

LAÍS DA SILVA LEITE

**DEGRADAÇÃO DO CORANTE COMERCIAL DISPERSE
RED 1 POR PROCESSO FOTO-FENTON E AVALIAÇÃO
ECOTOXICOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Química.

Orientadora: Profª. Dra. Raquel Fernandes Pupo
Nogueira

Araraquara-SP

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

L533d Leite, Laís da Silva
 Degradação do corante comercial Disperse Red 1 por
 processo foto-Fenton e avaliação ecotoxicológica /
 Laís da Silva Leite. – Araraquara : [s.n], 2014
 57 f. : il.

 Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
 Instituto de Química
 Orientador: Raquel Fernandes Pupo Nogueira

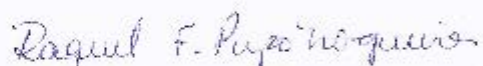
 1. Química analítica. 2. Corantes. 3. Processos
 oxidativos. 4. Toxicidade. I. Título.

LAÍS DA SILVA LEITE

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Química.

Araraquara, 07 de março de 2014.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a RAQUEL FERNANDES PUPO NOGUEIRA (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara



Prof.^a Dr.^a MARIA VALNICE BOLDRIN ZANONI
Instituto de Química / UNESP / Araraquara



Prof. Dr. FÁBIO KUMMROW
Universidade Federal de São Paulo / UNIFESP / Diadema

DADOS CURRICULARES

Dados Pessoais

Laís da Silva Leite

Naturalidade: Brasília – DF

email: lais.quim@hotmail.com

Formação acadêmica/titulação

2012 – 2014

Mestrado em Química

Instituto de Química – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP

Orientador: Raquel Fernandes Pupo Nogueira.

Bolsista do(a): CNPq

2007 - 2011

Graduação em Química.

Instituto de Ciências Ambientais e Desenvolvimento Sustentável – Universidade Federal da Bahia, UFBA

Trabalhos publicados em anais de eventos

LEITE, L. S.; NOGUEIRA, R. F. P.; MASELLI, B. S.; UMBUZEIRO, G. A.; KUMMROW, F. Avaliação da Degradação do Corante Comercial Disperse Red1 por processo foto-Fenton. In: VII Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados; I Congresso Iberoamericano de Processos Oxidativos Avançados, 2013.

SILVA, C. P.; GUARDA, L. C.; LEITE, L. S.; SOUSA, R. R.; PRADO, W. A.; MIRANDA, J. A.; BAHIA, M. V. Estabilização de antocianinas em micropartículas de carboximetilcelulose e em suspensões de biopolímeros de celulose a diferentes pHs. In: 51 Congresso Brasileiro de Química, 2011, São Luís - MA. Livro de Resumos do 51º Congresso Brasileiro de Química, 2011. v. Único.

LEITE, L. S. ; MIRANDA, J. A. . Avaliação do potencial supressor de oxigênio singlete por extratos naturais ricos em carotenóides. In: 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011, Florianópolis-SC. Livro de Resumos da ..., 2011. v. Único.

SILVA, C. P. ; SANTOS, I.T.O ; GUARDA, L. C ; LEITE, L. S. ; SOUSA, R. R. ; PRADO, W. A. ; MIRANDA, J. A. ; BAHIA, M. V. . Avaliação das propriedades fotofísicas das antocianinas presentes no jambolão em ácidos orgânicos e biopolímeros. In: 34ª Reunião

Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011, Florianópolis-SC. Livro de Resumos da ..., 2011. v. Único.

SILVA, C. P. ; MIRANDA, J. A. ; LEITE, L. S. . Estabilização de antocianinas do jambolão em microesferas de amilose e amilopectina. In: XI Seminário de Pesquisa e Pós-Graduação, 2010, Salvador-Ba. Livro de resumos do XI Seminário de Pesquisa e Pós-graduação. Salvador-BA, 2010. v. Único.

SILVA, C. P. ; LEITE, L. S. ; MIRANDA, J. A. . Estudo da estabilidade do extrato bruto das antocianinas do jambolão na presença de biopolímeros e ácidos orgânicos. In: 50 Congresso Brasileiro de Química, 2010, Cuiabá-MT. Livro de Resumos do 50 Congresso Brasileiro de Química, 2010. v. Único.

SILVA, C. P. ; LEITE, L. S. ; MIRANDA, J. A. . Estudo da estabilidade química do extrato bruto de antocianinas do jambolão em diferentes meios de dispersão. In: IV Encontro de Química da Bahia, 2010, Barreiras-Ba. Anais do IV Encontro de Química da Bahia, 2010. v. Único.

SILVA, C. P. ; LEITE, L. S. ; MIRANDA, J. A. ; BAHIA, M. V. . Avaliação do efeito do pH do meio sobre a estabilização da cor de antocianinas do jambolão. In: 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia-SP. Livro de Resumos da ..., 2010. v. Único.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu forças para chegar até aqui. “Sem Ele eu não sou nada, mas com Ele eu posso todas as coisas.”

À professora Raquel, por ter me orientado, por tudo que me ensinou e por ter confiado no meu trabalho.

À minha família, especialmente à minha mãe, por mesmo distante estar sempre ao meu lado.

Ao querido Willian. Dentre tantas coisas boas que me oferece seu companheirismo foi certamente o mais importante para que eu conseguisse chegar até aqui.

Aos amigos Suzy, Karine, Carlos Eduardo, Mariana e Amanda que foram minha família em Araraquara, e em especial a Lilian e ao João, que me “adotaram” na minha chegada.

Aos amigos de laboratório Daniely, Beatriz, André e Ailton, que tornaram os dias de trabalho mais agradáveis e contribuíram para construção do meu conhecimento.

A D. Marlene, que me acolheu no período que permaneci em Araraquara.

Ao pessoal do laboratório de Toxicologia e Microbiologia Ambiental Prof. Dr. Abílio Lopes (LEAL), especialmente à Bianca, por ajudarem no desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores, especialmente ao Ian e a Mary, pelas sugestões no exame de qualificação, aos funcionários, em especial à Bianca pela contribuição com a espectrometria de massas, e aos colegas do Instituto de Química.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

“Disse a flor para o pequeno príncipe: é preciso que eu suporte duas ou três lagartas se quiser conhecer as borboletas.”

O pequeno príncipe, Antoine de Saint-Exupéry

“Assim termina a estória, sem um fim, com reticências... Ela poderá ser continuada, indefinidamente. E ao contá-la é como se contasse a estória de minha vida. Tanto os meus fracassos quanto as minhas vitórias duraram pouco. Não há nenhuma vitória profissional ou amorosa que garanta que a vida finalmente se arranjou e nenhuma derrota que seja uma condenação final. As vitórias se desfazem como castelos de areia atingidos pelas ondas, e as derrotas se transformam em momentos que prenunciam um começo novo. Enquanto a morte não nos tocar, pois só ela é definitiva, a sabedoria nos diz que vivemos sempre à mercê do imprevisível dos acidentes. ‘Se é bom ou se é mau, só o futuro dirá’.”

Se é bom ou se é mau, Rubem Alves

RESUMO

A indústria têxtil produz efluentes altamente coloridos, com composição complexa e de difícil degradação por processos biológicos devido à utilização de compostos sintéticos, que apresentam grande estabilidade. Diante disso é necessário o desenvolvimento de metodologias de tratamento eficientes que sejam capazes de remover esses compostos evitando a contaminação dos corpos receptores de água. O presente trabalho estudou a degradação do corante Disperse Red 1(DR1), na sua forma comercialmente disponibilizada, por processo foto-Fenton. Para avaliar a eficiência de degradação e monitorar a formação de sub-produtos foram empregadas as técnicas cromatografia líquida de alta eficiência e a espectrometria de massas. A mineralização das amostras foi monitorada pela determinação de carbono orgânico total. As concentrações adotadas para os experimentos de degradação foram $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, H_2O_2 $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e corante 20 mg L^{-1} . Inicialmente o pH foi ajustado para 2,5 e as degradações foram realizadas por 90 minutos. Com essas condições foi possível mineralizar 65% do conteúdo de carbono orgânico, degradar mais de 99% do corante e remover a absorção na região característica do corante já com 30 minutos de experimento. Os testes de toxicidade aguda com organismo *Daphnia similis* mostraram que com 10 minutos de tratamento há um aumento da toxicidade que depois é reduzida, atingindo valores não tóxicos após 45 minutos de experimento. A espectrometria de massas permitiu identificar quatro produtos de degradação, que continham o grupo azo em sua estrutura. A máxima concentração dos intermediários ocorreu com 10 minutos, podendo esses serem responsáveis pela maior toxicidade observada nesse tempo de tratamento. Os resultados desse trabalho mostram que corantes têxteis, como o DR1, podem ser degradados por processo foto-Fenton com completa remoção da toxicidade para o microcrustáceo *Daphnia similis* e que o acompanhamento ecotoxicológico é fundamental para determinar quando o processo de degradação pode ser interrompido.

Palavras-chave: Corante disperso. Processos oxidativos avançados. Toxicidade. *Daphnia similis*

ABSTRACT

The textile industry produces highly colored effluents with complex composition and difficult degradation by biological processes due to the use of synthetic compounds of e high stability. Therefore it is necessary to develop efficient methods of treatment that be able to remove these compounds avoiding contamination of the receiving bodies of water. The present work studied the degradation of the dye Disperse Red 1 (DR1), in its commercially available form by photo-Fenton process. In order to evaluate the efficiency and monitor the formation of degradation products high performance liquid chromatography and mass spectrometry were used. The mineralization of samples was monitored by total organic carbon analysis . The concentration adopted for the degradation experiments was $0.2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe(NO}_3)_3$, $5.0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ and 20 mg L^{-1} dye. Initially the pH was adjusted to 2.5 and the degradations were performed for 90 minutes. Under these conditions it was possible to mineralize 65% of the organic carbon content, degrade more than 99% of the dye and remove characteristic absorption after 30 minute experiment. The acute toxicity tests with the organism *Daphnia similis* showed that toxicity increased after 10 minutes of treatment, which was then reduced, no toxic values after 45 minutes of experiment. Mass spectrometry allowed to identify four degradation products, which contained the azo group in its structure. The maximum concentration of intermediates occurred after 10 minutes, which may be responsible for higher toxicity observed after this time of treatment. The results of this study showed that textile dyes, such as DR1 can be degraded by photo-Fenton process with complete removal of toxicity to *Daphnia simillis* microcrustacean and the ecotoxicological monitoring is essential for determining when the degradation process can be stopped.

