1
11	0	-1	0	1
12	0	1	0	1
13	1	1	0	0
14	0	1	-1	0
15	-1	0	1	0
16	0	0	0	0
17	1	0	0	-1
18	0	-1	1	0
19	0	1	1	0
20	-1	0	0	-1
21	0	0	-1	-1
22	0	0	0	0
23	1	0	1	0
24	1	-1	0	0
25	0	1	0	-1
26	-1	-1	0	0
27	0	0	1	1

Fonte: Adaptado de Box; Behnken (1960).

Um modelo de regressão linear polinomial de segunda ordem foi obtido para análise dos dados integrantes de cada um dos planejamentos executados (Equação 4) (BOX; BEHNKEN, 1960; KUMAR et al., 2016).

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i X_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} X_i^2 + \sum_i \sum_j b_{ij} X_i X_j + e \quad \text{Equação 4}$$

Sendo:

Y = Resposta

b₀ = Intercepto

X = Fatores

b_z = Coeficientes de regressão (z = i, j ou ij)

e = Erro

Os dados foram estatisticamente tratados por meio do software *Design Expert* (versão 8.0.2, *Stat-Ease*, Inc., Minneapolis, MN). A significância dos efeitos e sua relação com as variáveis foi determinada pela aplicação da Análise de Variância (ANOVA). Para cada resposta determinou-se o valor de F, que é a relação entre o modelo e seu erro, e também o valor de p (significância). Valores de p inferiores a 0,05 indicaram que a variável relacionada foi significativa no domínio experimental avaliado, com intervalos de confiança de 95%.

As respostas estudadas foram a decomposição do corante *Disperse Red 343* (ULIANA; GARBELLINI; YAMANAKA, 2012), a concentração de H₂O₂ residual (NOGUEIRA; OLIVEIRA; PATERLINI, 2005) e as avaliações de toxicidade aguda em *A. salina* (24 h de exposição).

4.5.1. Análise de desejabilidade

A análise de desejabilidade consistiu em resolver matematicamente, a partir dos valores desejados para as respostas, as equações geradas no planejamento BBD (BEZERRA et al., 2008; KUMAR et al., 2016). Os cálculos foram realizados por meio do software *Design Expert* (versão 8.0.2, *Stat-Ease*, Inc., Minneapolis, MN). Os critérios de otimização utilizados foram: 1) remoção total do corante DR343; 2) ausência de H₂O₂ residual 3) menor tempo reacional possível e 4) ausência de toxicidade aguda das amostras após tratamento otimizado.

As amostras otimizadas foram submetidas às seguintes análises: determinação da concentração de DR343 no meio, determinação da concentração de H₂O₂ residual, determinação de carbono orgânico total, análise de fitotoxicidade para sementes de *L. sativa*, análise de toxicidade aguda para *A. salina* (24h e 48h de exposição) e para embriões/larvas de *zebrafish* (*Danio rerio*) em 24, 48, 72 e 96 h de exposição.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

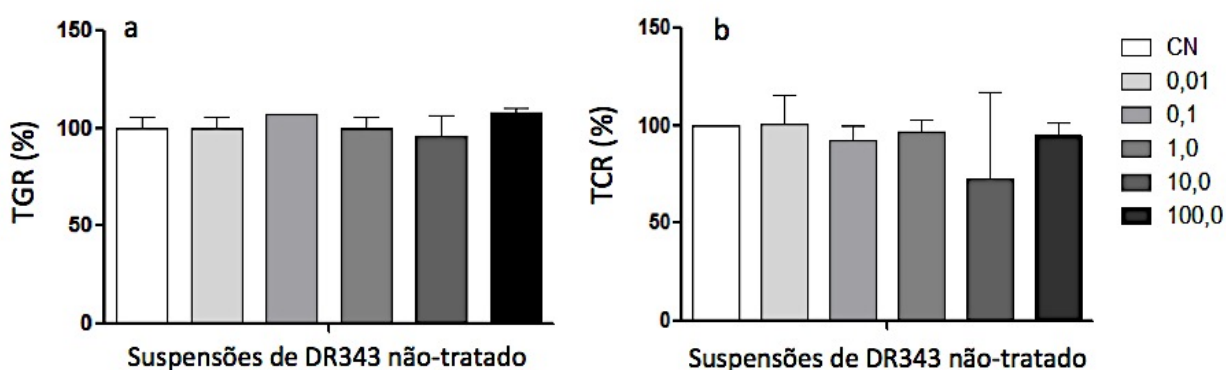
5.1. Avaliação Ecotoxicológica do Corante DR343 não tratado

Ensaio ecotoxicológicos foram realizados a fim de se determinar a toxicidade do corante DR343 não tratado em diferentes concentrações, incluindo entre elas a concentração utilizada nos ensaios de oxidação avançada (100 mg.L^{-1}). Diferentes organismos foram utilizados e os resultados estão apresentados nas seções 5.1.1 a 5.1.3.

5.1.1. Avaliação da fitotoxicidade do azo corante DR343 não tratado utilizando sementes de alface (*L. sativa*).

Os efeitos do corante sobre a porcentagem de germinação das sementes de alface e sobre o comprimento de suas raízes foram avaliados após sua exposição a dispersões do corante preparadas sob diferentes concentrações. Os resultados estão apresentados na Figura 9.

Figura 9 - Taxa de germinação relativa das sementes de alface (TGR) (a) e taxa de comprimento relativo (TCR) das raízes de alface (*L. sativa*) (b) expostas a diferentes concentrações (mg.L^{-1}) do corante DR343 não tratado. As barras de erro indicam o desvio padrão de três réplicas. CN – controle negativo.



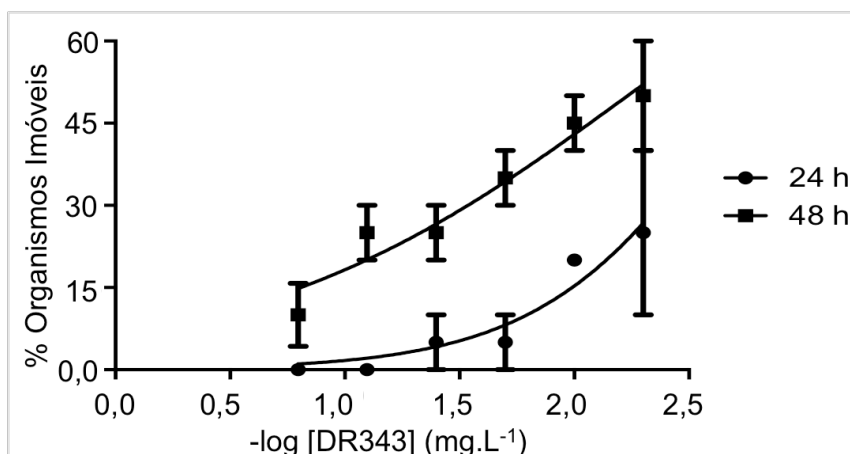
Não houve diferenças significativas nos valores de taxa de germinação relativa e comprimento relativo das sementes expostas às diferentes concentrações do corante, calculadas em relação ao controle negativo utilizado. Logo, pode-se afirmar que nas condições testadas o corante DR343 não é um agente fitotóxico. Neamtu et al. (2002) também avaliaram a toxicidade de azo corantes e constataram baixa fitotoxicidade para

Reactive Yellow 84, *Reactive Red 120* e *Reactive Black 5*, com valores de $CL_{50} > 100$ $mg.L^{-1}$ para os três corantes avaliados.

5.1.2. Avaliação da toxicidade aguda do azo corante DR343 não tratado para *A. salina*

Foi observado que os efeitos do azo corante DR343 em organismos de *A. salina* têm comportamento concentração-tempo dependentes. Conforme apresentado na Figura 10, em 24 horas de exposição ao corante, a concentração mínima de efeito foi de 25 $mg.L^{-1}$, enquanto que em 48 horas de exposição a concentração de 6,25 $mg.L^{-1}$ de DR343 já foi capaz de provocar imobilização em cerca de 10% em organismos de *A. salina*, ou seja quanto maior o tempo de exposição dos organismos ao corante, mais pronunciados são os efeitos observados mesmo sob menores concentrações.

Figura 10 - Efeito do corante DR343 não tratado sobre a imobilização de *A. salina* após 24 e 48 h de exposição.



Pode-se constatar que a curva de concentração-resposta mostrou um efeito concentração-tempo dependente com CL_{50} de 170,7 $mg.L^{-1}$ em 48 horas. Os valores de CL_{50} após 24 e 48 horas de exposição de náuplios de *A. salina* ao azo corante DR343 não tratado estão apresentados na Tabela 6, na qual é possível observar que o corante DR343 não tratado é um composto relativamente não tóxico para esse organismo.

Tabela 6 - Concentração média letal (CL₅₀) do corante DR343 não tratado para *A. salina* após 24 e 48 horas de exposição.

Tempo de exposição	CL ₅₀ mg.L ⁻¹ (IC) ⁴	Classificação do potencial de toxicidade ¹
24 horas	536,2 (144,7 – 1987,0)	Relativamente não tóxico
48 horas	170,7 (88,07 – 330,7)	Relativamente não tóxico

⁴ classificação do potencial de toxicidade conforme Bae e Freeman (2007).

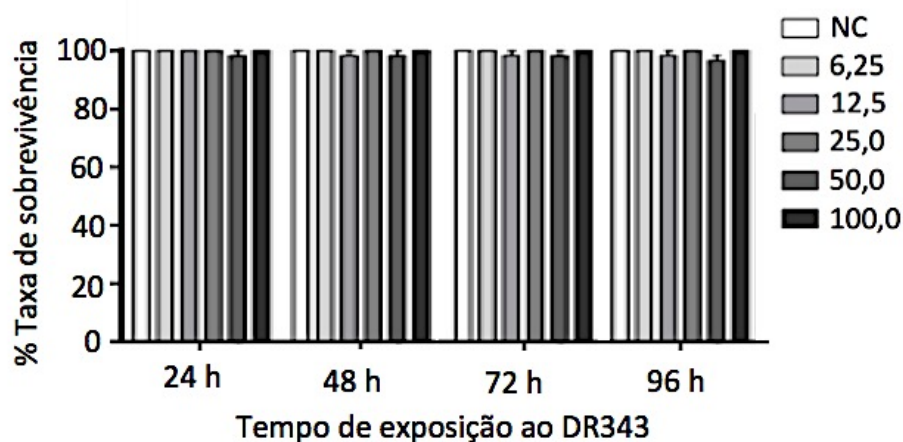
A toxicidade do corante DR343 foi inferior à do azo corante *Reactive Red 120*, investigado por Leme et al. (2015), cuja CL₅₀ (48 h) para *A. salina* foi de 81,89 mg.L⁻¹ e superior à do corante *Acid Red 120*, cuja CL₅₀ (48h) para *Daphnia similis* foi de 2999,73 mg.L⁻¹ (ROCHA et al., 2017).

Outros estudos foram realizados em corantes dispersivos do tipo azo. Leite et al. (2016) avaliou a toxicidade do azo corante comercial *Disperse Red 1* para *D. similis* e obteve CE₅₀ de 230 µg.L⁻¹. Ferraz et al. (2011) avaliaram a toxicidade dos azo corantes *Disperse Red 1* e *Disperse Red 13* em ensaios utilizando *D. similis*, tendo concluído que ambos os corantes são muito tóxicos: o corante *Disperse Red 1* resultou em CE₅₀ de 127 µg.L⁻¹ enquanto o CE₅₀ do *Disperse Red 13* foi 18,7 µg.L⁻¹.

5.1.3. Avaliação da toxicidade aguda do azo corante DR343 não tratado para *D. rerio* (zebrafish)

Os efeitos letais das diferentes concentrações das dispersões do corante DR343 sobre embriões e larvas de *zebrafish* foram avaliados em diferentes intervalos de tempo (24, 48, 72 e 96 h). Os dados estão apresentados na Figura 11.

Figura 11 - Taxa de sobrevivência de embriões e larvas de *zebrafish* expostos a dispersões de diferentes concentrações (mg.L^{-1}) do corante DR343. As barras de erro representam o desvio padrão de três replicatas. NC é o controle negativo.



O corante DR343 não tratado apresentou-se relativamente não tóxico para *zebrafish* (*Danio rerio*) nos estágios iniciais de vida, com valores de $CL_{50} > 100 \text{ mg.L}^{-1}$ em 96 h de exposição. Rocha et al. (2017), estudando a toxicidade do azo corante *Acid Black 210*, também observou baixa toxicidade deste para *zebrafish*, após 144 horas de exposição a concentrações de até 100 mg.L^{-1} . De modo semelhante, Shen et al. (2015) encontrou valores de CL_{50} de $476,84 \text{ mg.L}^{-1}$ e 2500 a 2800 mg.L^{-1} para os corantes azo corantes *Direct Red 28* e *Acid Red 26*, respectivamente, após 120 h de exposição a embriões/ larvas de *zebrafish*.

A baixa toxicidade do azo corante DR343 é, entretanto, atípica, uma vez que existem inúmeros relatos da toxicidade de corantes têxteis de características similares. Oliveira et al. (2015) também utilizaram embriões/lavras de *zebrafish* para avaliar o potencial de toxicidade de quatro corantes têxteis (*Direct Black 38*, *Reactive Blue 15*, *Reactive Orange 16* e *Vat Green 3*). Estes autores observaram que todos os corantes testados apresentaram efeitos subletais para os embriões de *zebrafish*. Apesar da baixa toxicidade do corante DR343 nos ensaios de fitotoxicidade e toxicidade aguda para *A. salina* e *D. rerio* realizados, é importante desenvolver métodos adequados para

a remoção do corante, haja visto que tratamentos inadequados podem gerar subprodutos tóxicos. Deve-se considerar também análise individual dos corantes e que os corantes, quando lançados na natureza, podem causar efeitos deletérios e diferentes em vários níveis da cadeia alimentar (toxicidade espécie-específica) (CONAMA, 2011; FERRAZ et al., 2013, 2011; GUPTA; SUHAS, 2009; MANSOUR et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2010; SRINIVASAN; VIRARAGHAVAN, 2010).

5.2. Tratamento Fenton

5.2.1. Decomposição de DR343 por Fenton

A Tabela 7 apresenta os valores referentes ao percentual de decomposição do corante DR343 e a concentração residual de H₂O₂ para cada ensaio previsto no planejamento Box-Behnken.

Tabela 7 – Decomposição percentual do corante DR343 e quantidade de H₂O₂ residual segundo a matriz do planejamento Box-Behnken, aplicada ao tratamento das amostras com reagente de Fenton.

Teste	pH	[Fe ²⁺] (mmol.L ⁻¹)	[H ₂ O ₂] (mmol.L ⁻¹)	Tempo (min)	Decomposição Corante (%)	H ₂ O ₂ Residual (%)
1	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	5 (-)	22,8	1,8
2	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	5 (-)	91,1	1,5
3	3,5 (0)	0,10 (-)	0,5 (-)	30 (0)	25,2	0
4	3,0 (-)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	94,6	0
5	4,0 (+)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	14,4	0
6	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	29,7	0
7	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
8	3,0 (-)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	37,9	0
9	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	55 (+)	91,7	0
10	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	100	0
11	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	55 (+)	13,5	3,8
12	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	55 (+)	100	0
13	4,0 (+)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
14	3,5 (0)	0,40 (+)	0,5 (-)	30 (0)	100	0
15	3,0 (-)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	98,5	1,6
16	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
17	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	100	0
18	3,5 (0)	0,10 (-)	4,5 (+)	30 (0)	8,9	7,4
19	3,5 (0)	0,40 (+)	4,5 (+)	30 (0)	100	0
20	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	100	2,3

21	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	5 (-)	100	0
22	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
23	4,0 (+)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	100	1,8
24	4,0 (+)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	5,8	3,4
25	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	5 (-)	9,7	0
26	3,0 (-)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	7,4	2,1
27	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	55 (+)	100	0

É possível observar na Tabela 7 que a decomposição do corante esteve na faixa entre 5,8 e 100%. Os dados dos ensaios de oxidação avançada realizados sob diferentes condições foram submetidos a análise de variância e seus parâmetros estão apresentados na Tabela 8; os fatores significativos estão destacados em vermelho ($p < 0,05$).

Tabela 8 - Análise de variância ajustada dos dados de decomposição do corante DR343 em testes Fenton

Fator*	SQ	gl	MQ	F	Valor p (prob > F)
Modelo	27132,70	6	4522,12	5,86	0,00120
(A) pH	226,20	1	226,20	0,29	0,59410
(B) [Fe ²⁺]	14749,04	1	14749,04	19,12	0,00030
(C) [H ₂ O ₂]	1393,21	1	1393,21	1,81	0,19400
(D) Tempo	10,64	1	10,64	0,014	0,90770
BD	2480,04	1	2480,04	3,22	0,08810
B ²	8273,57	1	8273,57	10,73	0,00380
Residual	15427,74	20	771,39		
Falta de Ajuste	15427,74	18	857,10		
Erro Puro	0,000	2,000	0,000		
Cor Total	42560,44	26,000			

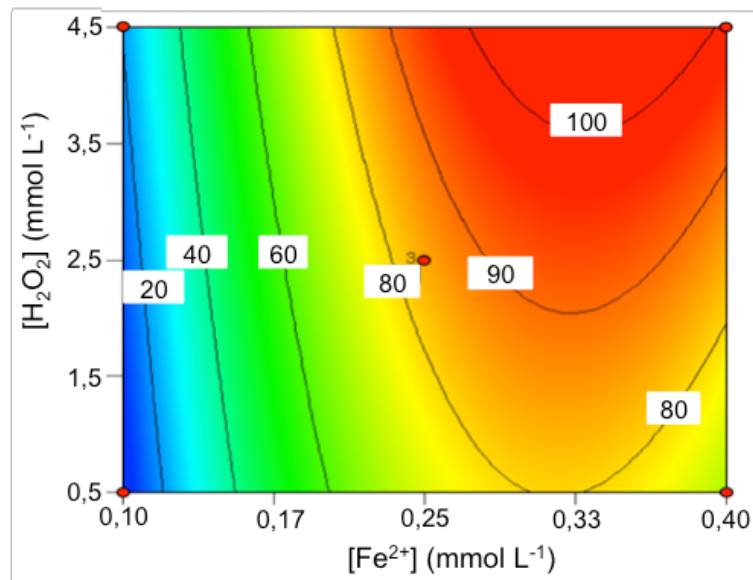
*SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; F: Razão modelo/erro; p: significância; Cor total: totais corrigidos para a média.

Pode-se constatar que o modelo de regressão relativo à decomposição do corante DR343 foi significativo ($p < 0,05$). Foi possível verificar também que apenas a variável [Fe²⁺] mostrou ser significativa, em seus termos linear e quadrático ($p < 0,05$, Tabela 8), apresentando efeito positivo sobre a decomposição do corante. A análise individual dos percentuais de decomposição do corante mostrou que em todos os testes em que foram utilizadas baixas concentrações de Fe²⁺ houve reduzida

decomposição. A influência significativa da concentração de Fe^{2+} pode ser explicada pelo seu papel decisivo como catalisador na reação de Fenton (KAVITHA; PALANIVELU, 2004; NIDHEESH; GANDHIMATHI; RAMESH, 2013; RAO et al., 2016).

A Figura 12 mostra o gráfico de contorno da decomposição do corante em função das variáveis independentes $[\text{Fe}^{2+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$. Pode-se notar que a concentração de Fe^{2+} apresenta efeito quadrático, com mudança nítida na inclinação quando o nível desta variável é alterado de 0 para 1 indicando graficamente que a $[\text{Fe}^{2+}]$ no menor nível é insuficiente para que o mesmo exerça um efeito catalisador adequado no meio reacional.

Figura 12 - Gráfico de contorno da decomposição percentual do corante DR343 em função das variáveis $[\text{Fe}^{2+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$.



Conforme pode ser observado na Figura 12, mesmo quando a concentração de Fe^{2+} esteve no maior nível, a decomposição do corante foi apenas parcial sob reduzida concentração de H_2O_2 ; este comportamento foi relatado por outros autores que afirmaram que baixas concentrações de H_2O_2 resultam em oxidação incompleta de moléculas orgânicas no sistema Fenton, podendo, conseqüentemente, ocasionar a formação de subprodutos mais tóxicos que as moléculas originais (CHAMARRO; MARCO; ESPLUGAS, 2001; CHEQUER et al., 2011).

No processo Fenton, quando o íon Fe^{2+} está presente em excesso no meio, o catalisador exerce um efeito de captura de hidroxilas, o que diminui levemente a eficiência de decomposição do corante (ARSLAN-ALATON; TURELI; OLMEZ-HANCI, 2009). Essa redução é observada na Figura 12 em níveis onde há menores concentrações de H_2O_2 e maiores concentrações de Fe^{2+} , condição em que há elevada relação $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$. No entanto, quando a $[\text{H}_2\text{O}_2]$ é aumentada, tal efeito não foi significativo.

As variáveis tempo e pH não influenciaram significativamente a decomposição do corante. Mesmo nos níveis mínimos de tempo utilizados pelo estudo (5 minutos), observou-se elevados índices de remoção de cor. RAO et al. (2016) também notou descoloração completa da solução do corante *Brillant Green* em 5 minutos de reação do tipo Fenton.

5.2.2. Peróxido de hidrogênio residual - Fenton

Monitorar a concentração de H_2O_2 presente no final do tempo pré-estabelecido para os ensaios Fenton é importante, pois o H_2O_2 adicionado no início do experimento, diferentemente dos íons de Fe^{2+} , é consumido de forma irreversível durante o progresso da reação. Desta forma, a avaliação do consumo desse reagente permite otimizar a oxidação da matéria orgânica, de modo que o H_2O_2 não seja o reagente limitante, tampouco esteja presente em quantidades excessivas, o que pode prejudicar a eficiência do tratamento e aumentar os custos do processo.

A Tabela 7 mostra a concentração de H_2O_2 residual nas condições do planejamento fatorial. É possível constatar que em 18 das 27 amostras testadas não foi detectado H_2O_2 residual. Dentre as 9 amostras restantes, o maior valor encontrado foi 7,4% (teste 18, preparado com níveis mínimos de catalisador e máximos de H_2O_2

inicial). A Tabela 9 apresenta os resultados de ANOVA para a concentração de H₂O₂ residual, estando os fatores significativos ($p < 0,05$) destacados em vermelho.

Tabela 9 - Análise de variância ajustada ao modelo polinomial quadrático referente a [H₂O₂] residual (%) nos ensaios de decomposição do corante DR343 em testes Fenton.

Fator*	SQ	GI	MQ	F	Valor p (prob > F)
Modelo	62,66	6	10,44	14,27	<0,0001
(A) pH	0,05	1	0,05	0,073	0,7899
(B) Fe	28,52	1	28,52	38,99	<0,0001
(C) H ₂ O ₂	12,61	1	12,61	17,23	0,0005
(D) Tempo	0,27	1	0,27	0,37	0,5503
BC	13,69	1	13,69	18,71	0,0003
B ²	7,51	1	7,51	10,27	0,0044
Residual	14,63	20	0,73		
Falta de Ajuste	14,63	18	0,81		
Erro Puro	0,000	2,000	0,000		
Cor Total	77,29	26,000			

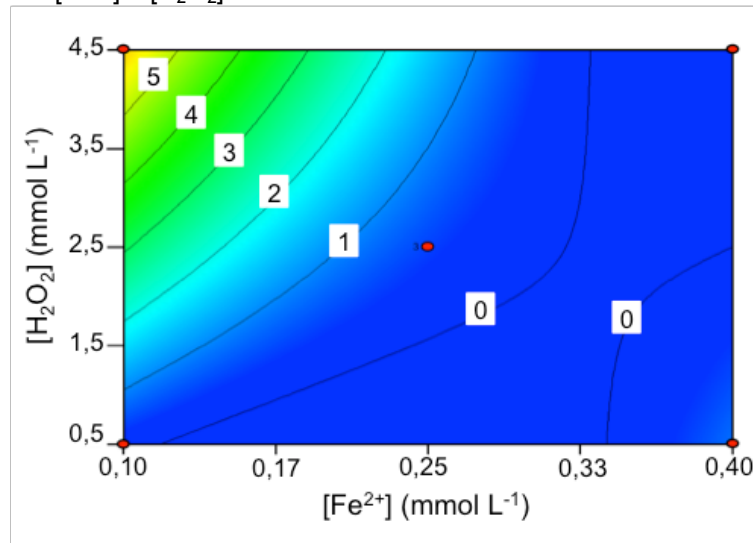
*SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; F: Razão modelo/erro; p : significância; Cor total: totais corrigidos para a média.