Key words: Disperse dye. Advanced oxidation processes. Toxicity. *Daphnia similis*.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CE 50 – concentração do efluente que causa efeito agudo a 50% de uma população, expressa em %

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

COT – carbono orgânico total

DAD – diode array detector (arranjo de fotodiodos)

DR1 – Disperse Red 1

DQO – demanda química de oxigênio

EFS – extração em fase sólida

EPH – eletrodo padrão de hidrogênio

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

m/z – relação massa carga

MS – espectrometria de massas

POA – processo oxidativo avançado

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Especiação de ferro em solução aquosa ácida ($[\text{Fe}^{\text{III}}] = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, as linhas tracejadas denotam região supersaturada em relação ao amorfo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})_3]$, $I = 0,1\text{M NaClO}_4$, 25°C).	18
Figura 2 - Estrutura do corante Disperse Red 1.	20
Figura 4 - Microcrustáceo <i>Daphnia similis</i> .	23
Figura 5 - Representação esquemática do reator fotoquímico.	26
Figura 6 - Espectro de absorção do corante DR 1 (20 mg L^{-1}) na composição da fase móvel (metanol/água + 0,1% de ácido fórmico (60:40)) em condições hidrodinâmicas.	32
Figura 7 - Cromatograma obtido para o corante DR 1 (20 mg L^{-1}). Fase móvel: metanol/água + 0,1% de ácido fórmico (60:40).	32
Figura 8 - Controles de degradação. Símbolos abertos – COT; Símbolos fechados - concentração; — UV/ H_2O_2 ; — fotólise; — somente H_2O_2 . $[\text{DR1}] 20 \text{ mg L}^{-1}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 5,0 \text{ mmol L}^{-1}$.	34
Figura 9 - Concentração de H_2O_2 durante os experimentos de degradação com adição de H_2O_2 apenas no início do experimento.	36
Figura 10 - Efeito de adições sucessivas de H_2O_2 na degradação do corante. As setas indicam o momento em que foi adicionada uma nova alíquota de $2,5 \text{ mmol}$ de H_2O_2 .	36
Figura 11 - Efeito de adições sucessivas de H_2O_2 na remoção de COT. As setas indicam o momento em que foi adicionada uma nova alíquota de H_2O_2 .	36
Figura 12 - (a) Evolução dos intermediários de degradação identificados por espectrometria de massas e respectivas relações carga/massa; (b) degradação do corante DR1 acompanhado por espectrometria de massas.	37
Figura 13 - Geração e degradação dos intermediários de oxidação do corante por CLAE-DAD (254 nm). Tempo de experimento em minutos: 0 (—); 3 (—); 10 (—); 20 (—); 30 (—); 90 (—).	38
Figura 14 - Espectro de massas em MS^2 do corante Disperse Red 1.	38
Figura 15 - Espectro de massas em MS^2 do produto de degradação do DR1 com m/z 331.	39
Figura 16 - Espectro de massas em MS^2 do produto de degradação do DR1 com m/z 347.	39
Figura 17 - Espectro de massas em MS^2 do produto de degradação do DR1 com m/z 287.	40
Figura 18 - Espectro de massas em MS^2 do produto de degradação do DR1 com m/z 194.	40
Figura 19 - Acompanhamento da modificação do espectro de absorção da solução tratada em diferentes tempos de experimento: 0 min (—), 10 min (—), 30 min (—), 60 min (—) e 90 min (—). Destaque: ampliação de 380 – 680 nm.	41
Figura 20 - Porcentagem de imobilidade de <i>Daphnia similis</i> em função da diluição de cada amostra de corante durante o tratamento.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diferentes possibilidades de processos oxidativos avançado, principais reações envolvidas na formação do radical hidroxila e nome do processo.	16
Tabela 2 - Equação da curva analítica, faixa linear (FL), coeficiente de correlação R, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).	32
Tabela 3 - Recuperação de Disperse Red 1, na presença de $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, após extração em fase sólida com cartuchos Sep-Pack C-18.	34
Tabela 4 - Concentração de DR1 e toxicidade para <i>Daphnia simillis</i> das amostras de corante durante tratamento foto-Fenton.	44
Tabela 5 - Espectros de absorção de alguns intermediários identificados por espectrometria de massas correlacionados com o tempo de retenção dos picos obtidos por CLAE-DAD.	42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Efluentes têxteis	13
1.2	Tratamento de água e efluentes	14
1.2.1	Processos Oxidativos Avançados	15
1.3	Disperse Red 1	20
1.4	Testes de toxicidade	21
2	OBJETIVO	24
3	PARTE EXPERIMENTAL	25
3.1	Reagentes	25
3.2	Degradação por processo foto-Fenton	25
3.3	Interrupção da degradação	26
3.3.1	Extração em fase sólida (EFS)	27
3.3.2	Catalase bovina	27
3.4	Análises químicas	28
3.4.1	Carbono orgânico total (COT)	28
3.4.2	Concentração de H ₂ O ₂	28
3.4.3	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	28
3.4.4	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS)	29
3.5	Testes de toxicidade com <i>Daphnia similis</i>	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1	Método analítico	31
4.1.1	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	31
4.1.2	Extração em fase sólida	33
4.2	Controles	34
4.3	Efeito da concentração de H ₂ O ₂	35
4.4	Identificação dos produtos de degradação	37
4.5	Avaliação da toxicidade	43
5	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS	48
	ANEXO	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 Efluentes têxteis

Parece improvável nos dias atuais imaginar a produção de bens de consumo sem preocupar-se com a cor que apresentarão. O crescimento do emprego de corantes para produção de cosméticos, alimentos, papel, têxtil, entre outros, data da descoberta da síntese da mauveína, por Perkin, em 1856. A síntese de corantes permitiu diminuir custos, aumentar as possibilidades de cores e melhorar as propriedades físicas.

A indústria têxtil caracteriza-se como um dos maiores consumidores de corantes (ZAHARIA; SUTEU, 2012), cerca de dois terços da produção (70 mil toneladas anuais) destina-se a atendê-la. Trata-se de um importante setor para economia brasileira. Em 2005 a produção foi o equivalente a 4,1% do PIB nacional (SEBRAE, 2014). Isso inclui desde a produção da matéria prima até o setor de confecção, e o mercado externo tem exigido cada vez mais eficiência quanto à produção e sustentabilidade (BASTIAN, 2009). Apesar disso, as perdas durante os processos de tingimento podem atingir até 40% (AZBAR; YONAR; KESTIOGLU, 2004; ZAHARIA; SUTEU, 2012) e gerar resíduos com alta concentração de corantes. Muitos desses resíduos acabam não sendo tratados de maneira adequada, causando problemas ambientais após descarte em corpos d'água.

A detecção de corante em águas superficiais, e mesmo em águas de abastecimento público, mostra que os processos adotados nas indústrias têxteis e nas estações de tratamento de água não são suficientes para remoção completa dos corantes. Umbuzeiro et al. (2005)

identificaram a presença dos corantes Disperse Orange 37, Disperse Violet 93 e Disperse Blue 373 no Ribeirão dos Cristais, São Paulo, próximo a indústrias têxteis. As águas desse rio são captadas para o abastecimento público. Além disso, Carneiro et al. (2010) mostraram que mesmo após a cloração, os três corantes citados anteriormente continuam sendo detectados na água de abastecimento público.

1.2 Tratamento de água e efluentes

Por ser fundamental à manutenção da vida terrestre e tratar-se de uma substância finita, temas relacionados ao menor consumo, tratamento adequado e reutilização de água estão em constante debate. Ações como a Conferência das Nações Unidas para a Água, em 1977, passando pela Conferência Internacional sobre Água e Meio Ambiente, em 1992, chegando à atual Década Internacional de Ação, “Água para a Vida”, que começou em 2005 e estende-se até 2015, mostra que se trata de uma problemática recorrente e atual.

A declaração da ONU Água para o dia mundial da água (2010) diz que “A cada dia, milhões de toneladas de esgoto tratado inadequadamente e resíduos agrícolas e industriais são despejados nas águas de todo o mundo” e chama nossa atenção para a necessidade de tratamento adequado tanto dos resíduos gerados quanto das águas superficiais já contaminadas. Diante dessa situação a comunidade científica tem se dedicado ao desenvolvimento de tecnologias de uso mais eficiente da água e também de tratamentos para seu reuso.

Os tipos de tratamento de água e efluentes dividem-se em três classes:

- Processos físicos: removem os contaminantes por transferência de fase, como filtração e adsorção;
- Processos químicos: degradam os contaminantes pelo uso de agentes químicos;
- Processos biológicos: degradam os contaminantes pela ação de microorganismos.

Os processos biológicos são os mais empregados para o tratamento de efluentes devido à maior facilidade de implementação em larga escala e baixo custo comparado os tratamentos químicos e físicos, mas, há considerável susceptibilidade às características do efluente, como pH, carga orgânica, composição mineral e, principalmente, sua toxicidade e

biodegradabilidade. Os processos físicos também são muito utilizados, como adsorção em carvão ativado e filtração, como microfiltração, nanofiltração, ultrafiltração e osmose reversa. No entanto, tem o inconveniente de não eliminarem as substâncias do ambiente, fazendo apenas uma transferência de fase. Já os processos químicos conseguem eliminar os contaminantes, mas apresentam alto custo quanto ao gasto de energia e de reagentes para levar à total mineralização do efluente.