O modelo de regressão e as variáveis [Fe²⁺] e [H₂O₂] foram significativos ($p < 0,05$). O aumento na concentração de Fe²⁺ diminuiu a concentração residual de agente oxidante, enquanto que um incremento na concentração de H₂O₂ inicial foi responsável por aumento na concentração de H₂O₂ residual. Tais resultados estão de acordo com a literatura, que mostra que a maior presença de catalisador (Fe²⁺) no sistema reacional leva à maior decomposição catalítica do H₂O₂ no meio, ao passo que quanto maior a concentração inicial de H₂O₂, maior sua concentração residual (LIN; LO, 1997; NEYENS; BAEYENS, 2003).

A interação entre [Fe²⁺] e [H₂O₂] também foi significativa. Quando os níveis das duas variáveis foram aumentados em conjunto, notou-se a redução da quantidade de H₂O₂ residual. Este aspecto se justifica pelo comportamento do catalisador Fe²⁺ no sistema, que é regenerado continuamente e fica disponível para decompor

irreversivelmente o H_2O_2 presente. Desta forma, seu aumento se sobrepõe à elevação da concentração inicial do agente oxidante no meio, como demonstrado na Figura 13.

Figura 13 - Gráfico de contorno de resposta para a concentração percentual de H_2O_2 residual em função dos níveis das variáveis $[\text{Fe}^{2+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ em sistema Fenton.



Adicionalmente, verificou-se que a variável $[\text{Fe}^{2+}]$ apresentou efeito quadrático significativo (Tabela 9). O ponto de inflexão, próximo ao ponto central do planejamento, sugeriu que a maior decomposição do H_2O_2 pode ser resultado da varredura de radicais hidroxila pelos íons de ferro presentes (reação IV), o que é prejudicial à eficiência da decomposição da matéria orgânica presente (KUŠIĆ; LONČARIĆ BOŽIĆ; KOPRIVANAC, 2007).

A variável pH não apresentou efeito significativo na concentração residual de H_2O_2 (Tabela 9), uma vez que o H_2O_2 revelou-se estável na faixa de pH utilizada nos ensaios. O tempo de reação também não afetou significativamente a resposta em questão. Ramirez et al. (2005) discutiram que os íons Fe^{2+} reagem muito rapidamente com o peróxido de hidrogênio e essa reação produz grandes quantidades de radicais hidroxila, consumindo rapidamente o peróxido de hidrogênio presente em solução.

5.2.3. Avaliação da toxicidade - Fenton

No presente estudo, a toxicidade aguda das amostras de DR343 tratadas foi avaliada por meio de testes utilizando o microcrustáceo *A. salina* (USEPA, 2002). Na Tabela 10 são apresentados os valores dos testes de toxicidade realizados com este organismo (% de mortalidade em 24 h).

Tabela 10 – Efeitos de fatores e níveis do delineamento Box-Behnken na mortalidade de *Artemia salina* nos testes Fenton.

Teste	pH	[Fe ²⁺] (mmol.L ⁻¹)	[H ₂ O ₂] (mmol.L ⁻¹)	Tempo (min)	Mortalidade <i>A. salina</i> 24 h (%)
1	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	5 (-)	5
2	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	5 (-)	25
3	3,5 (0)	0,10 (-)	0,5 (-)	30 (0)	10
4	3,0 (-)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	15
5	4,0 (+)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	15
6	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	30
7	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	20
8	3,0 (-)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	0
9	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	55 (+)	25
10	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	30
11	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	55 (+)	45
12	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	55 (+)	35
13	4,0 (+)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	15
14	3,5 (0)	0,40 (+)	0,5 (-)	30 (0)	10
15	3,0 (-)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	25
16	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	5
17	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	5
18	3,5 (0)	0,10 (-)	4,5 (+)	30 (0)	0
19	3,5 (0)	0,40 (+)	4,5 (+)	30 (0)	10
20	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	10
21	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	5 (-)	5
22	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	20
23	4,0 (+)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	5
24	4,0 (+)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	5
25	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	5 (-)	5
26	3,0 (-)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	0
27	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	55 (+)	10

As diferentes condições do planejamento ocasionaram mortalidade, após 24 h de exposição às dispersões tratadas, entre 0% e 45%. A Tabela 11 exhibe os resultados

de ANOVA para essa resposta. Os fatores significativos estão destacados em vermelho.

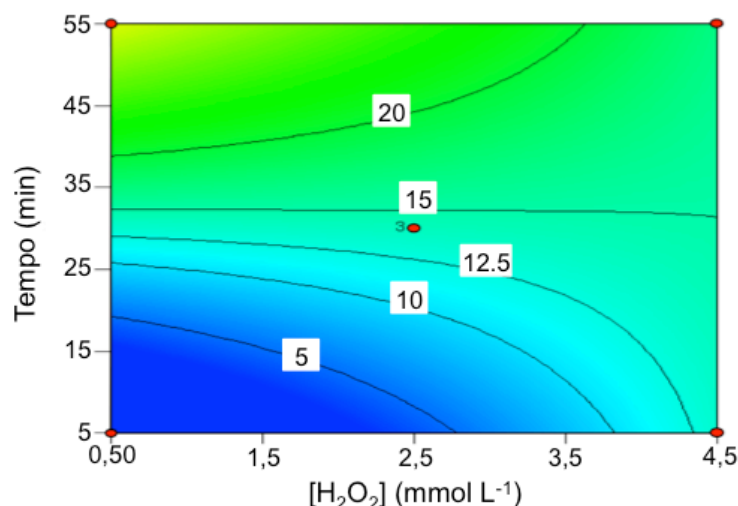
Tabela 11 - Análise de variância ajustada ao modelo polinomial quadrático referente ao teste de mortalidade de *Artemia salina* (24 h) em amostras resultantes dos ensaios de decomposição do corante DR343 em testes Fenton.

Fator*	SQ	GI	MQ	F	Valor p (prob > F)
Modelo	2323,53	6	387,25	4,75	0,0037
(A) pH	33,33	1	33,33	0,41	0,5298
(B) Fe	33,33	1	33,33	0,41	0,5298
(C) H ₂ O ₂	2,08	1	2,08	0,026	0,8746
(D) Tempo	1302,08	1	1302,08	15,97	0,0007
CD	506,25	1	506,25	6,21	0,0216
D ²	446,45	1	446,45	5,48	0,0298
Residual	1630,77	20	81,54		
Falta de Ajuste	1510,10	18	83,89	1,39	0,4994
Erro Puro	120,670	2,000	60,330		
Cor Total					

*SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; F: Razão modelo/erro; p: significância; Cor total: totais corrigidos para a média.

O modelo de regressão para mortalidade de *A. salina* (24 h), em processo catalisado por Fe²⁺, foi significativo ($p < 0,05$). A análise estatística mostrou que um aumento no tempo de reação elevou significativamente a mortalidade das artemias. A Figura 14 apresenta o gráfico de contorno para a mortalidade de *A. salina* em função da concentração de peróxido de hidrogênio e do tempo reacional.

Figura 14 - Gráfico de contorno para a mortalidade percentual de *Artemia salina* (24 h) em função da interação entre as variáveis $[\text{Fe}^{2+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ em sistema Fenton.



Foi possível perceber que a mortalidade foi menor em tempos de reação mais curtos, entre 5 e 30 minutos. Intervalos de tempo mais elevados, entre 35 e 55 minutos, foram associados a um aumento da mortalidade. Como houve completa descoloração na maior parte das amostras testadas, a mortalidade identificada pode ter sido ocasionada pela formação de subprodutos de oxidação mais tóxicos, em tempos reacionais distintos, quando comparados ao corante DR343 não-tratado (ver seção 5.1).

O mesmo comportamento foi relatado na literatura por Chequer et al. (2015), Leite et al. (2016) e Marson et al. (2017). Esses autores discutiram que as remoções rápidas de cor em processos tipo Fenton não garantem completa mineralização dos compostos orgânicos presentes, havendo necessidade de maiores tempos reacionais para que haja completa mineralização (NEYENS; BAEYENS, 2003; RAMIREZ; COSTA; MADEIRA, 2005).

A interação entre os fatores tempo e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ também foi significativa ($p < 0,05$) e sugeriu que menores tempos reacionais resultaram em menor formação de produtos de decomposição tóxicos e, ao se elevar concomitantemente a concentração de H_2O_2 e o tempo de reação, houve contato mais prolongado entre os radicais hidroxila e as

moléculas orgânicas, possibilitando a formação de subprodutos de mais elevada toxicidade (MARSON et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2010).

5.3. Tratamento Fenton-*like*

5.3.1. Degradação de DR343 por Fenton-*like*

Na Tabela 12 estão apresentados os valores referentes ao percentual de decomposição do corante DR343 e à concentração residual de H₂O₂ para cada ensaio previsto no planejamento Box-Behnken utilizando catalisador Fe³⁺.

Tabela 12 - Decomposição percentual do corante DR343 e quantidade de H₂O₂ residual segundo a matriz do planejamento Box-Behnken, aplicada ao tratamento de amostras com reagente Fenton-*like*.

Teste	pH	[Fe ³⁺] (mmol.L ⁻¹)	[H ₂ O ₂] (mmol.L ⁻¹)	Tempo (min)	Decomposição Corante (%)	H ₂ O ₂ Residual (%)
1	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	5 (-)	22,5	0
2	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	5 (-)	100	3,1
3	3,5 (0)	0,10 (-)	0,5 (-)	30 (0)	12,9	0
4	3,0 (-)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
5	4,0 (+)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	81,3	0
6	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	100	0
7	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
8	3,0 (-)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	87,6	0
9	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	55 (+)	100	0
10	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	100	0
11	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	55 (+)	6,9	3,5
12	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	55 (+)	100	0
13	4,0 (+)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
14	3,5 (0)	0,40 (+)	0,5 (-)	30 (0)	100	0
15	3,0 (-)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	100	1,3
16	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
17	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	100	0
18	3,5 (0)	0,10 (-)	4,5 (+)	30 (0)	14,2	6,1
19	3,5 (0)	0,40 (+)	4,5 (+)	30 (0)	100	2,6
20	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	100	0
21	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	5 (-)	100	0
22	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	100	0
23	4,0 (+)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	60,3	4,1
24	4,0 (+)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	11,4	0
25	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	5 (-)	100	0
26	3,0 (-)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	22,1	1,6
27	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	55 (+)	100	2,6

É possível observar na Tabela 12 que a decomposição do corante após tratamento pelo processo Fenton-*like* esteve na faixa entre 6,9 e 100%; os dados foram submetidos a análise de variância e seus parâmetros estão apresentados na Tabela 13. Os fatores significativos estão destacados em vermelho ($p < 0,05$).

Tabela 13 - Análise de variância ajustada dos dados de decomposição do corante DR343 em testes Fenton-*like*.

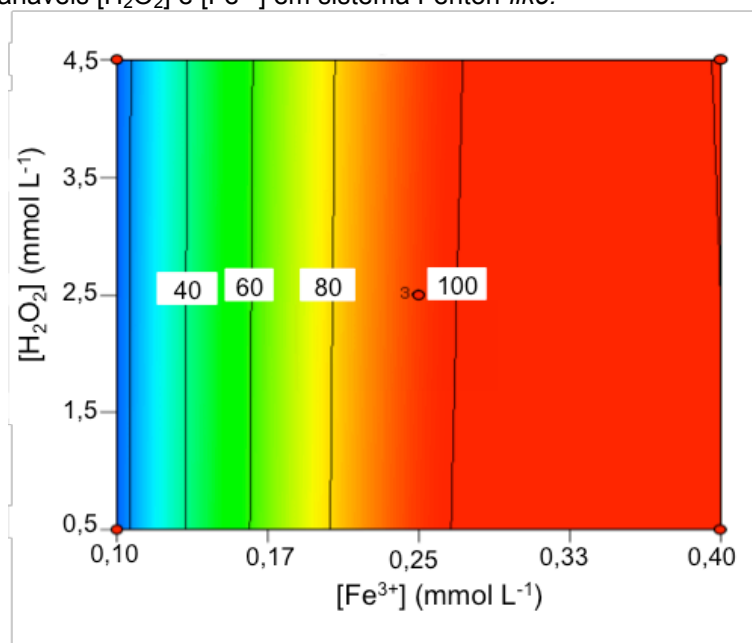
Fator*	SQ	gl	MQ	F	Valor p (prob > F)
Modelo	31749,22	6	5291,54	77,58	<0,0001
(A) pH	267,91	1	267,91	3,93	0,06140
(B) Fe ³⁺	21666,50	1	21666,50	317,67	<0,0001
(C) H ₂ O ₂	4,32	1	4,32	0,063	0,80390
(D) Tempo	20,28	1	20,28	0,3	0,59160
AC	278,89	1	278,89	4,09	0,05670
B ²	9511,33	1	9511,33	139,45	<0,0001
Residual	1364,09	20	66,20		
Falta de Ajuste	1364,09	18	75,78		
Erro Puro	0,000	2,000	0,000		
Cor Total	33133,32	26,000			

*SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; F: Razão modelo/erro; p: significância; Cor total: totais corrigidos para a média.