Tendo em vista que todos os processos de tratamento apresentam suas limitações a tendência tem sido combinar diferentes processos de tratamento a fim de maximizar a eficiência de degradação e minimizar os custos. Os processos químicos, por exemplo, podem ser empregados no pré-tratamento de efluentes, visando aumentar sua biodegradabilidade para depois seguir para o tratamento biológico ou como pós-tratamento biológico, para remover eventual toxicidade dos produtos de degradação (OLLER ET AL., 2007; ZAPATA ET AL., 2010; OLLER; MALATO; SANCHEZ-PEREZ, 2011; SOARES ET AL., 2014)

1.2.1 Processos Oxidativos Avançados

Para a degradação de compostos com alta toxicidade ou recalcitrantes são empregados processos não biológicos. Tratamentos químicos podem promover tanto a redução quanto a oxidação de compostos orgânicos, sendo a oxidação mais largamente aplicada. Nesse caso podem ser formados como produtos finais CO_2 , H_2O e ácidos inorgânicos (ANDREOZZI ET AL., 1999).

Um grupo específico de processos de tratamento químico que promove a oxidação é nomeado como Processos Oxidativos Avançados (POA), caracterizados pela geração de espécies reativas de oxigênio, particularmente o radical hidroxila ($\text{HO}\bullet$). Várias combinações entre reagentes oxidantes (H_2O_2 , O_3), catalisadores (sais de ferro, TiO_2) e radiação podem levar à geração desse radical, com a vantagem de ocorrerem à pressão e temperatura ambiente. Na Tabela 1 são apresentados alguns desses processos e as principais reações envolvidas na geração de $\text{HO}\bullet$. A distinção entre a eficiência dos processos dá-se pelo rendimento da geração de $\text{HO}\bullet$ de cada processo.

Tabela 1: Possibilidades de processos oxidativos avançados e principais reações envolvidas na formação do radical hidroxila.

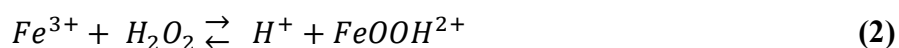
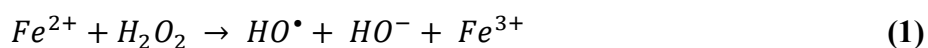
Processo	Reagentes	Principais Reações
Fenton	H_2O_2 / Fe^{2+}	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow HO^\bullet + HO^- + Fe^{3+}$ $Fe^{3+} + H_2O_2 \xrightarrow{\quad} H^+ + FeOOH^{2+}$
tipo Fenton	H_2O_2 / Fe^{3+}	$FeOOH^{2+} \rightarrow HO_2^\bullet + Fe^{2+}$ $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow HO^\bullet + HO^- + Fe^{3+}$
foto-Fenton	$H_2O_2 / Fe^{2+} (Fe^{3+}) /$ UV	$Fe(OH)^{2+} \xrightarrow{h\nu} Fe^{2+} + HO^\bullet$ $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow HO^\bullet + HO^- + Fe^{3+}$ $TiO_2 \xrightarrow{h\nu} e^- + h^+$
fotocatálise	$TiO_2 / h\nu / O_2$	$TiO_2(h^+) + H_2O_{ad} \rightarrow TiO_2 + HO_{ad}^\bullet + H^+$ $TiO_2(h^+) + HO_{ad}^- \rightarrow TiO_2 + HO_{ad}^\bullet$
Ozonização	O_3 / H_2O_2	$H_2O_2 \rightleftharpoons H^+ + HO_2^-$ $HO_2^- + O_3 \rightarrow HO_2^\bullet + O_3^-$ $HO_2^\bullet \rightleftharpoons H^+ + O_2^{\bullet-}$ $O_2^{\bullet-} + O_3 \rightarrow O_2 + O_3^{\bullet-}$ $O_3^{\bullet-} + H^+ \rightarrow HO_3^\bullet \rightarrow HO^\bullet + O_2$
Ozonização	O_3 / UV	$O_3 + H_2O \xrightarrow{h\nu} H_2O_2 + O_2$ $H_2O_2 \xrightarrow{h\nu} 2 HO^\bullet$
	H_2O_2 / UV	$H_2O_2 \xrightarrow{h\nu} 2 HO^\bullet$

Fonte: ANDREOZZI ET AL. (1999) adaptada

A alta reatividade do radical hidroxila ($E^\circ = +2,73$ V versus EPH) confere aos POA grande diversidade de aplicação por reagir indiscriminadamente com os compostos orgânicos. Os mecanismos de degradação incluem a abstração de hidrogênio de ligações C–H, O–H, N–H, adição à dupla ligação C=C e adição ao anel aromático, formando espécies radicalares. Os radicais formados rapidamente reagem para formar moléculas mais estáveis, que podem novamente reagir com radical hidroxila, levando à situação ideal de completa mineralização da matéria orgânica, ou mesmo a formação de substâncias biodegradáveis que possam ser tratadas por processos biológicos.

Uma combinação específica de reagentes mostrada na Tabela 1 dá origem à reação de Fenton. A descoberta de que a combinação de H_2O_2 e sais de ferro poderiam oxidar a matéria orgânica deu-se em 1894, quando o pesquisador H. J. H. Fenton observou a degradação do ácido tartárico por peróxido e ferro, embora ainda não se soubesse como funcionava a reação. (FENTON, 1894).

A geração de radicais segue uma sequência de reações em que os íons $Fe(II)$ iniciam a reação com H_2O_2 , a custo de sua oxidação, formando hidroxila, radical hidroxila e $Fe(III)$ (equação 1). Os íons $Fe(III)$ podem, posteriormente, agir como catalisador da degradação de peróxido de hidrogênio (equações 2 e 3). As reações 2 e 3 ocorrem quando a concentração de peróxido de hidrogênio é alta e, por apresentar menor potencial de redução, a formação do radical hidroperoxila ($HO_2^\bullet$) ($E^\circ = +1,42$ V versus EPH) diminui a eficiência de degradação dos compostos orgânicos (NEYENS; BAEYENS, 2003; NOGUEIRA ET AL., 2007).



Azbar, Yonar e Kestioglu (2004) realizaram um estudo em que foram comparados alguns processos oxidativos avançados (O_3 , O_3/UV , H_2O_2/UV , $O_3/H_2O_2/UV$, Fe^{2+}/H_2O_2) no tratamento de efluente de tingimento de fibras de acetato e poliéster que apresentava, entre outras características, demanda química de oxigênio (DQO) de 930 mg L^{-1} . A maior remoção da DQO e de cor foi obtida com $O_3/H_2O_2/UV$, 99% e 96% respectivamente, enquanto que para o processo Fenton os valores obtidos foram de 96% para DQO e 94% para cor. Entretanto a avaliação de custo mostrou que do ponto de vista operacional o processo Fenton é mais viável, pois apresentou resultados satisfatórios para remoção da DQO e menor custo ($0,23 \$ \text{ m}^{-3}$) que o processo $O_3/H_2O_2/UV$ ($6,54 \$ \text{ m}^{-3}$).

O trabalho de Azbar, Yonar e Kestioglu (2004) destaca uma das vantagens do processo Fenton frente a outros tratamentos químicos que é o baixo custo, outras vantagens incluem a baixa toxicidade dos reagentes envolvidos e, devido ao caráter homogêneo, não há problemas quanto à transferência de massa (HUANG; DONG; TANG, 1993). Entretanto, a reação 3, que regenera os íons ferrosos, é lenta e limitante do processo, já que o acúmulo de $Fe(III)$ diminui a geração de $HO^\bullet$. Para aumentar a velocidade de regeneração do $Fe(II)$ pode-se empregar radiação UV/Vis, processo conhecido como foto-Fenton (PIGNATELLO, 1992).

Na ausência de outros ligantes além da água o Fe(III) pode existir como aquo ou hidróxi complexo, a depender do pH da solução. Em meio fortemente ácido ($\text{pH} < 2,0$) a espécie predominante é hexahidratada, o aumento do pH leva à hidrólise e formação de hidróxi complexos (Figura 1). Em pH 2,54 as espécies $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+}$ e $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ existem em igual concentração e a regeneração dos íons ferrosos segue a equação 4. A importância da espécie $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+}$ deve-se ao seu alto coeficiente de absorção comparado com as outras espécies de Fe(III) (GALLARD; DE LAAT; LEGUBE, 1999; PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006).

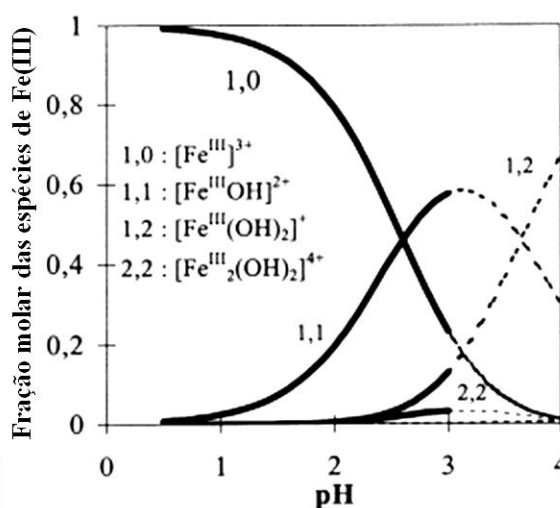


Figura 1: Especiação de ferro em solução aquosa ácida ($[\text{Fe}^{\text{III}}] = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, as linhas tracejadas denotam região supersaturada em relação ao amorfo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})_3]$, $I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$, 25°C) (GALLARD; DE LAAT; LEGUBE, 1999).

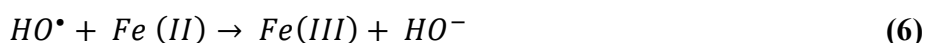
Mesmo sendo um processo simples, os reagentes de Fenton exigem critério quanto a algumas características do meio reacional. Como já mencionado, o pH tem papel muito importante, pois rege o comportamento dos íons ferrosos e férricos. A faixa ótima de pH restringe-se a valores próximos a 3, pois em pH mais alto há formação de hidróxidos de ferro que precipitam, retirando os íons de Fe(III) do meio reacional. E em valores de pH abaixo de 2,5, a grande quantidade de H^+ pode sequestrar os radicais hidroxila gerados (NEYENS; BAEYENS, 2003; NOGUEIRA ET AL., 2007).

Alguns esforços têm sido feitos para aumentar a faixa ótima de pH de trabalho para valores mais próximos da neutralidade, o que evita correções de pH após o tratamento. Isso tem sido alcançado utilizando-se complexantes orgânicos. Mas os complexos apresentam ainda outra vantagem, útil para as reações foto-Fenton, pois aumentam a faixa de absorção da

radiação para regiões mais próximas do visível o que permite trabalhar com radiação solar de maneira eficiente (NOGUEIRA ET AL., 2007).

Tripathi e Chaudhuri (2004), por exemplo, empregaram o complexo ferrioxalato, pelo uso de Fe(III) e ácido oxálico, para degradar três corantes azo presentes em resíduos de tinturaria. Usando luz solar como fonte de radiação, em pH 4,0, foi possível remover 90-92% da cor e 69-70% da DQO. Além disso, observaram que na ausência do complexante, durante o mesmo tempo de irradiação, apenas 40% da cor foi removida, evidenciando a importância do ácido oxálico no meio reacional. Outros complexantes como citrato (SILVA; TROVÓ; NOGUEIRA, 2007), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (ZHOU ET AL., 2008) e ácido etileno diamino di-succínico (EDDS) (HUANG ET AL., 2013) também podem ser utilizados.

As concentrações de ferro e peróxido de hidrogênio também são importantes. Uma avaliação quanto às quantidades de ferro, H_2O_2 e a carga orgânica permite determinar as condições ótimas de tratamento. Em linhas gerais, deve-se observar que tanto Fe(II) quanto H_2O_2 podem sequestrar $HO^\bullet$ (equações 5 e 6). O excesso de algum desses reagentes pode levar a uma competição com a matéria orgânica pelo radical hidroxila (PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006). Além disso, o uso de reagentes além do necessário eleva os custos do tratamento.



Michael et al. (2012) otimizaram a concentração de H_2O_2 para o tratamento de efluente contendo baixas concentrações de antibióticos. Dentre as concentrações testadas pode-se observar que concentrações abaixo de 75 mg L^{-1} necessitavam de maior tempo de irradiação para atingir a completa degradação dos compostos de interesse, enquanto que com concentrações mais altas que isso os resultados de degradação foram semelhantes aos resultados com 75 mg L^{-1} de H_2O_2 . A hipótese levantada para justificar a similaridade entre os experimentos utilizando 75 e 100 mg L^{-1} de H_2O_2 foi o que o excesso de H_2O_2 aumentou as reações de competição pelo $HO^\bullet$.

Soares et al. (2014) avaliaram a concentração de Fe^{2+} com objetivo de aumentar a biodegradabilidade de efluente de tingimento de uma indústria de algodão. Os experimentos mostraram que o limitante da degradação era o efeito de absorção da radiação pela coloração do efluente que reduzia a absorção por parte dos íons de ferro sendo necessário aumentar a concentração desse reagente para compensar esse efeito.

Já Prato-Garcia e Buitrón (2011) otimizaram a concentração tanto de Fe(II) quanto de H_2O_2 empregando planejamento composto central. A variável monitorada foi a remoção de cor de uma mistura de três corantes do tipo azo, acid red 151, acid orange 7 e acid blue 113. Além de otimizar as concentrações dos reagentes os pesquisadores ainda compararam a eficiência do tratamento da mistura de corantes com fotocatalise, reagentes de Fenton e foto-Fenton e observaram que os melhores resultados foram obtidos empregando o processo foto-Fenton, atingindo até 96% de remoção da cor e altas porcentagens (86%) de biodegradação.

1.3 Disperse Red 1

Os corantes têxteis podem ser classificados quanto à classe química ou quanto à forma de aplicação na fibra. Algumas classificações com base na fixação incluem corantes dispersos, reativos, ácidos, diretos, à cuba. O Disperse Red 1 (2-[etil[4-[2-(4-nitrofenil) diazenyl]fenil]amino]-etanol; CAS 2872-52-8), com massa molar de 314,34 mg L^{-1} (Figura 2), é um corante do tipo disperso quanto à aplicação e do tipo azo quanto à classe química. Por tratar-se de um corante disperso apresenta baixa solubilidade em água, que varia de acordo com o pH sendo de 1,1 mg L^{-1} em pH 10 e 44 mg L^{-1} em pH 1,0¹, e requer o uso de agentes dispersantes no processo de aplicação.

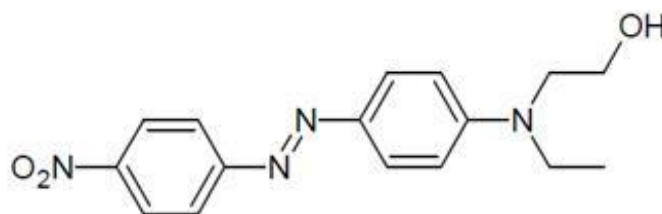


Figura 2: Estrutura do corante Disperse Red 1.

Esse corante tem despertado interesse devido as suas características de toxicidade e mutagenicidade. Resultados de testes com *Daphnia similis* permitiram classifica-lo como muito tóxico para a vida aquática, baseado no GHS (*Globally Harmonized System of Chemical Classification and Labelling*), com concentração que causa efeito negativo mensurável em 50% da população (EC50) de 127 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a mais alta concentração que não causa efeito observável baseado em resultados de teste crônico (NOEC) de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Além

¹ Valor disponível na base de dados SciFinder, calculado usando Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02 (© 1994-2013 ACD/Labs).

de toxicidade para organismos aquáticos o corante também exibe atividade mutagênica (FERRAZ ET AL., 2011).

Devido as suas características tóxicas a degradação desse corante tem sido avaliada também do ponto de vista de toxicidade e genotoxicidade. Oliveira et al. (2010) trataram amostras contendo o corante DR1 sob condições semelhantes as empregadas em estações de tratamento de água. Com esse método foi possível quebrar a ligação azo, entretanto a mutagenicidade foi apenas reduzida, mas não eliminada e não houve mineralização. Esses resultados mostram que a cloração não é a técnica mais adequada para tratamento de efluente têxtil.

Ferraz et al. (2013) avaliaram a eficiência de degradação empregando fotoeletrocatalise com nanotubos Ti/TiO₂ e mostraram que com 4 horas de tratamento de amostras contendo 0,5 µmol L⁻¹ (aproximadamente 16 mg L⁻¹) foi possível eliminar a mutagenicidade e remover 87% de carbono orgânico total. Esses resultados foram obtidos na ausência de agente dispersante, caracterizando uma situação que não seria encontrada na indústria. Trabalho desenvolvido anteriormente por Osugi et al (2009) otimizou o tratamento para amostras com a mesma concentração de corante e 0,8 g L⁻¹ de dispersante Emulsogen, empregando filme fino de Ti/TiO₂, e obteve 60% de mineralização da amostra. Os resultados com fotoeletrocatalise são interessantes do ponto de vista da mutagenicidade e remoção de COT, mas requer um tempo de tratamento relativamente longo para processos químicos.

1.4 Testes de toxicidade

A toxicologia tradicional tem por objetivo detectar o risco tóxico de substâncias químicas e extrapolar os efeitos que podem ser causados no ser humano a fim de proteger sua saúde. Entretanto, a biosfera não é composta unicamente pelo homem, de modo que é necessário estudar os efeitos tóxicos de um ponto de vista mais amplo, considerando o ecossistema como um todo, e não apenas um indivíduo. A ecotoxicologia é o ramo que tem por objetivo suprir essa necessidade, avaliando o efeito tóxico das substâncias sobre os organismos vivos que constituem a biosfera (TRUHAUT, 1977).

A legislação brasileira na Resolução CONAMA N° 430 (BRASIL, 2011), que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, prescreve que “o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no

corpo receptor”. Isso indica a necessidade de avaliar a eficiência do tratamento de efluentes do ponto de vista ecotoxicológico, entretanto a legislação não indica qual organismo deve ser utilizado para determinar a toxicidade.

Avaliações ecotoxicológicas podem envolver testes de toxicidade aguda (OLIVEIRA ET AL., 2010) ou crônica e a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) já normatiza testes com *Daphnia*, *Ceriodaphnia*, *Vibrio fischeri*, algas, peixes, misidáceos e ouriços do mar (BERTOLETTI, 2008). Esses testes são realizados em laboratório com condições controladas, portanto não mostram o real efeito que determinada substância, ou conjunto de substâncias, pode causar no ambiente. No entanto, esses resultados servem para avaliar a qualidade da água ou de efluentes e prever possíveis efeitos prejudiciais aos sistemas biológicos.

Os testes ecotoxicológicos têm sido bastante utilizados para avaliar a eficiência de processos de tratamento de diferentes contaminantes. Vacchi et al. (2013) usaram *Daphnia similis* e *Hydra attenuata* para avaliar o efeito da cloração do corante DR1 e mostraram que o tratamento tornou as amostras menos tóxicas para *D. similis*, com CE 50 43 mg L⁻¹, porém mais tóxica para *H. attenuata* devido à sensibilidade desse organismo a compostos clorados. Michael et al. (2012) usou *Daphnia magna* para monitorar a toxicidade de águas residuais de tratamento secundário, as quais foi aplicado processo foto-Fenton a fim de degradar antibióticos em baixo nível de concentração. A remoção dos antibióticos de interesse ocorreu com 180 minutos de irradiação, entretanto, o teste de toxicidade mostrou que só houve diminuição da toxicidade em relação à amostra sem tratamento após 300 minutos de irradiação. Com tempos de irradiação de até 180 minutos todas as amostras testadas apresentavam maior toxicidade que antes do tratamento. Resultados como os de Michael et al (2012) reforçam a necessidade de monitorar a toxicidade durante o tratamento, pois fornecem informações do efeito da amostra como um todo, não apenas de substâncias isoladas, atuando como um complemento às análises químicas.

Um dos organismos recomendados pela ABNT é a *Daphnia similis* (Figura 3), que é um microcrustáceo planctônico que se alimenta por filtração do material particulado em suspensão. É uma espécie utilizada em substituição à *Daphnia magna*, que apesar de ser mundialmente empregada para análises ecotoxicológicas não é nativa em muitos países tropicais.



Figura 3: Microcrustáceo *Daphnia similis*.