Pode-se constatar que o modelo de regressão relativo à decomposição do corante DR343 é significativo ($p < 0,05$). Apenas a variável [Fe³⁺] mostrou-se significativa em um nível de 5%, em seus termos lineares e quadráticos, em relação à resposta em questão.

Similarmente ao observado com o catalisador Fe²⁺, quando foram empregadas concentrações reduzidas de Fe³⁺ observou-se menor decomposição do corante. À medida que a concentração de Fe³⁺ aumentou, a decomposição do corante também aumentou, até que 100% de descoloração foi observada em níveis intermediários de concentração de Fe³⁺ (Figura 15). A influência significativa da concentração de Fe³⁺ também pode ser explicada por seu papel decisivo como catalisador na reação Fenton-*like*, conforme descrito pela reação III e relatado em outros trabalhos (KUŠIĆ; LONČARIĆ BOŽIĆ; KOPRIVANAC, 2007; RAO et al., 2016).

Figura 15 - Gráfico de contorno para a decomposição percentual do corante DR343 em função da interação entre as variáveis $[H_2O_2]$ e $[Fe^{3+}]$ em sistema Fenton-like.



De acordo com Kušić et al. (2006) e Peralta-Hernández et al. (2008), o excesso de íons Fe^{3+} pode ocasionar um decréscimo no rendimento dos processos oxidativos devido à competição do catalisador pelos radicais hidroxila formados. No entanto, no presente trabalho, esse efeito não foi observado (Figura 15).

A interação entre pH e $[H_2O_2]$ influenciou a decomposição do corante num nível de significância de 10%. Quando ambas as variáveis estavam em seus níveis mais altos, percebeu-se uma redução na eficiência de decomposição do corante. Este efeito foi devido, possivelmente, ao deslocamento do equilíbrio da reação (PIGNATELLO, 1992).

O tempo em que as amostras permaneceram em reação não impactou significativamente a decomposição do corante, que foi elevada mesmo nos menores intervalos de tempo (5 minutos). Malik e Saha (2003), em seus estudos de oxidação avançada dos corantes *Direct Blue 2B* e *Direct Red 12B*, também observaram que curtos intervalos de tempo são suficientes para degradar a maior parte dos corantes presentes no meio.

5.3.2. Peróxido de hidrogênio residual - Fenton-like

A Tabela 12 mostra que em 19 das 27 amostras testadas não foi detectado nenhum peróxido de hidrogênio residual ao final do período reacional. Dentre as 8 amostras que continham H₂O₂ residual, o maior valor encontrado foi 6,1% no teste 18. No processo catalisado por Fe²⁺ foi detectado maior valor percentual de H₂O₂ residual sob as mesmas condições (teste 18). Neste ensaio houve utilização de níveis mínimos de catalisador Fe³⁺ e máximos de H₂O₂, impedindo o conversão eficiente de H₂O₂ durante a reação (NEYENS; BAEYENS, 2003) .

A Tabela 14 mostra os resultados de ANOVA para a resposta concentração de H₂O₂ residual nos ensaios Fenton-like (Fe³⁺). Os fatores significativos estão destacados em vermelho.

Tabela 14 - Análise de variância ajustado ao modelo polinomial quadrático referente ao H₂O₂ residual (%) presente após ensaios de degradação do corante DR343 em testes Fenton-like.

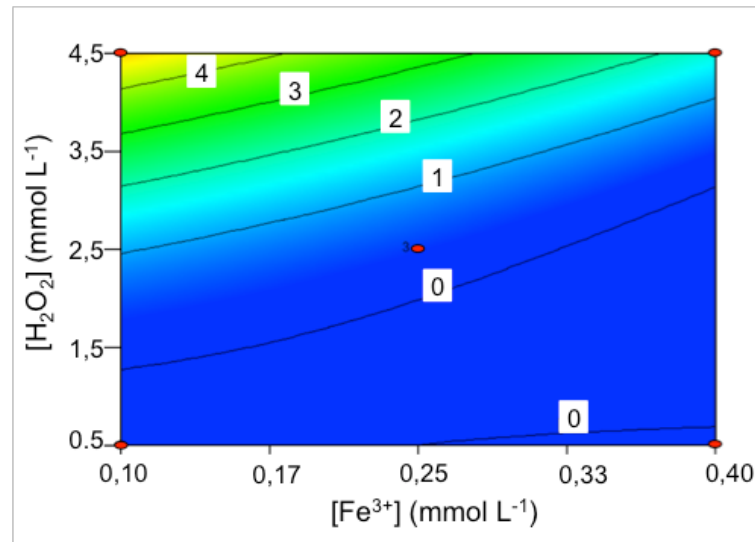
Fator*	SQ	gl	MQ	F	Valor p (prob > F)
Modelo	57,27	7	8,18	11,59	<0,0001
(A) pH	0,12	1	0,12	0,17	0,6848
(B) Fe	6,16	1	6,16	8,73	0,0081
(C) H ₂ O ₂	32,67	1	32,67	46,26	<0,0001
(D) Tempo	0,75	1	0,75	1,06	0,3157
BC	3,06	1	3,06	4,34	0,0511
BD	3,06	1	3,06	4,34	0,0511
C ²	11,44	1	11,44	16,2	0,0007
Residual	13,42	19	0,71		
Falta de Ajuste	13,42	17	0,79		
Erro Puro	0,000	2,000	0,000		
Cor Total	70,69	26,000			

*SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; F: Razão modelo/erro; p: significância; Cor total: totais corrigidos para a média.

O modelo de regressão para a avaliação da concentração de H₂O₂ residual foi significativo em um nível de 5% ($p < 0,05$). As variáveis [Fe³⁺] e [H₂O₂] mostraram ser significativas para essa resposta ($p < 0,05$); a significância estatística de ambos os fatores pode ser explicada pelo papel fundamental exercido pelo catalisador (Fe³⁺) no

consumo do agente oxidante (H_2O_2), como descrito na reação III. Conforme ilustrado na Figura 16, os níveis máximos de $[\text{H}_2\text{O}_2]$ residual foram observados quando foram utilizadas as mais altas concentrações de H_2O_2 e, concomitantemente, as mais baixas concentrações de $[\text{Fe}^{2+}]$ previstas no planejamento.

Figura 16 - Gráfico de contorno para a concentração percentual de H_2O_2 residual, em função da interação entre as variáveis $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ em sistema Fenton-like.



Interações entre as variáveis $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]$ e $[\text{Fe}^{3+}]$ e tempo foram observadas em um nível de significância de 10%. A interação entre o catalisador e o agente oxidante apresentou efeito negativo, mostrando que uma das variáveis reduz o efeito da outra sobre a resposta estudada. Por sua vez, o aumento no tempo reacional permitiu maior regeneração do catalisador, resultando em maior consumo de H_2O_2 no sistema. O pH, individualmente, não influenciou de maneira significativa o modelo, que pode ser atribuído a estabilidade do H_2O_2 na faixa de pH utilizado nos ensaios. Comportamento semelhante foi observado por Ramirez; Costa; Madeira (2005) em estudos de otimização para degradação do azo corante *Orange 2* por Fenton.

5.3.3. Avaliação da toxicidade - Fenton-like

Na Tabela 15 estão apresentados os valores dos testes de toxicidade para *Artemia salina* (% de mortalidade em 24 h).

Tabela 15 – Efeito dos fatores e níveis do delineamento Box-Behnken na mortalidade de *Artemia salina* nos testes Fenton-like.

Teste	pH	[Fe ³⁺] (mol.L ⁻¹)	[H ₂ O ₂] (mol.L ⁻¹)	Tempo (min)	Mortalidade <i>Artemia salina</i> 24 h (%)
1	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	5 (-)	5
2	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	5 (-)	20
3	3,5 (0)	0,10 (-)	0,5 (-)	30 (0)	5
4	3,0 (-)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	5
5	4,0 (+)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	0
6	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	0
7	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	15
8	3,0 (-)	0,25 (0)	0,5 (-)	30 (0)	0
9	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	55 (+)	0
10	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	55 (+)	0
11	3,5 (0)	0,10 (-)	2,5 (0)	55 (+)	0
12	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	55 (+)	15
13	4,0 (+)	0,40 (+)	2,5 (0)	30 (0)	5
14	3,5 (0)	0,40 (+)	0,5 (-)	30 (0)	20
15	3,0 (-)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	5
16	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	10
17	4,0 (+)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	5
18	3,5 (0)	0,10 (-)	4,5 (+)	30 (0)	0
19	3,5 (0)	0,40 (+)	4,5 (+)	30 (0)	10
20	3,0 (-)	0,25 (0)	2,5 (0)	5 (-)	10
21	3,5 (0)	0,25 (0)	0,5 (-)	5 (-)	5
22	3,5 (0)	0,25 (0)	2,5 (0)	30 (0)	10
23	4,0 (+)	0,25 (0)	4,5 (+)	30 (0)	40
24	4,0 (+)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	0
25	3,5 (0)	0,40 (+)	2,5 (0)	5 (-)	10
26	3,0 (-)	0,10 (-)	2,5 (0)	30 (0)	10
27	3,5 (0)	0,25 (0)	4,5 (+)	55 (+)	25

As diferentes condições do planejamento levaram a percentuais de mortalidade de *A. salina* na faixa entre 0% e 40%. A Tabela 16 apresenta os resultados de ANOVA para os testes de mortalidade. Os fatores significativos estão destacados em vermelho.

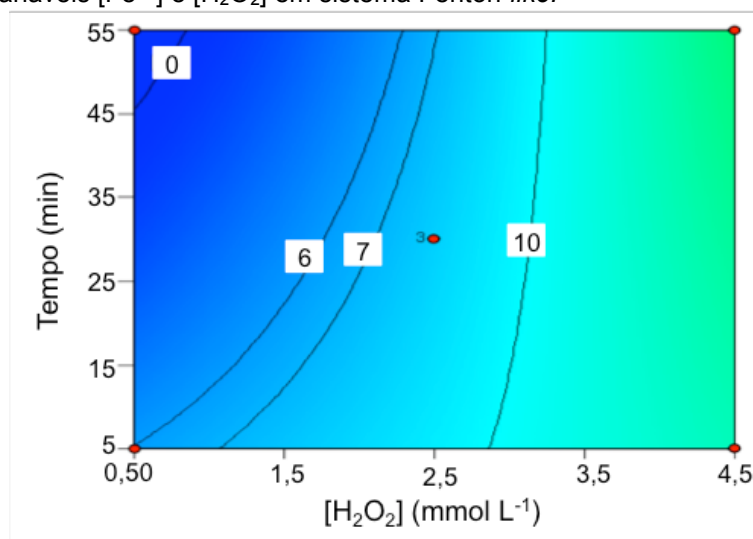
Tabela 16 - Análise de variância ajustada ao modelo polinomial quadrático referente ao teste de mortalidade de *Artemia salina* (24 h) em amostras resultantes dos ensaios de decomposição do corante DR343 em testes Fenton-like.

Fator*	SQ	gl	MQ	F	Valor p (prob > F)
Modelo	1003,50	5	200,70	3,03	0,0328
(A) pH	18,75	1	18,75	0,28	0,6006
(B) Fe	176,33	1	176,33	2,66	0,1179
(C) H ₂ O ₂	408,33	1	408,33	6,16	0,0217
(D) Tempo	0,08	1	0,08	0,00126	0,9721
AC	400,00	1	400,00	6,03	0,0229
Residual	1393,17	21	66,34		
Falta de Ajuste	1343,17	19	70,69	2,83	0,2933
Erro Puro	50,00	2	25,00		
Cor Total	2396,670	25			

*SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática; F: Razão modelo/erro; p: significância; Cor total: totais corrigidos para a média.

É possível observar que o modelo de regressão para mortalidade de *A. salina* (24 h), em processo do tipo Fenton-like, foi significativo ($p < 0,05$). A análise estatística demonstrou que o termo linear [H₂O₂] afetou significativamente a resposta. Um aumento na concentração inicial de peróxido de hidrogênio no meio levou a uma diminuição na mortalidade dos náuplios expostos. A Figura 17 ilustra os efeitos da interação entre o tempo e a [H₂O₂] sobre a mortalidade de *A. salina* em 24 h de exposição.