Daphnia similis pode ser empregada para determinar toxicidade aguda ou crônica e é sensível a um grande número de contaminantes aquáticos além de ser de fácil cultivo em laboratório (BURATINI; BERTOLETTI; ZAGATTO, 2004). As *Daphnias* são bastante empregadas em ensaios ecotoxicológicos devido à sua representatividade no nível trófico, facilidade de cultivo em laboratório, reprodução partenogenética que aumenta a reprodutibilidade dos resultados e sua sensibilidade a uma variedade de contaminantes (SHAW ET AL., 2008).

2 OBJETIVO

O presente trabalho visa produzir conhecimento a respeito de corantes têxteis que possam ser compilados com a produção intelectual de outros membros participantes do projeto temático “Avaliação da Ocorrência, Toxicidade/Genotoxicidade e Processos Para Degradação de Corantes em Efluentes e Águas Superficiais”, a fim de contribuir para a legislação brasileira atual e para o controle ambiental de corantes. Para isso foram adotados como objetivos específicos:

- Estudar a degradação do corante Disperse Red 1 por processo foto-Fenton;
- Acompanhar a toxicidade das amostras durante os experimentos de degradação;
- Identificar os produtos de degradação gerados pelo tratamento.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes

O corante comercial Disperse Red 1 fornecido por PCIL foi utilizado nos experimentos de degradação. Segundo Vacchi et al., 2013, o produto comercial é composto por 60% de corante DR1 (2-[etil[4-[2-(4-nitrofenil)diazenyl]fenil]amino]-etanol), 20% surfactante e 20% de outros agentes corantes. Nitrato férrico $[\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$ (Mallinkrodt) foi utilizado para preparar solução estoque de ferro $0,25 \text{ mol L}^{-1}$. Peróxido de hidrogênio 30% (Synth) foi utilizado como oxidante. Metavanadato de amônio (Vetec) $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado em $0,36 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (Merck) e utilizado para a determinação da concentração de peróxido de hidrogênio. Metanol (grau HPLC), ácido fórmico (grau analítico) (ambos JT Baker) e acetonitrila (grau HPLC, PANREAC) foram utilizados para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Soluções de ácido sulfúrico e hidróxido de sódio (Chemis) foram utilizadas para ajustar o pH. Para consumo do H_2O_2 foi empregada catalase bovina (Sigma-Aldrich). Para procedimentos de pré-concentração foram empregados cartuchos de extração em fase sólida Sep-pak C18, 360 mg (Waters).

3.2 Degradação por processo foto-Fenton

Para degradação por processo foto-Fenton foi utilizado um reator de bancada, previamente descrito (NOGUEIRA; GUIMARÃES, 2000) (Figura 4). O sistema é composto por

uma lâmpada de luz negra com máximo de emissão em 365 nm e potência de 15 W. Esta lâmpada encontra-se dentro de um cilindro de vidro com dimensões de 3,8 cm de diâmetro interno e 42 cm de altura por onde passa, em fluxo ascendente, a solução a ser irradiada. O volume irradiado foi de 280 mL e a propulsão foi feita por uma bomba peristáltica a uma vazão de 90 mL min⁻¹.

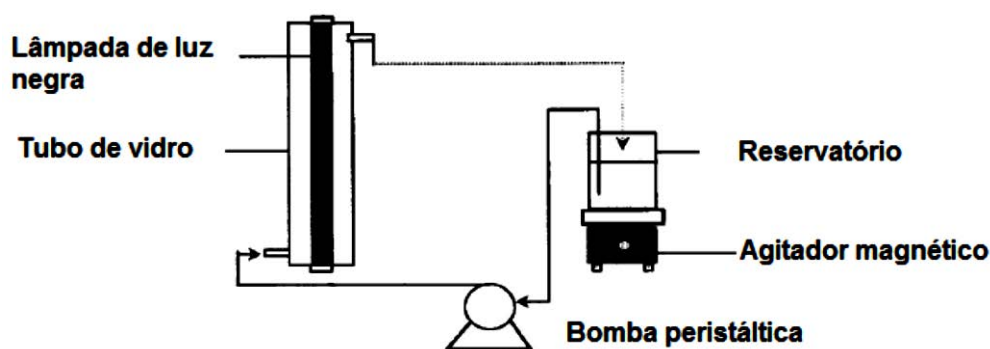


Figura 4: Representação esquemática do reator fotoquímico. Fonte: Nogueira e Guimarães, 2000.

As soluções para degradação (500 mL) foram preparadas em água destilada contendo o corante Disperse Red 1 na concentração de 20 mg L⁻¹ de corante comercial. Antes da adição da solução de ferro o pH era ajustado para $2,5 \pm 0,1$ utilizando H₂SO₄. Em seguida era adicionado Fe(III) (0,2 mmol L⁻¹) e por fim H₂O₂ (5 mmol L⁻¹). A solução era mantida sob agitação constante e quando o reator estava completamente preenchido pela solução a lâmpada era ligada e o tempo cronometrado.

O volume irradiado (280 mL) e volume tratado (500 mL) são diferentes, por esse motivo o tempo de experimento não corresponde ao tempo de irradiação. Para calcular o tempo de irradiação considera-se a equação a seguir:

$$t_{\text{irradiação}} = t_{\text{experimento}} \times \frac{V_{\text{irradiado}}}{V_{\text{total}}} \quad (7)$$

em que $t_{\text{irradiação}}$ é o tempo de irradiação, $t_{\text{experimento}}$ é o tempo total do experimento, $V_{\text{irradiado}}$ é o volume do compartimento irradiado do reator e V_{total} é o volume total de solução recirculada. Neste trabalho os resultados são apresentados em função do tempo de experimento.

3.3 Interrupção da degradação

As alíquotas para análise foram retiradas do meio reacional em intervalos de tempo pré-estabelecidos para cada tipo de análise. Como as análises cromatográficas e toxicológicas não

puderam ser feitas imediatamente após a retirada de cada alíquota foi necessário interromper a reação, pois a degradação prossegue rapidamente mesmo na ausência de radiação, pelo processo Fenton, quando na presença de H_2O_2 e Fe(II) .

3.3.1 Extração em fase sólida (EFS)

As amostras analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência e por espectrometria de massas foram submetidas à extração em fase sólida. Para isso cartuchos Sep-Pack C 18 (360 mg) foram condicionados com 5,0 mL de metanol seguido de 5,0 mL de água, usando uma seringa de vidro a uma vazão de aproximadamente 5 mL min^{-1} , tomando-se cuidado para não deixar secar o cartucho, para evitar problemas cromatográficos como a formação de caminhos preferenciais. A amostra (10 mL) foi aplicada ao cartucho e a fase aquosa descartada. Em seguida, o corante e os intermediários retidos na fase extratora eram eluídos empregando-se 2,5 mL de metanol. Com a amostra extraída preparava-se uma nova solução contendo 60% da fase metanólica eluída do cartucho e 40% de água, de modo que o fator de concentração em relação à amostra antes da extração foi de aproximadamente 2,4 vezes.

3.3.2 Catalase bovina

Às amostras submetidas aos testes de toxicidade foi adicionada catalase bovina para consumir o H_2O_2 e parar a reação de Fenton (MALATO ET AL., 2002). Nesse caso, inicialmente ajustou-se o pH (6-8), seguido da adição de 3 mL da enzima ($0,1 \text{ g L}^{-1}$) e agitação por 10 minutos. A enzima utilizada possui 2300 unidade mg^{-1} , sendo que 1 unidade decompõe 1 μmol de H_2O_2 por minuto, assim a quantidade de catalase empregada permite decompor 690 μmol de H_2O_2 por minuto (TROVÓ, 2009).

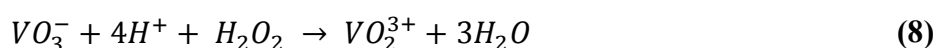
3.4 Análises químicas

3.4.1 Carbono orgânico total (COT)

A mineralização dos corantes foi acompanhada pelo decaimento da concentração de carbono orgânico total, medida com analisador de carbono Shimadzu (TOC 5000A). Estas análises foram feitas imediatamente após a retirada da amostra a fim de evitar reação posterior, sem qualquer tratamento prévio. O COT encontrado nas amostras inclui o carbono do composto alvo e dos intermediários gerados durante a degradação.

3.4.2 Concentração de H₂O₂

Para determinar a concentração de H₂O₂ alíquotas de 5,0 a 9,0 mL foram retiradas da amostra em tempos pré-estabelecidos. A essas alíquotas adicionou-se 1,0 mL de NH₄VO₃ 0,06 mol L⁻¹ (em 0,56 mol L⁻¹ de H₂SO₄) e completou-se para 10,0 mL o volume final. Na reação do H₂O₂ com metavanadato de amônio é formado peroxovanádio (Equação 8). Este foi monitorado espectrofotometricamente pela medida da absorbância no comprimento de onda de máxima absorbância, 450 nm, em um espectrofotômetro Shimadzu UV mini-1240 (NOGUEIRA; OLIVEIRA; PATERLINI, 2005)



3.4.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

O decaimento da concentração do corante foi acompanhado por CLAE em um cromatógrafo a líquido Shimadzu LC 20AT Prominence acoplado a um detector de arranjo de diodos SPD-M20A, coluna Hyperclone C8-BDS (250 x 4,6 mm, 5 µm) (Phenomenex), temperatura 40 °C a 1,00 mL min⁻¹. O procedimento cromatográfico adotado foi baseado no trabalho de Osugi et al. (2009) no qual acetonitrila e água (80:20) foram usados como fase móvel e coluna cromatográfica G-ODS (C18) (4 mm x 250 mm, 2,5 µm) Varian como fase

estacionária. Após as mudanças convenientes a fase móvel utilizada era constituída de metanol e ácido fórmico 0,1% (v/v) (60:40). Para evitar que a amostra tivesse mais força de eluição que a fase móvel a amostra foi injetada no equipamento sendo composta por 60% da fase metanólica (coletada do cartucho de SPE) e 40% de água destilada. Esse procedimento contribui para simetria do pico. Todas as amostras foram filtradas utilizando membrana de celulose regenerada 0,45 µm para evitar a entrada de partículas na coluna cromatográfica.