Figura 17 - Gráfico de contorno para a mortalidade percentual de *Artemia salina* (24 h) em função da interação entre as variáveis [Fe³⁺] e [H₂O₂] em sistema Fenton-like.



Diferentemente dos resultados obtidos para as reações do tipo Fenton, no sistema *Fenton-like*, o emprego de tempo reacional mais elevado associado a concentrações reduzidas ou intermediárias de agente oxidante resultaram em níveis reduzidos de toxicidade. Isso pode ser explicado pela provável formação de produtos de degradação diferentes em cada um dos processos (HAO; KIM; CHIANG, 2000; LIU; QIU; HUANG, 2011). É importante salientar que, em ambos os processos testados (Fenton e *Fenton-like*), os índices de mortalidade de náuplios indicaram apenas moderada toxicidade das amostras.

5.4. Otimização

A otimização dos processos Fenton e *Fenton-like* empregados na decomposição do azo corante DR343, bem como a confirmação da validade dos modelos estudados, foram realizadas por meio de dois testes adicionais, um para cada processo, executados em condições experimentais determinadas pela aplicação da função desejabilidade.

5.4.1. Parâmetros de desejabilidade

A análise de desejabilidade foi realizada com vistas a obter remoção total do corante nas amostras, com ausência de H₂O₂ residual, menor tempo reacional possível e mínima toxicidade aguda. As condições operacionais estimadas estão expressas na Tabela 17.

Tabela 17 – Estimativa das condições ótimas para decomposição do azo corante DR343 por processos Fenton e *Fenton-like*.

Variáveis	Fenton	Fenton-like
pH	4,00	3,82
[Fe] mmol L ⁻¹ *	0,33	0,25
[H ₂ O ₂] mmol L ⁻¹	4,50	0,54
Tempo (min)	16,1	9,2
Desejabilidade	0,93	1,00

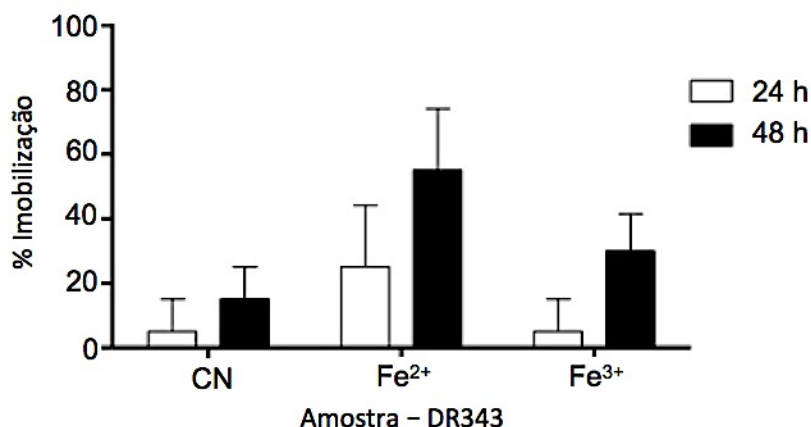
Os testes foram executados sob as condições descritas na Tabela 17 e as amostras resultantes exibiram decomposição total do corante (100%) e ausência de peróxido de hidrogênio residual para ambos os processos, conforme apresentado na Tabela 18. Os valores previstos e observados para mortalidade *A. salina* 24 h também estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Comparação entre resultados previstos e os obtidos na decomposição do corante DR343 sob condições ótimas nos processos Fenton e Fenton-like.

Resposta (%)	Fenton		Fenton-like	
	Previsto	Observado	Previsto	Observado
Degradação DR343	100,0	100,0	100,0	100,0
H ₂ O ₂ residual	0,0	0,0	0,0	0,0
Mortalidade 24 h	5,7	25,0	0,0	5,0

A mortalidade de *A. salina* foi de 25% na amostra tratada via reação de Fenton, que representa um valor mais elevado que o previsto pelo modelo (~5%). Por outro lado, as condições ótimas para o processo Fenton-like resultaram em apenas 5% de mortalidade, valor apenas um pouco maior que o previsto pelo modelo. A toxicidade aguda dessas amostras foi adicionalmente avaliada após 48 h de exposição dos náuplios de *A. salina*. Os resultados estão apresentados na Figura 18.

Figura 18 - Efeitos das dispersões de corante DR343 na mortalidade de *Artemia salina* após tratamento por processos Fenton e Fenton-like realizados sob condições otimizadas. As barras de erro representam o desvio padrão de três replicatas.



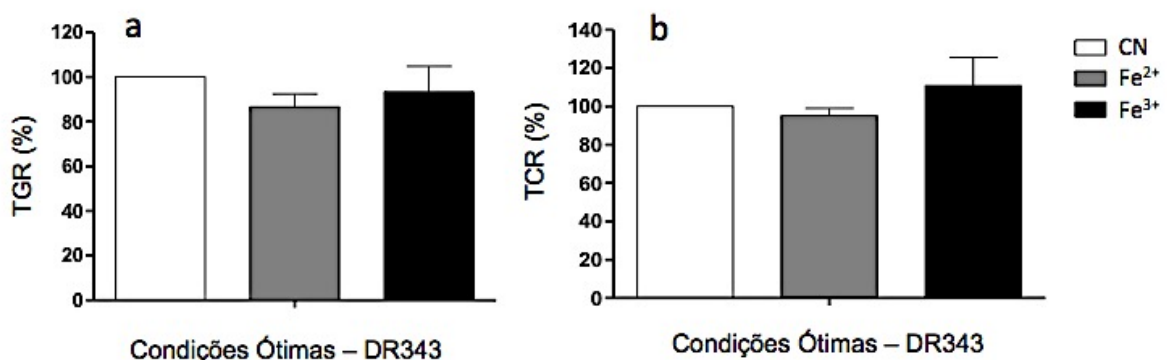
Após 48 h de exposição, a amostra tratada com reagente de Fenton resultou em imobilidade de 55% dos náuplios, frente aos 25% observados em 24h.

Por sua vez, a amostra tratada usando reagente do tipo Fenton-like causou apenas um leve aumento na mortalidade do microcrustáceo em função do aumento no tempo de exposição (Figura 18). É válido ressaltar que a mortalidade da amostra catalisada por Fe^{2+} foi inferior àquela observada após tratamento por Fenton. Luna et al. (2014) relataram 100% de degradação do azo corante *Reactive Black 5* após 8 minutos de tratamento por foto-Fenton, e a solução resultante apresentou-se praticamente não tóxica para *D. similis*. Após 30 minutos de tratamento, no entanto, a toxicidade apresentada foi maior que a do corante não tratado, o que pode ter sido ocasionado pela presença de subprodutos com toxicidade distinta.

O mesmo efeito foi observado por Leite et al. (2016) que reportaram que a toxicidade do azo corante *Disperse Red 1* para *Daphnia similis* foi consideravelmente aumentada em relação às amostras iniciais após tratamento por foto-Fenton, apesar da degradação significativa do corante ao final do processo.

A Figura 19 apresenta os dados de germinação de sementes e de comprimento de raízes de *Lactuca sativa* após exposição às amostras de corante tratadas.

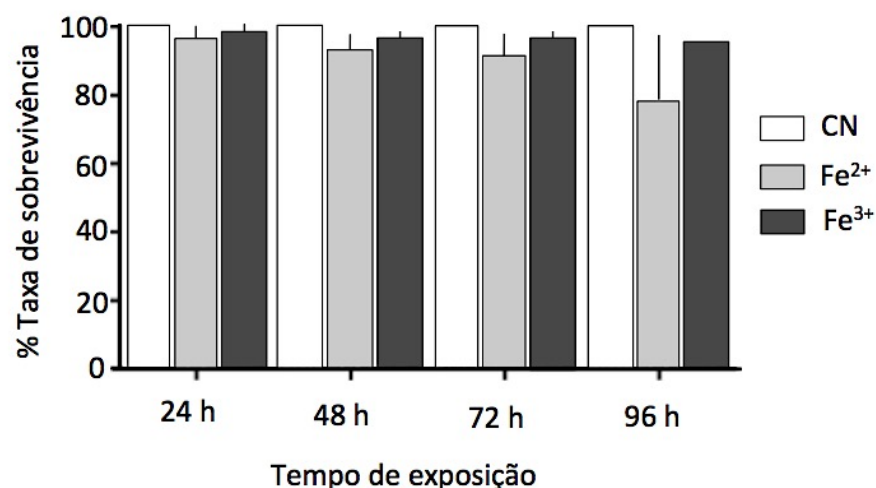
Figura 19 - Taxa de germinação relativa das sementes de alface (TGR) (a) e taxa de comprimento relativo (TCR) das raízes de alface (*L. sativa*) (b) expostas a dispersão de corante DR343 após tratamento pelos processos Fenton (Fe^{2+}) e Fenton-like (Fe^{3+}) realizado sob condições ótimas. As barras de erro representam o desvio padrão de 3 replicatas. CN - controle negativo.



Não foi observada indução de fitotoxicidade após exposição das sementes às amostras tratadas sob condições ótimas em ambos os processos (Fenton e Fenton-like). Saratale et al. (2013), do mesmo modo, constataram a ausência de fitotoxicidade após tratamento de efluente contendo o azo corante *Remazol Red*. Almeida e Corso (2014), também utilizaram sementes de *L. sativa* na avaliação da fitotoxicidade do azo corante *Procion Red MX-5B* antes e após tratamento de bioadsorção e biodegradação. Esses autores observaram redução da toxicidade de 5% para 0% após o tratamento de bioadsorção do corante em *Aspergillus niger*, ao passo que houve aumento da fitotoxicidade da solução após tratamento por biodegradação utilizando *Aspergillus terreus*, mesmo tendo havido completa descoloração neste processo.

A Figura 20 apresenta os dados de toxicidade aguda do azo corante DR343 não tratado e das amostras otimizadas obtidas pelos processos Fenton e Fenton-like em embriões de *zebrafish*. Os embriões/ larvas de *zebrafish* expostos às amostras em 24, 48, 72 e 96 h não apresentaram efeitos letais ou subletais significativos.

Figura 20 - Efeitos letais das dispersões de corante DR 343 em embriões de *zebrafish* após tratamento pelos processos Fenton e Fenton-like realizados sob condições otimizadas. As barras de erro representam o desvio padrão de três replicatas.



Zhang et al. (2014) estudaram o tratamento de efluentes sintéticos contendo o azo corante *Red 3BS* e observaram a ausência de toxicidade aguda nos embriões de

zebrafish após 4 horas de tratamento. Similarmente, Abe et al. (2018) observaram que o corante natural eritromicina, após tratamento por fotodegradação, converteu-se em subprodutos que não apresentaram toxicidade para *zebrafish* em testes de 96h de exposição.

5.4.2. Carbono orgânico total

A quantificação de carbono orgânico total foi realizada nas amostras tratadas sob condições otimizadas para reações de Fenton e Fenton-*like*, assim como na dispersão de corante original (100 mg.L⁻¹). A Tabela 19 apresenta os dados de COT.

Tabela 19 - Carbono orgânico total na dispersão de corante DR343 sem tratamento (100 mg.L⁻¹) e nas amostras tratadas por Fenton e Fenton-*like* em condições otimizadas.

Amostra	COT (mg.L ⁻¹)	Remoção de COT (%)
DR343 (100 mg.L ⁻¹)	50,0	-
Fe ²⁺	24,0	52,0
Fe ³⁺	32,6	34,8

A despeito dos elevados índices de descoloração das amostras tratadas em condições otimizadas, a mineralização máxima atingida foi de 52%. Esse valor foi obtido com o uso do catalisador Fe²⁺. Kušić, Lončarić Božić e Koprivanac (2007), em estudos da degradação de efluente têxtil sintético contendo os corantes *Reactive Blue 49* e *Reactive Blue 137*, observaram efeito semelhante, reportando que o catalisador Fe³⁺ mostrou eficiência significativamente menor na remoção da matéria orgânica quando comparado ao Fe²⁺. De acordo com estes autores, tal efeito indica que a regeneração do Fe³⁺ a partir do ciclo catalítico das reações Fenton-*like*, foi inibida por ligantes orgânicos produzidos durante o tratamento.

Os dados de decomposição do corante DR343 e de carbono orgânico total, indicam a geração de compostos orgânicos não coloridos, intermediários do processo de degradação do corante DR343. De acordo com Ay, Catalkaya e Kargi (2009),

efeitos desta natureza devem-se ao fato de que a remoção completa de cor não requer oxidação completa das moléculas dos corantes, bastando apenas a remoção dos grupamentos cromóforos das moléculas (ligações azo). Para haver completa mineralização dos compostos orgânicos e seus subprodutos é necessário aplicar doses mais elevadas de reagentes que aquelas necessárias para atingir completa descoloração.