3.4.4 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS)

Para identificação dos intermediários de degradação foi utilizada a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas com um cromatógrafo Agilent Technologies equipado com bomba quaternária Agilent 1200, auto amostrador de alta performance Agilent 1200 acoplado a um espectrômetro de massas 3200 QTRAP (Linear Ion Trap Quad LC / MS / MS Massa Spectrometer), AB Sciex Instruments operando em um modo positivo e ionização química à pressão atmosférica APCI (do inglês, atmospheric pressure chemical ionization). As condições adotadas para a separação cromatográfica foram as mesmas já descritas no item 3.4.3

3.5 Testes de toxicidade com *Daphnia similis*

Os testes de toxicidade foram realizados de acordo com os protocolos pré-estabelecidos, no laboratório de Toxicologia e Microbiologia Ambiental Prof. Dr. Abílio Lopes – LEAL da Faculdade de Tecnologia da UNICAMP – campus Limeira, sob a supervisão da Professora Dra Gisela de Aragão Umbuzeiro.

O cultivo do microcrustáceo *Daphnia similis* foi realizado de acordo com a norma técnica NBR 12713 (ASSOCIAÇÃO..., 2009), tendo os organismos utilizados nos testes tempo de vida entre 2 e 26 h. Para cada tempo de tratamento as amostras eram diluídas em água mineral, de acordo com os seguintes percentuais de amostra tratada 0; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50 e 100. Cinco organismos eram expostos ao volume de 10 mL de cada diluição, em quatro réplicas, com pH entre 6-8, por 48 h, sem alimentação, renovação da solução e sem fotoperíodo a uma temperatura de 22 °C. Como controle negativo foi empregado água de

diluição (água mineral). Os testes foram considerados válidos quando a porcentagem dos organismos imóveis no controle negativos não excedeu 10%. Após o período de exposição foi contabilizado o número de indivíduos imóveis em cada concentração testada e os resultados foram expressos em porcentagem de imobilidade.

As amostras em que foi determinada a toxicidade foram tratadas na véspera dos testes (tempo de armazenamento de no máximo 35 horas) e mantidas sob refrigeração. Para parar a reação foi empregada a enzima catalase bovina, que consome o H_2O_2 residual. Ao empregar esse método o pH deve ser corrigido para valores entre 6,0 e 8,0. Entretanto, nesses valores de pH ocorre a formação e precipitação de hidróxidos de ferro. Assim, as soluções eram mantidas em repouso para decantação do hidróxido de ferro formado no meio e apenas o sobrenadante foi utilizado para proceder com os testes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Método analítico

4.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Inicialmente o objetivo era separar os produtos de degradação do composto de interesse, para que a quantificação do DR1 não fosse prejudicada. Devido à utilização de fase estacionária com menor cadeia carbônica (C8) que a empregada por Osugi, 2009 (metodologia na qual nos baseamos), que implica em menor interação do corante com a fase estacionária, os primeiros testes com CLAE foram feitos diminuindo a força de eluição da fase móvel, até a proporção de 50:50 acetonitrila/água.

Ainda considerando a escolha do método cromatográfico, a acetonitrila foi substituída por metanol, por tratar-se de um solvente menos prejudicial ao ambiente. Como a força eluotrópica do metanol é menor, utilizou-se nomograma de força de solvente para fase reversa em cromatografia líquida para determinar qual a proporção de metanol deveria ser utilizada para garantir a mesma força de eluição (SNYDER; KIRKLAND; DOLAN, 2010, p. 270). Assim, a composição da fase móvel foi modificada para proporção de 60:40 metanol/água e foi adicionado 0,1% de ácido fórmico à água. O comprimento de onda utilizado para o monitoramento do corante foi 498 nm, referente ao seu máximo de absorção na composição da fase móvel (Figura 5). O tempo de retenção do corante com essa condição cromatográfica foi 15,9 minutos (Figura 6).

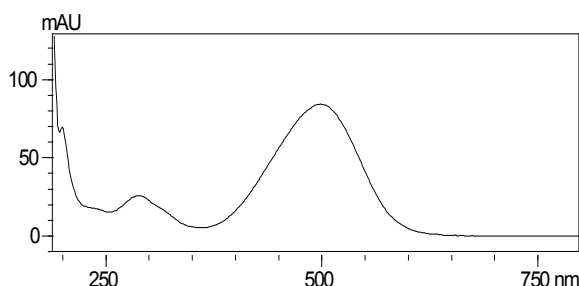


Figura 5: Espectro de absorção do corante DR 1 (20 mg L^{-1}) na composição da fase móvel (metanol/água + 0,1% de ácido fórmico (60:40)) em condições hidrodinâmicas.

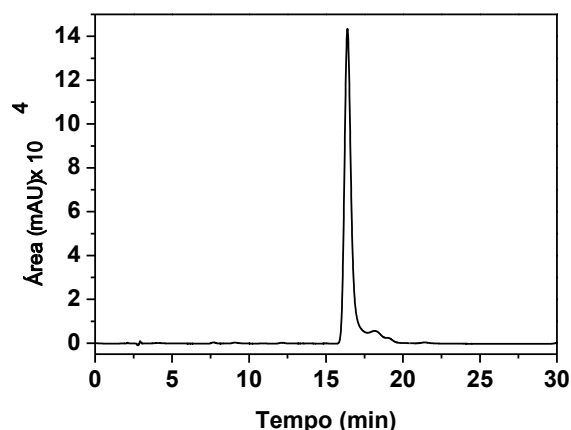


Figura 6: Cromatograma obtido para o corante DR 1 (20 mg L^{-1}). Fase móvel: metanol/água + 0,1% de ácido fórmico (60:40).

Estabelecidas as condições de eluição procedeu-se com a construção da curva analítica. Para avaliar a degradação é necessário que a curva analítica abranja um amplo intervalo de concentrações. A primeira faixa testada para curva analítica foi de $1\text{--}100 \text{ mg L}^{-1}$ de corante em metanol. Metanol foi utilizado como solvente devido à baixa solubilidade do corante em água. O limite superior escolhido foi alto em relação à concentração inicial de corante adotada devido ao procedimento de pré-concentração.

Entretanto, de acordo com o teste de Huber (CHEMKEYS, 2009), a curva analítica foi linear apenas de $12,5\text{--}100 \text{ mg L}^{-1}$. O objetivo da degradação era atingir concentrações de corante bem abaixo de $12,5 \text{ mg L}^{-1}$ o que levou à estratégia de definir a curva analítica em duas faixas. Com isso avaliou-se o intervalo de $0,10\text{--}15 \text{ mg L}^{-1}$ para baixa concentração, que mostrou-se linear entre $0,25$ e 15 mg L^{-1} . Pela correlação matemática entre a área do pico e a concentração do analito foi possível estimar os coeficientes de correlação linear das curvas analíticas (Tabela 2). Assim, para as concentrações acima de $12,5 \text{ mg L}^{-1}$ empregou-se a curva analítica (1) e para valores abaixo disso empregou-se a curva analítica (2).

Tabela 2: Equação da curva analítica, faixa linear (FL), coeficiente de correlação R, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

	Curva Analítica	FL (mg L^{-1})	n	R	LD (mg L^{-1})	LQ (mg L^{-1})
(1)	$y = 94677,9x - 75614,9$	$12,5\text{--}100$	9	0,9998	-	-
(2)	$y = 96424,58x + 10714,8$	$0,25\text{--}15,0$	7	0,9997	0,19	0,62

Com base nos parâmetros da curva analítica para baixas concentrações determinaram-se os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) aplicando-se as equações a seguir:

$$LD = \left(3 \frac{s}{S}\right) \frac{1}{A} \quad (9) \quad LQ = \left(10 \frac{s}{S}\right) \frac{1}{A} \quad (10)$$

em que s é o desvio padrão do coeficiente linear, S é o coeficiente angular da curva analítica e A é o fator de concentração com a EFS.

4.1.2 Extração em fase sólida

As análises químicas que não são realizadas imediatamente após a retirada de alíquotas dos experimentos de degradação por processo Fenton requerem que a reação seja interrompida. Uma maneira de parar o processo foto-Fenton é pelo consumo do H_2O_2 que pode ser feito pela adição de catalase bovina à amostra. Outra maneira é fazer a extração para remoção das espécies solúveis em água. A EFS tem a vantagem de permitir tanto parar a reação quanto pré-concentrar os compostos orgânicos presentes na amostra.

A utilização de EFS nem sempre garante recuperação de 100% do analito e o método deve ser ajustado para atingir a melhor recuperação possível. Recomenda-se fazer os testes de adição e recuperação na concentração mais alta, mais baixa e uma concentração intermediária a que se pretende trabalhar, pois a recuperação tende a variar de acordo com a concentração empregada, especialmente nos níveis mais baixos (RIBANI ET AL., 2004). Para o DR1 avaliou-se as concentrações de 1,6, 11,7 e 21,4 mg L⁻¹.

Os cartuchos empregados eram descartáveis. Porém, trabalhos desenvolvidos no grupo de pesquisa com 2 clorofenol (MODÉ, 2002), diclofenaco, paracetamol e amoxicilina (TROVÓ, 2009) mostraram que os cartuchos poderiam ser recuperados e reutilizados com os analitos devido às baixas concentrações empregadas. A concentração inicial de DR1 de 20 mg L⁻¹ também pode ser considerada baixa, o que permitiria a reutilização dos cartuchos. Para confirmar essa hipótese foram feitos testes de recuperação utilizando-se cada cartucho 3 vezes. Com essa condição as recuperações variaram de 89 a 115% (Tabela 3). Teste estatístico de comparação de médias (teste t) foi empregado para avaliar se as recuperações obtidas com a reutilização do cartucho eram estatisticamente iguais. Com isso verificou-se que as recuperações obtidas com uma, duas ou três utilizações do cartucho eram estatisticamente iguais para 99% de confiança.

Tabela 3: Recuperação de Disperse Red 1, na presença de $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, após extração em fase sólida com cartuchos Sep-Pack C-18.

Nível de fortificação (mg L^{-1})	Porcentagem de recuperação			Média $\pm$ sd
	Cartucho usado uma vez (n=3)	Cartucho usado duas vezes (n=3)	Cartucho usado três vezes (n=3)	
1,6	115 ± 9	89 ± 20	74 ± 18	93 ± 9
11,7	106 ± 18	112 ± 9	103 ± 8	107 ± 7
21,4	113 ± 8	99 ± 9	113 ± 22	108 ± 8

4.2 Controles

Os reagentes envolvidos no processo foto-Fenton promovem diversas reações que levam à formação de radicais hidroxila em menor extensão, comparado com a reação principal. A degradação causada por essas reações pode ser verificada com a realização de experimentos controle. A radiação também pode degradar o corante, sendo portanto mais um controle que deve ser avaliado. Assim, a fotólise do DR1 na presença e ausência de H_2O_2 e a degradação apenas na presença de H_2O_2 também foram verificadas no presente trabalho.

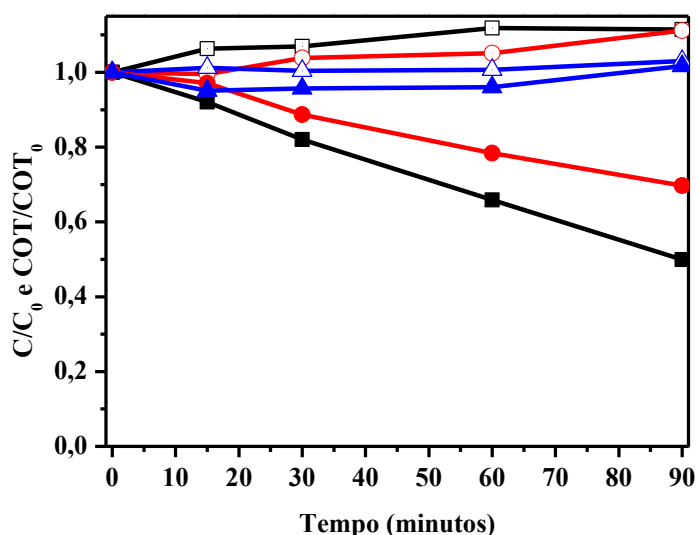


Figura 7: Controles de degradação. Símbolos abertos – COT; Símbolos fechados – concentração; — UV/ H_2O_2 ; — fotólise; — somente H_2O_2 . $[\text{DR1}] 20 \text{ mg L}^{-1}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 5,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

A Figura 7 mostra que houve variação na concentração do corante nos experimentos controle realizados na presença de radiação. Desse modo, a irradiação do corante promoveu

fotólise de aproximadamente 30% da concentração inicial do corante e a irradiação na presença de H_2O_2 atingiu aproximadamente 50%.

Quanto à mineralização, não há variação significativa de carbono orgânico total (Figura 7). O efeito dos controles, portanto, contribui para a degradação do corante, mas pode ser desconsiderado no resultado final dos experimentos de degradação devido a não remoção de carbono orgânico (ZAPATA ET AL., 2009). Por tratar-se de um corante com baixa solubilidade em água poderia haver remoção do analito por adsorção nas superfícies que compõem o reator, mas a não remoção de carbono orgânico também refuta essa hipótese.

4.3 Efeito da concentração de H_2O_2

Como dito anteriormente, concentração dos reagentes de Fenton, nomeadamente ferro e peróxido de hidrogênio, devem ser otimizadas para garantir maior eficiência do processo de degradação. Maiores concentrações de ferro, por exemplo, aumentam a velocidade da reação quando no escuro e permitem maior aproveitamento de fótons quando na presença de radiação. A legislação brasileira de acordo com a Resolução CONAMA Nº 430, entretanto, limita a concentração máxima de ferro dissolvido em 15 mg L^{-1} ($0,269 \text{ mmol L}^{-1}$) para lançamento de efluentes (BRASIL, 2011), por esse motivo sua concentração não foi variada.

Diferentemente do ferro, o H_2O_2 é consumido durante o processo de degradação. Assim, monitorar seu consumo permite avaliar a necessidade de utilizar maior concentração inicial de oxidante ou mesmo a adição deste durante a degradação, a fim de que esse reagente não limite a degradação da matéria orgânica.

Desse modo, inicialmente utilizou-se $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 e monitorou-se seu consumo durante o experimento. Com 30 minutos de experimento a concentração já havia caído para menos da metade da concentração inicial, atingindo $1,6 \text{ mmol L}^{-1}$. Ao final de 90 minutos essa concentração havia atingido níveis próximos a $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 8). Apesar da concentração relativamente baixa de H_2O_2 após 30 minutos de experimento, foi possível degradar o corante a níveis abaixo do limite de quantificação ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$) (Figura 9) e remover aproximadamente 65% do COT (Figura 10).

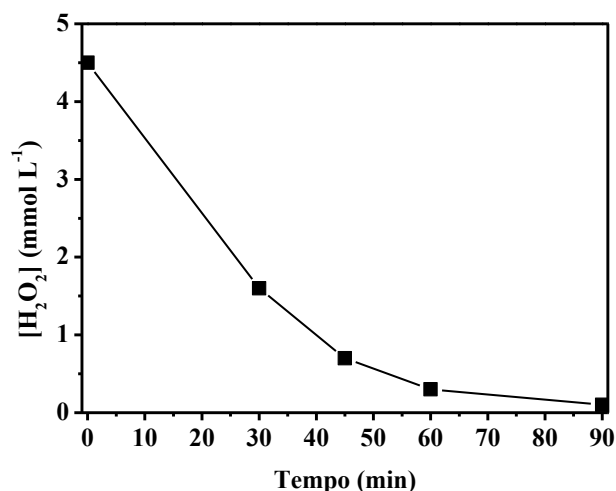


Figura 8: Concentração de H₂O₂ durante os experimentos de degradação com adição de H₂O₂ apenas no início do experimento.

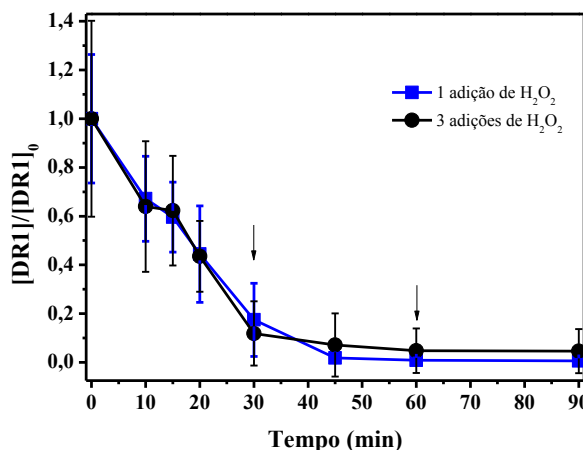


Figura 9: Efeito de adições sucessivas de H₂O₂ na degradação do corante. As setas indicam o momento em que foi adicionada uma nova alíquota de 2,5 mmol de H₂O₂.

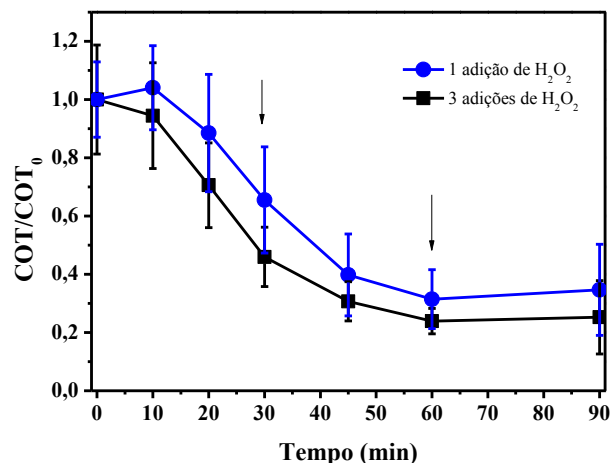


Figura 10: Efeito de adições sucessivas de H₂O₂ na remoção de COT. As setas indicam o momento em que foi adicionada uma nova alíquota de H₂O₂.

A remoção de COT requer a oxidação dos compostos orgânicos a CO₂, água e ácidos inorgânicos, porém conforme as moléculas são oxidadas elas se tornam menos reativas, e o processo de mineralização torna-se mais lento (PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006). Assim, a degradação do corante à concentração abaixo do limite de quantificação pode estar relacionada com a sua maior reatividade com HO• comparado aos produtos de degradação, já que a maior remoção de corante ocorre nos primeiros 30 minutos, quando a concentração de H₂O₂ está entre 4,5 mmol L⁻¹ e 1,6 mmol L⁻¹.

Experimentos de degradação mantendo a concentração de H₂O₂ acima de 1,0 mmol L⁻¹ foram então realizados para verificar se esse suprimento de oxidante promoveria maior

mineralização da amostra. Com essa condição foi possível atingir remoções de COT de aproximadamente 75%. Os valores indicam que a manutenção da concentração de H_2O_2 acima de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ promoveu maior mineralização da amostra, mas a análise da Figura 10 mostra que não há diferença estatisticamente significativa entre a mineralização promovida nos experimentos com adição de H_2O_2 apenas no início e durante a reação.

Os custos dos processos de tratamento aumentam conforme aumenta o consumo de reagentes. Como no caso específico do corante DR1 o aumento da quantidade de H_2O_2 não melhorou de forma apreciável a remoção de COT os experimentos subsequentes foram realizados com única adição de H_2O_2 no início do experimento.

4.4 Identificação dos produtos de degradação

A identificação dos produtos de degradação teve neste trabalho o propósito de tentar relacionar a toxicidade das amostras, especialmente nos minutos iniciais, com as espécies formadas. A Figura 11 mostra a evolução dos principais intermediários observados no tratamento do DR 1 por foto-Fenton. A concentração desses intermediários aumenta nos momentos iniciais de experimento (até 10 minutos) e após 90 minutos são totalmente removidos, como também é mostrado na Figura 12.