Ramirez, Costa e Madeira (2005), em estudo da degradação do azo corante *Orange 2* por Fenton, verificaram forte associação entre a quantidade de peróxido de hidrogênio utilizada e os índices de mineralização do corante. Este efeito também foi observado no presente estudo, uma vez que a reação de Fenton, realizada em condições otimizadas, atingiu 52% de mineralização a partir de concentração inicial de peróxido de hidrogênio de 4,5 mmol.L⁻¹ em 16 minutos, enquanto que na reação *Fenton-like* resultou em mineralização de 34,8% da matéria orgânica, com utilização de 0,54 mmol.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio inicial e 9,2 minutos de reação.

6. CONCLUSÕES

A ecotoxicidade do corante *Disperse Red 343* foi avaliada pela primeira vez e foi observada a ausência tanto de fitotoxicidade em semente de alface quanto de alterações letais e não-letais em embriões de *zebrafish*. Ensaio com o microcrustáceo *A. salina* mostraram que o corante exibe efeito concentração-tempo dependente e é apenas moderadamente tóxico sobre esse organismo. As condições reacionais nos processos de Fenton e Fenton-like foram otimizadas no tratamento das dispersões contendo DR343. A aplicação destas condições levou a 100% de remoção do corante e ausência de $[H_2O_2]$ residual nos meios reacionais. Além disso, as dispersões tratadas não apresentaram toxicidade aguda em testes com sementes de *L. sativa* e com embriões de *zebrafish*. Por fim, foi observada maior mortalidade de *A. salina* nas amostras tratadas com reagente de Fenton em comparação àquelas tratadas por Fenton-like. Ensaio de COT mostraram que a reação de Fenton removeu com maior eficiência o material orgânico do meio, formando subprodutos mais tóxicos. O conjunto do esforço experimental realizado permite sugerir a diferença entre as rotas reacionais de Fenton e Fenton-like, assim como demonstra a importância da investigação e otimização das condições operacionais para garantir o sucesso do tratamento de azo corantes, em especial do DR343, um material de grande relevância para a indústria têxtil.

7. REFERÊNCIAS

- A. SYCHEV, V. I. Iron compounds and the mechanisms of the homogeneous catalysis of the activation of O₂ and H₂O₂ and of the oxidation of organic substrates. **Russian Chem. Rev.**, v. 65, p. 1105–1129., 1995.
- ABE, F. R. et al. Toxicity of dyes to zebrafish at the biochemical level: Cellular energy allocation and neurotoxicity. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 255–262, 2018.
- AKYOL, A. Treatment of paint manufacturing wastewater by electrocoagulation. **Desalination**, v. 285, p. 91–99, 2012.
- ALIZADEH FARD, M. et al. MBR excess sludge reduction by combination of electrocoagulation and Fenton oxidation processes. **Separation and Purification Technology**, v. 120, p. 378–385, 2013.
- ALLOUCHE, J. The sustainability and resilience of global water and food systems: Political analysis of the interplay between security, resource scarcity, political systems and global trade. **Food Policy**, v. 36, n. SUPPL. 1, p. S3–S8, 2011.
- ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, C. R. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*. **Chemosphere**, v. 112, p. 317–322, 2014.
- ALMEIDA, E. J. R. DE. **Estudo de biorremediação dos azo corantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B por fungos filamentosos em solução simples e solução binária associado a testes de toxicidade com *Lactuca sativa* e *Artêmia salina***. [s.l.] Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2013.
- ALMEIDA, É. J. R. DE; DILARRI, G.; CORSO, C. R. **A indústria têxtil no Brasil: Uma revisão dos seus impactos ambientais e possíveis tratamentos para os seus efluentes** Projeto Qualidade da Água - Conexão Água. Rio Claro: [s.n.].
- ANJANEYA, O. et al. Decolorization of sulfonated azo dye Metanil Yellow by newly isolated bacterial strains: *Bacillus* sp. strain AK1 and *Lysinibacillus* sp. strain AK2. **Journal of Hazardous Materials**, v. 190, n. 1–3, p. 351–358, 2011.
- ANOTAI, J. et al. Comparison of o-toluidine degradation by Fenton, electro-Fenton and photoelectro-Fenton processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 196, p. 395–401, 2011.
- ANTONIN, V. S. et al. Degradation of Evans Blue diazo dye by electrochemical processes based on Fenton's reaction chemistry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 747, p. 1–11, 2015.
- APHA. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 20th. ed. [s.l.] Water Environment Federation, 1998.
- ARENZON, A.; NETO, T. J. P.; GERBER, W. **Manual sobre toxicidade em efluentes industriais**. Porto Alegre: CODEMA, 2011.
- ARNOLD, S. M.; HICKEY, W. J.; HARRIS, R. F. Degradation of Atrazine by Fentons Reagent - Condition Optimization and Product Quantification. **Environmental Science & Technology**, v. 29, n. 8, p. 2083–2089, 1995.
- ARORA, S. Textile Dyes : It ' s Impact on Environment and its Treatment. v. 5, n. 3, p. 6199, 2014.
- ARORA, S.; SAINI, H. S.; SINGH, K. Biological decolorization of industrial dyes by *Candida tropicalis* and *Bacillus firmus*. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 4, p.

761–768, 2011.

ARSLAN-ALATON, I. Degradation of a commercial textile biocide with advanced oxidation processes and ozone. **Journal of Environmental Management**, v. 82, n. 2, p. 145–154, Jan. 2007.

ARSLAN-ALATON, I.; TURELI, G.; OLMEZ-HANCI, T. Treatment of azo dye production wastewaters using Photo-Fenton-like advanced oxidation processes: Optimization by response surface methodology. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 202, n. 2–3, p. 142–153, 2009.

AY, F.; CATALKAYA, E. C.; KARGI, F. A statistical experiment design approach for advanced oxidation of Direct Red azo-dye by photo-Fenton treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, n. 1, p. 230–236, 2009.

AY, F.; KARGI, F. Advanced oxidation of amoxicillin by Fenton's reagent treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, n. 1–3, p. 622–627, 2010.

BABUPONNUSAMI, A.; MUTHUKUMAR, K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 557–572, 2014.

BAE, J.-S.; FREEMAN, H. S. Aquatic toxicity evaluation of copper-complexed direct dyes to the *Daphnia magna*. **Dyes and Pigments**, v. 73, n. 1, p. 126–132, Jan. 2007.

BALBINOT, F.; KURTZ, J.; MARQUEZE, A. **A utilização do bioindicador Danio Rerio (zebrafish) em estudos de ecotoxicologia aquática** (SEFIC, Ed.) X Semana Científica Unilasalle. **Anais... Canoas: Unilasalle**, 2014

BARBUSIŃSKI, K.; MAJEWSKI, J. Discoloration of azo dye acid red 18 by fenton reagent in the presence of iron powder. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 12, n. 2, p. 151–155, 2003.

BARKA, N. et al. Full factorial experimental design applied to oxalic acid photocatalytic degradation in TiO₂ aqueous suspension. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 7, n. 5, p. 752–757, 2014.

BARROS NETO, B. .; SCARMINIO, I. S. .; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: UNICAMP, 2001.

BAUTITZ, I. R. **Degradação de fármacos por processo foto-Fenton e ferro metálico**. Araraquara, SP: UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 26 Feb. 2010.

BENATTI, C. T.; TAVARES, C. R. G. Fenton's process for the treatment of mixed waste chemicals. **Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update**, p. 247–70, 2012.

BERLIN, J. et al. "Inactive" Ingredients in Pharmaceutical Products: Update (Subject Review). **PEDIATRICS**, v. 99, n. 2, p. 268–278, 1 Feb. 1997.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008.

BIANCO, B.; DE MICHELIS, I.; VEGLIÒ, F. Fenton treatment of complex industrial wastewater: Optimization of process conditions by surface response method. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, n. 2–3, p. 1733–1738, 2011.

BIGDA, R. J. Fenton's Chemistry: An Effective Advanced Oxidation Process. n. June, 1996.

- BOKARE, A. D.; CHOI, W. Review of iron-free Fenton-like systems for activating H₂O₂ in advanced oxidation processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 275, p. 121–135, 2014.
- BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. **Technometrics**, v. 2, n. 4, p. 455–475, Nov. 1960.
- BOX, G. E. P.; DRAPER, N. R. **Empirical model-building and response surfaces**. Oxford, England: John Wiley & Sons, 1987.
- CAI, M. et al. Decolorization of azo dyes Orange G using hydrodynamic cavitation coupled with heterogeneous Fenton process. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 28, p. 302–310, 2015.
- CALISTO, V.; ESTEVES, V. I. Psychiatric pharmaceuticals in the environment. **Chemosphere**, v. 77, n. 10, p. 1257–1274, 2009.
- CATALKAYA, E. C.; KARGI, F. Effects of operating parameters on advanced oxidation of diuron by the Fenton's reagent: A statistical design approach. **Chemosphere**, v. 69, n. 3, p. 485–492, 2007.
- CAVALCANTE, R. P. et al. Application of Fenton, photo-Fenton, solar photo-Fenton, and UV/H₂O₂ to degradation of the antineoplastic agent mitoxantrone and toxicological evaluation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 4, p. 2352–2361, 2013.
- CECON, P. R.; SILVA, A. R. DA. **Introdução à Metodologia de Superfícies de Resposta**. Viçosa - MG: Departamento de Estatística, 2011.
- CHAMARRO, E.; MARCO, A.; ESPLUGAS, S. M. Use of Fenton Reagent To Improve Organic Chemical Biodegradability. v. 35, n. 4, p. 1047–1051, 2001.
- CHEQUER, F. M. D. et al. Analyses of the genotoxic and mutagenic potential of the products formed after the biotransformation of the azo dye Disperse Red 1. **Toxicology in Vitro**, v. 25, n. 8, p. 2054–2063, 2011.
- CHEQUER, F. M. D. et al. The cosmetic dye quinoline yellow causes DNA damage in vitro. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 777, p. 54–61, 2014.
- CHEQUER, F. M. D. et al. The azo dye Disperse Red 13 and its oxidation and reduction products showed mutagenic potential. **Toxicology in Vitro**, v. 29, n. 7, p. 1906–1915, 2015.
- CONAMA. Resolução nº 430/2011. **Publicação DOU**, n. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, p. 8, 2011.
- COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, 2008.
- COSTA, O. S. et al. Proposta de Tratamento para Remoção de Cor da Água Residuária de Indústria Farmacêutica de Cápsulas Coloridas de Gelatina. **Processos Químicos**, p. 13, 2009.
- CRUZ-GONZÁLEZ, K. et al. Determination of optimum operating parameters for Acid Yellow 36 decolorization by electro-Fenton process using BDD cathode. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 1, p. 199–206, 2010.
- CRUZ-GONZÁLEZ, K. et al. Optimization of electro-Fenton/BDD process for decolorization of a model azo dye wastewater by means of response surface

methodology. **Desalination**, v. 286, p. 63–68, 2012.

CUNICO, M. W. M. W. M. et al. Factorial Design: a Valuable Statistical Tool To Define Experimental Parameters Applied in Scientific Research. **Visão Acadêmica**, v. 9, n. 1, p. 23–32, 2008.

DA FONSECA ARAUJO, F. V.; YOKOYAMA, L.; TEIXEIRA, L. A. C. Remoção de cor em soluções de corantes reativos por oxidação com H₂O₂ UV. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 11–14, 2006.

DE ARAÚJO, K. S. et al. Advanced oxidation processes: a review regarding the fundamentals and applications in wastewater treatment and industrial wastewater. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 11, n. 2, p. 387, 15 Apr. 2016.

DE LUNA, L. A. V et al. Aquatic toxicity of dyes before and after photo-Fenton treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 276, p. 332–338, 2014.

DEPEQ. **Têxtil E Confecções**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset_textil_e_confecoes.pdf>.

DOPAR, M.; KUSIC, H.; KOPRIVANAC, N. Treatment of simulated industrial wastewater by photo-Fenton process. Part I: The optimization of process parameters using design of experiments (DOE). **Chemical Engineering Journal**, v. 173, n. 2, p. 267–279, 2011.

EREN, Z. Ultrasound as a basic and auxiliary process for dye remediation: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 104, p. 127–141, 2012.

EVALUATEPHARMA. **World Preview 2015, Outlook to 2020** EvaluatePharma. London: [s.n.].

FAN, X. et al. Fenton-like degradation of nalidixic acid with Fe³⁺/H₂O₂. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 6, p. 3649–3656, 2013.

FENTON, H. J. H. LXXIII.-Oxidation of tartaric acid in presence of iron. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 65, n. 0, p. 899–910, 1894.

FERNADES RÊGO, F. E. et al. Application of electro-Fenton process as alternative for degradation of Novacron Blue dye. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 2, p. 875–880, 2014.

FERRAZ, E. R. A et al. Photoelectrocatalysis based on Ti/TiO₂ nanotubes removes toxic properties of the azo dyes Disperse Red 1, Disperse Red 13 and Disperse Orange 1 from aqueous chloride samples. **Journal of Environmental Management**, v. 124, p. 108–114, 2013.

FERRAZ, E. R. A. et al. Differential toxicity of Disperse Red 1 and Disperse Red 13 in the Ames test, HepG2 cytotoxicity assay, and Daphnia acute toxicity test. **Environmental Toxicology**, v. 26, n. 5, p. 489–497, Oct. 2011.

FERREIRA, A. L. A. et al. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 61–68, 1997.

FLORENZA, X. et al. Degradation of the azo dye Acid Red 1 by anodic oxidation and indirect electrochemical processes based on Fenton's reaction chemistry. Relationship between decolorization, mineralization and products. **Electrochimica Acta**, v. 142, p. 276–288, 2014.

FORGACS, E.; CSERHÁTI, T.; OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. **Environment International**, v. 30, n. 7, p. 953–971, 2004.

GARCIA-SEGURA, S.; BRILLAS, E. Advances in solar photoelectro-Fenton: Decolorization and mineralization of the Direct Yellow 4 diazo dye using an autonomous solar pre-pilot plant. **Electrochimica Acta**, v. 140, p. 384–395, 2014.

GHISELLI, G. et al. Destruction of EDTA using Fenton and photo-Fenton-like reactions under UV-A irradiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 167, n. 1, p. 59–67, 2004.

GIRALDO, A. L. et al. Degradation of the antibiotic oxolinic acid by photocatalysis with TiO₂ in suspension. v. 4, p. 0–9, 2010.

GLAZE, W. H.; KANG, J.-W.; CHAPIN, D. H. **The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation.pdf**, 1987.

GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: Oxidation technologies at ambient conditions. **Advances in Environmental Research**, v. 8, n. 3–4, p. 501–551, 2004.

GUO, Y. et al. Treatment of real benzene dye intermediates wastewater by the Fenton method: characteristics and multi-response optimization. **RSC Advances**, v. 8, n. 1, p. 80–90, 2018.

GUPTA, V. K.; SUHAS. Application of low-cost adsorbents for dye removal – A review. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 8, p. 2313–2342, 2009.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 5, p. 257–265, 2012.

HANJRA, M. A.; QURESHI, M. E. Global water crisis and future food security in an era of climate change. **Food Policy**, v. 35, n. 5, p. 365–377, 2010.

HAO, O. J.; KIM, H.; CHIANG, P.-C. Decolorization of Wastewater. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 30, n. 4, p. 449–505, Oct. 2000.

HERMOSILLA, D. et al. The application of advanced oxidation technologies to the treatment of effluents from the pulp and paper industry: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 168–191, 2014.

HOLKAR, C. R. et al. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. **Journal of Environmental Management**, v. 182, p. 351–366, Nov. 2016.

HOMEM, V.; ALVES, A.; SANTOS, L. Amoxicillin degradation at ppb levels by Fenton's oxidation using design of experiments. **Science of The Total Environment**, v. 408, n. 24, p. 6272–6280, 2010.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, v. 13, n. 5–7, p. 361–377, Jan. 1993.

HURWITZ, G. et al. Photo-assisted electrochemical treatment of municipal wastewater reverse osmosis concentrate. **Chemical Engineering Journal**, v. 249, p. 180–188, 2014.

IQBAL, M. Textile Dyes. p. 167, 2008.

IYER, R.; IKEN, B. Protein engineering of representative hydrolytic enzymes for remediation of organophosphates. **Biochemical Engineering Journal**, v. 94, p. 134–144, 2015.

- JARDIM, W. F.; CANELA, M. C. **Fundamentos da oxidação química no tratamento de efluentes e remediação de solos**. Campinas: UNICAMP, 2004. v. 1
- KANG, Y. W.; HWANG, K. Y. Effects of reaction conditions on the oxidation efficiency in the Fenton process. **Water Research**, v. 34, n. 10, p. 2786–2790, 2000.
- KANT, R. Textile dyeing industry an environmental hazard. v. 4, n. 1, p. 22–26, 2012.
- KARKMAZ, M. et al. Photocatalytic degradation of the alimentary azo dye amaranth: Mineralization of the azo group to nitrogen. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 51, n. 3, p. 183–194, 2004.
- KARTHIKEYAN, S. et al. Treatment of textile wastewater by homogeneous and heterogeneous Fenton oxidation processes. **Desalination**, v. 281, n. 1, p. 438–445, 2011.
- KAVITHA, V.; PALANIVELU, K. The role of ferrous ion in Fenton and photo-Fenton processes for the degradation of phenol. **Chemosphere**, v. 55, n. 9, p. 1235–1243, 2004.
- KHALIKOVA, M. A. et al. Development and validation of ultra-high performance supercritical fluid chromatography method for determination of illegal dyes and comparison to ultra-high performance liquid chromatography method. **Analytica Chimica Acta**, v. 874, p. 84–96, 2015.
- KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. **Environment International**, v. 35, n. 2, p. 402–417, 2009.
- KOBYLEWSKI, S.; JACOBSON, M. F. Food Dyes: A Rainbow of Risks. **Decision Sciences**, v. 30, n. 2, p. 337–360, 2010.
- KOLTSAKIDOU et al. Photo-Fenton and Fenton-like processes for the treatment of the antineoplastic drug 5-fluorouracil under simulated solar radiation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 5, p. 4791–4800, 2017.
- KÖRBAHTI, B. K. Response surface optimization of electrochemical treatment of textile dye wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 145, n. 1–2, p. 277–286, 2007.
- KUMAR, S. S. et al. Optimization of fenton's oxidation by box-behnken design of response surface methodology for landfill leachate. **Journal of Materials and Environmental Science**, v. 7, n. 12, p. 4456–4466, 2016.
- KUMMROW, F.; UMBUZEIRO, G. D. A. 2-fenilbenzotriazóis (PBTA): uma nova classe de contaminantes ambientais. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 401–406, 2008.
- KUŠIĆ, H. et al. Photo-assisted Fenton type processes for the degradation of phenol: A kinetic study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 136, n. 3, p. 632–644, 2006.
- KUŠIĆ, H.; LONČARIĆ BOŽIĆ, A.; KOPRIVANAC, N. Fenton type processes for minimization of organic content in coloured wastewaters: Part I: Processes optimization. **Dyes and Pigments**, v. 74, n. 2, p. 380–387, Jan. 2007.
- KWON, B. G. et al. Characteristics of p-chlorophenol oxidation by Fenton's reagent. **Water Research**, v. 33, n. 9, p. 2110–2118, Jun. 1999.
- LALNUNHLIMI, S.; VEENAGAYATHRI, K. Decolorization of azo dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by moderately alkaliphilic bacterial consortium. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 39–46, 2016.
- LAMBOOY, T. Corporate social responsibility: Sustainable water use. **Journal of**

Cleaner Production, v. 19, n. 8, p. 852–866, 2011.

LANGE, L. C. et al. Tratamento de lixiviado de aterro sanitário por processo oxidativo avançado empregando reagente de Fenton. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 11, n. 2, p. 175–183, Jun. 2006.

LEITE, L. DA S. et al. Monitoring ecotoxicity of disperse red 1 dye during photo-Fenton degradation. **Chemosphere**, v. 148, p. 511–517, 2016.

LEME, D. M. et al. Eco- and Genotoxicological Assessments of Two Reactive Textile Dyes. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 78, n. 5, p. 287–300, 4 Mar. 2015.

LI, D. et al. First observation of tetranitro iron (II) phthalocyanine catalyzed oxidation of phenolic pollutant assisted with 4-aminoantipyrine using dioxygen as oxidant. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 345, n. 1–2, p. 108–116, 2011a.

LI, W. H. et al. Preparation of sludge-based activated carbon made from paper mill sewage sludge by steam activation for dye wastewater treatment. **Desalination**, v. 278, n. 1–3, p. 179–185, 2011b.

LIN, S. H.; LO, C. C. Fenton process for treatment of desizing wastewater. **Water Research**, v. 31, n. 8, p. 2050–2056, Aug. 1997.

LIU, X.; QIU, M.; HUANG, C. Degradation of the Reactive Black 5 by Fenton and Fenton-like system. **Procedia Engineering**, v. 15, p. 4835–4840, 2011.

LUNAR, L. et al. Degradation of photographic developers by Fenton's reagent: condition optimization and kinetics for metol oxidation. **Water Research**, v. 34, n. 6, p. 1791–1802, 1 Apr. 2000.

MAGALHÃES, D. D. P.; FERRÃO, S. A Ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 3, p. 355–381, 2008.

MALIK, P. K.; SAHA, S. K. Oxidation of direct dyes with hydrogen peroxide using ferrous ion as catalyst. **Separation and Purification Technology**, v. 31, n. 3, p. 241–250, 2003.

MANSOUR, H. BEN et al. Decolorization of Textile Wastewater by *Pseudomonas putida*: Toxicity Assessment. **Environmental Engineering Science**, v. 28, n. 7, p. 489–495, 2011.

MARSON, E. O. et al. Degradation of Direct Red 81 mediated by Fenton reactions: multivariate optimization, effect of chloride and sulfate, and acute ecotoxicity assessment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 7, p. 6176–6186, 2017.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; BRILLAS, E. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: A general review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 87, n. 3–4, p. 105–145, 7 Apr. 2009.

MENAPACE, H. M.; DIAZ, N.; WEISS, S. Electrochemical treatment of pharmaceutical wastewater by combining anodic oxidation with ozonation. **Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering**, v. 43, n. 919558558, p. 961–968, 2008.

MERIÇ, S. et al. Decolourisation and detoxifying of Remazol Red dye and its mixture using Fenton's reagent. **Desalination**, v. 173, n. 3, p. 239–248, Mar. 2005.

- METCALF, E.; EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. New York: **MacGraw-Hill**. 4th. ed. New York: McGrawHill. Inc., 2003.
- MEYER, B. et al. **Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents** *Planta Medica*, 1982. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2007-971236>>
- MOHAPATRA, D. P. et al. Physico-chemical pre-treatment and biotransformation of wastewater and wastewater Sludge - Fate of bisphenol A. **Chemosphere**, v. 78, n. 8, p. 923–941, 2010.
- MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. **Estatística Aplicada e Probabilidade para Engenheiros**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Grupo Gen - LTC, 2009.
- MOSCA, D. et al. **Agenda de Prioridades Têxtil e Confecção 2015 a 2018**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <http://www.abit.org.br/conteudo/links/publicacoes/agenda_site.pdf>.
- MOULAHCENE, L. et al. Inclusion and removal of pharmaceutical residues from aqueous solution using water-insoluble cyclodextrin polymers. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 97, n. September, p. 145–158, 2015.
- MUNTER, R. ADVANCED OXIDATION PROCESSES – CURRENT. p. 59–80, 2001.
- NEAMTU, M. et al. Kinetics of decolorization and mineralization of reactive azo dyes in aqueous solution by the UV/H₂O₂ oxidation. **Dyes and Pigments**, v. 53, n. 2, p. 93–99, 2002.
- NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal of Hazardous Materials**, v. 98, n. 1–3, p. 33–50, Mar. 2003.
- NIDHEESH, P. V.; GANDHIMATHI, R.; RAMESH, S. T. Degradation of dyes from aqueous solution by Fenton processes: A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 4, p. 2099–2132, 2013.
- NOBILE, D.; TAKASHIMA, K. Efeitos Dos Parâmetros Operacionais Na Fotodegradação Do Azo Corante Direct Red 23 Na Interface Dióxido De Titânio/Água. **Quim. Nova**, v. 30, n. 8, p. 1896–1899, 2007.
- NOGUEIRA, R. F. P. et al. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos fenton e foto-fenton. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 400–408, Apr. 2007.
- NOGUEIRA, R.; GUIMARÃES, J. Photodegradation of dichloroacetic acid and 2, 4-dichlorophenol by ferrioxalate/H₂O₂ system. **Water Research**, v. 34, n. 3, p. 895–901, 2000.
- NOGUEIRA, R.; OLIVEIRA, M.; PATERLINI, W. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. **Talanta**, v. 66, n. 1, p. 86–91, 31 Mar. 2005.
- NTAMPEGLIOTIS, K. et al. Decolorization kinetics of Procion H-ex1 dyes from textile dyeing using Fenton-like reactions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 136, n. 1, p. 75–84, Aug. 2006.
- OECD. **Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test**. [s.l.] OECD Publishing, 2004.
- OECD. **Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test**. [s.l.] OECD Publishing, 2013.

OLIVEIRA, G. A. R. et al. Chlorination treatment of aqueous samples reduces, but does not eliminate, the mutagenic effect of the azo dyes Disperse Red 1, Disperse Red 13 and Disperse Orange 1. **Mutation research**, v. 703, n. 2, p. 200–8, 2010.

OLIVEIRA, M. C. et al. Flow injection spectrophotometric system for hydrogen peroxide monitoring in photo-Fenton degradation processes. **Quimica Nova**, v. 24, n. 2, p. 188–190, 2001.

OLIVEIRA, G. A. R. DE et al. Textile dyes induce toxicity on zebrafish early life stages. **Environmental Toxicology and Chemistry**, p. n/a-n/a, 2015.

OLLER, I.; MALATO, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. A. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination-A review. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 4141–4166, 2011.

OLVERA-VARGAS, H. et al. Electrochemical advanced oxidation for cold incineration of the pharmaceutical ranitidine: Mineralization pathway and toxicity evolution. **Chemosphere**, v. 117C, p. 644–651, 2014.

ONG, S. et al. Dye Waste Treatment. v. 7, n. Vi, p. 157–176, 2011.

OTURAN, M. A. Ecologically effective water treatment technique using electrochemically generated hydroxyl radicals for in situ destruction of organic pollutants: Application to herbicide 2,4-D. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 30, p. 475–482, 2000.

PAPIC, S. et al. Decolorization of the Anthraquinone Dye C . I . Reactive Blue 2 by Fenton Oxidation ; Statistical Experimental Design. **Chem. Biochem. Eng.**, v. 24, n. 1, p. 9–16, 2010.

PERALTA-HERNÁNDEZ, J. M. M. et al. Comparison of hydrogen peroxide-based processes for treating dye-containing wastewater: Decolorization and destruction of Orange II azo dye in dilute solution. **Dyes and Pigments**, v. 76, n. 3, p. 656–662, 2008.

PIFFERI, G.; RESTANI, P. The safety of pharmaceutical excipients. **Il Farmaco**, v. 58, n. 8, p. 541–550, Aug. 2003.

PIGNATELLO, J. J. Dark and photoassisted iron(3+)-catalyzed degradation of chlorophenoxy herbicides by hydrogen peroxide. **Environ. Sci. Technol.**, v. 26, n. 5, p. 944–951, 1992.

PIPI, A. R. F. et al. Application of electrochemical advanced oxidation processes to the mineralization of the herbicide diuron. **Chemosphere**, v. 109, p. 49–55, 2014.

PIZATO, E. et al. Caracterização de efluente têxtil e avaliação da capacidade de remoção de cor utilizando o fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, n. 0, p. 1–9, 2017.

POON, C. S. et al. Degradation Kinetics of Cuprophenyl Yellow RL by UV/H₂O₂/Ultrasonication (US) Process in Aqueous Solution. v. 38, n. 5, p. 1005–1014, 1999.

PRATO-GARCIA, D.; BUITRÓN, G. Degradation of azo dye mixtures through sequential hybrid systems: Evaluation of three advanced oxidation processes for the pre-treatment stage. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 223, n. 2–3, p. 103–110, 2011.

RAMIREZ, J. H.; COSTA, C. A.; MADEIRA, L. M. Experimental design to optimize the degradation of the synthetic dye Orange II using Fenton's reagent. **Catalysis Today**, v. 107–108, p. 68–76, 2005.

- RAMÍREZ, R. J. et al. H₂O₂-assisted TiO₂ generation during the photoelectrocatalytic process to decompose the acid green textile dye by Fenton reaction. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 305, n. 0, p. 51–59, 2015.
- RAO, C. V. et al. Studies on pH-dependent color variation and decomposition mechanism of Brilliant Green dye in Fenton reaction. **International Journal of Industrial Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 71–80, 2016.
- RIBEIRO, I. DA S.; LUZ, J. S. DA. **A importância das APL's para o desenvolvimento do estado de Goiás. O caso do APL farmacêutico de Anápolis - GO** (P. e E. da U. 8º Congresso de Ensino, Ed.) Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)(ISSN 2447-8687). **Anais...**Pirenópolis: UEG, 2017
- RICHTER, C. A.; NETTO, A. JM Tratamento de Água–Tecnologia Aplicada. **Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo**, 1991.
- ROCHA, O. P. et al. Ecotoxicological risk assessment of the “Acid Black 210” dye. **Toxicology**, v. 376, p. 113–119, 2017.
- RUIZ, E. J. et al. Application of solar photoelectro-Fenton technology to azo dyes mineralization: Effect of current density, Fe²⁺ and dye concentrations. **Chemical Engineering Journal**, v. 171, n. 2, p. 385–392, 2011.
- RUPPERT, G.; BAUER, R.; HEISLER, G. The photo-Fenton reaction — an effective photochemical wastewater treatment process. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 75–78, Jun. 1993.
- SALGADO, B. C. B. et al. Descoloração de efluentes aquosos sintéticos e têxtil contendo corantes índigo e azo via processos Fenton e foto-assistidos (UV e UV/H₂O₂). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2009.
- SARATALE, R. G. et al. Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye C.I. Remazol Red and textile effluent by isolated *Lysinibacillus* sp. RGS. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 115, n. 6, p. 658–67, 2013.
- SCOTT, C.; BEGLEY, C. Enzyme enabled remediation of pesticide residues. **Journal of Biotechnology**, v. 150, p. 51–52, Nov. 2010.
- SHEN, B. et al. Toxicity induced by Basic Violet 14, Direct Red 28 and Acid Red 26 in zebrafish larvae. **Journal of Applied Toxicology**, n. August 2014, p. n/a-n/a, 2015.
- SHEN, Y. S.; WANG, D. K. Development of photoreactor design equation for the treatment of dye wastewater by UV/H₂O₂ process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 89, p. 267–277, 2002.
- SHU, H.; CHANG, M. Decolorization effects of six azo dyes by O₃, UV/O₃ and UV/H₂O₂ processes. **Dyes and Pigments**, v. 65, n. 1, p. 25–31, 2005.
- SIMÕES, A. S. DE M. **Estudo da degradação de microcontaminantes em efluentes por radiação ultravioleta e processo oxidativo foto Fenton**. [s.l.] Universidade Federal da Paraíba, 2013.
- SIRÉS, I. et al. Mineralization of clofibric acid by electrochemical advanced oxidation processes using a boron-doped diamond anode and Fe²⁺ and UVA light as catalysts. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 72, p. 373–381, 2007.
- SIRÉS, I. et al. Electrochemical advanced oxidation processes: Today and tomorrow. A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 14, p. 8336–8367, 2014.

SIRÉS, I.; BRILLAS, E. Remediation of water pollution caused by pharmaceutical residues based on electrochemical separation and degradation technologies: A review. **Environment International**, v. 40, p. 212–229, 2012.

SOPAJ, F. et al. Influence of the anode materials on the electrochemical oxidation efficiency. Application to oxidative degradation of the pharmaceutical amoxicillin. **Chemical Engineering Journal**, v. 262, p. 286–294, 2015.

SRINIVASAN, A.; VIRARAGHAVAN, T. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 10, p. 1915–1929, 2010.

SRINIVASAN, S. V et al. Decolourisation of leather dye by ozonation. **DES**, v. 235, n. 1–3, p. 88–92, 2009.

SUN, J. H. et al. Fenton oxidative decolorization of the azo dye Direct Blue 15 in aqueous solution. **Chemical Engineering Journal**, v. 155, n. 3, p. 680–683, 2009.

SYSTEMS, S. E.; CITY, S.; DRIVE, P. P. The UWOxidation Handbook. n. 713, 1994.

TANG, W. Z.; CHEN, R. Z. Decolorization kinetics and mechanisms of commercial dyes by H₂O₂/iron powder system. **Chemosphere**, v. 32, n. 5, p. 947–958, Mar. 1996.

TANG, W. Z.; HUANG, C. P. Stoichiometry of Fenton's Reagent in the Oxidation of Chlorinated Aliphatic Organic Pollutants. **Environmental Technology**, v. 18, n. 1, p. 13–23, Jan. 1997.

THIAM, A. et al. Decolorization and mineralization of Allura Red AC aqueous solutions by electrochemical advanced oxidation processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 290, p. 34–42, 2015.

THOMPSON, K. C.; WADHIA, K.; LOIBNER, A. P. **Environmental Toxicity Testing** *Environmental Toxicity Testing*, 2009.

TROVÓ, A. G. Fotodegradação de fármacos por processos oxidativos avançados utilizando fonte de irradiação artificial e solar: avaliação química e toxicológica. 2009.

TROVÓ, A. G. et al. Degradation of Acid Blue 161 by Fenton and photo-Fenton processes. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 147–158, 2016.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 1, n. 2, p. 151–173, 1977.

ULIANA, C. V; GARBELLINI, G. S.; YAMANAKA, H. Spectrophotometric Evaluation of the Behavior of Disperse Red 1 Dye in Aqueous Media and its Interaction with Calf Thymus ds-DNA. v. 23, n. 8, p. 1469–1475, 2012.

UNESCO. **The United Nations World Water Development Report 4: Managing Water under Uncertainty and Risk**. (World Water Assessment Programme, Ed.). Paris: UNESCO, 2012.

USEPA. **Ecological Effects Test Guidelines - OPPTS 850.4200 - Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test** EPA 712–C–96–154 Washington United States Environment Protection Agency, , 1996.

USEPA. **Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms** Environmental Protection Agency Washington United States Environment Protection Agency, , 2002.

VACCHI, F. I. et al. Chlorine disinfection of dye wastewater: Implications for a

- commercial azo dye mixture. **Science of the Total Environment**, v. 442, p. 302–309, 2013.
- VACCHI, F. I. et al. Occurrence and risk assessment of an azo dye – The case of Disperse Red 1. **Chemosphere**, v. 156, p. 95–100, Aug. 2016.
- VELOSO, L. DE A. **Dossiê Técnico - Corantes e Pigmentos Dossiê Técnico TECPAR**. Curitiba: [s.n.].
- VIRKUTYTE, J.; SILLANPÄÄ, M.; LATOSTENMAA, P. Electrokinetic soil remediation — critical overview. **Science of The Total Environment**, v. 289, n. 1–3, p. 97–121, Apr. 2002.
- VOGEL, A. Química Analítica Quantitativa. 5a edição. **Rio de Janeiro. Editora Livros Técnicos e**, 1960.
- WAINWRIGHT, M. Dyes in the development of drugs and pharmaceuticals. **Dyes and Pigments**, v. 76, n. 3, p. 582–589, Jan. 2008.
- WALLING, C. Fenton's reagent revisited. **Accounts of Chemical Research**, v. 8, n. 4, p. 125–131, 1975.
- WANG, S. A Comparative study of Fenton and Fenton-like reaction kinetics in decolourisation of wastewater. **Dyes and Pigments**, v. 76, n. 3, p. 714–720, 2008.
- WHO. Protecting surface water for health. Identifying, assessing and managing drinking-water quality risks in surface-water catchments. 2016.
- WU, X. et al. Factorial design analysis for COD removal from landfill leachate by photoassisted Fered-Fenton process. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 14, p. 8595–8602, 2014.
- YAGUB, M. T. et al. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption : A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 209, p. 172–184, 2014.
- YAMJALA, K.; NAINAR, M. S.; RAMISETTI, N. R. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry – A review. **Food Chemistry**, v. 192, p. 813–824, 2016.
- YEUNG, A. T.; GU, Y. Y. A review on techniques to enhance electrochemical remediation of contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 195, p. 11–29, 2011.
- ZENG, Z. et al. Whole-cell method for phenol detection based on the color reaction of phenol with 4-aminoantipyrine catalyzed by CotA laccase on endospore surfaces. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 69, p. 162–166, 2015.
- ZHANG, J. et al. Reduction of acute toxicity and genotoxicity of dye effluent using Fenton-coagulation process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 274, p. 198–204, Jun. 2014.