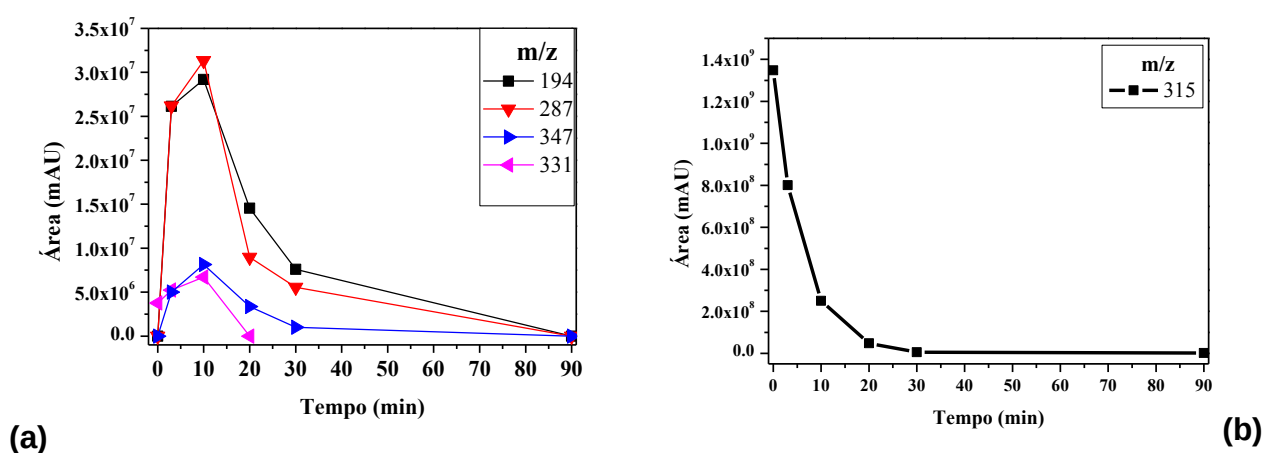


Figura 11: (a) Evolução dos intermediários de degradação identificados por espectrometria de massas e respectivas relações carga/massa; (b) degradação do corante DR1 acompanhado por espectrometria de massas.

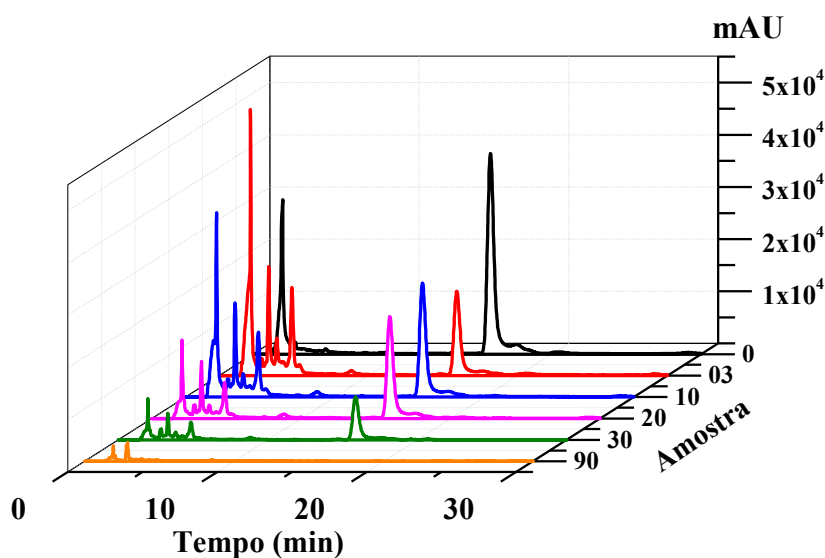


Figura 12: Geração e degradação dos intermediários de oxidação do corante por CLAE-DAD (254 nm). Tempo de experimento em minutos: 0 (—); 3 (—); 10 (—); 20 (—); 30 (—); 90 (—).

Para as propostas de intermediários levou-se em consideração além dos dados de espectrometria de massas as características do meio reacional. Por ser um tratamento que gera radicais hidroxila pode haver adição destes as insaturações da molécula nas primeiras etapas de oxidação (GA C A-MONTAÑO ET AL., 2008), o que justifica os íons com relação massa/carga (m/z) mais alto que do próprio corante (m/z 315). Na Figura 13 é apresentada fragmentação do DR1. Inicialmente há a desidratação, gerando o íon fragmento m/z 297. Essa desidratação é observada na fragmentação da maior parte dos intermediários identificados. A sucessivas fragmentações levam a formação do íon fragmento m/z 255, pela perda de grupos alquila ligados ao nitrogênio amínico. Já o fragmento que apresenta m/z 134 forma-se pela perda de nitro benzeno.

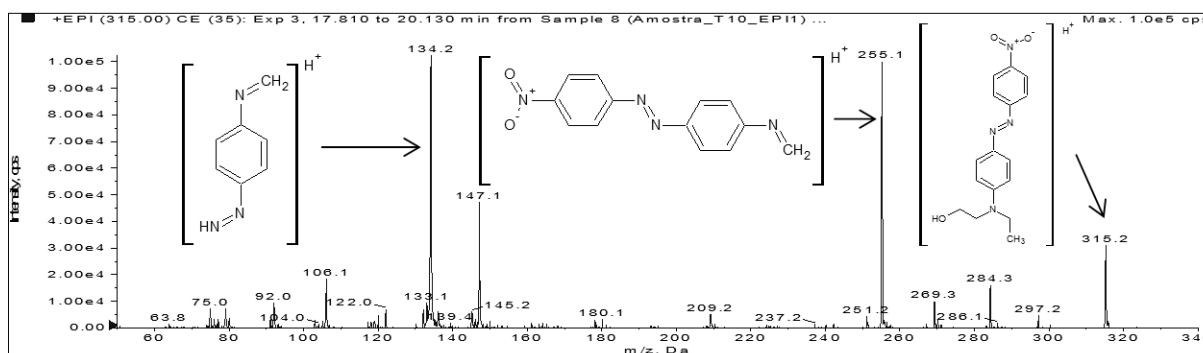


Figura 13: Espectro de massas em MS^2 do corante Disperse Red 1.

A seguir são mostrados os espectros de massas dos intermediários. A Figura 14 mostra intermediário com m/z 331 obtido pela adição de um radical hidroxila ao anel aromático mais ativado pelos substituintes. O intermediário formado continua apresentando o mesmo grupo cromóforo ($-\text{N}=\text{N}-$) que o corante, porém com efeito de conjugação diferente, modificando ou deslocando o máximo de absorção com relação ao corante. Da fragmentação desse intermediário obteve-se apenas m/z 283, que decorre da perda de água seguido da perda de etano.

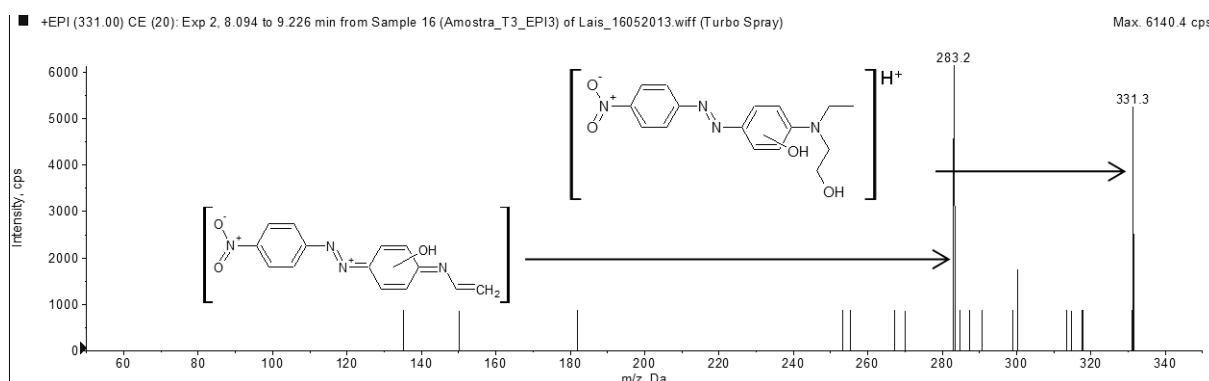


Figura 14: Espectro de massas em MS^2 do produto de degradação do DR1 com m/z 331.

O intermediário com m/z 347 (Figura 15) foi proposto com a inserção de dois radicais hidroxila no mesmo anel aromático. A fragmentação do íon levou à perda de água (m/z 329), como as fragmentações anteriores, seguido da quebra da ligação entre um dos anéis aromáticos e o grupamento azo (m/z 179).

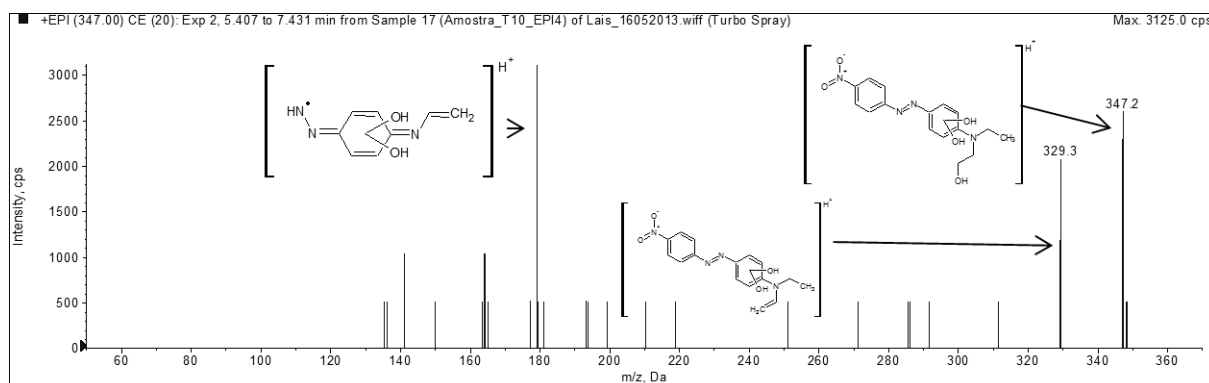


Figura 15: Espectro de massas em MS^2 do produto de degradação do DR1 com m/z 347.

Os intermediários mais abundantes apresentavam relação massa carga m/z 287 e m/z 194. O intermediário m/z 287 foi formado pela perda do grupo eteno. O fragmento m/z 241 formou-se pela saída de água seguida da perda de outro grupo eteno Figura 16.

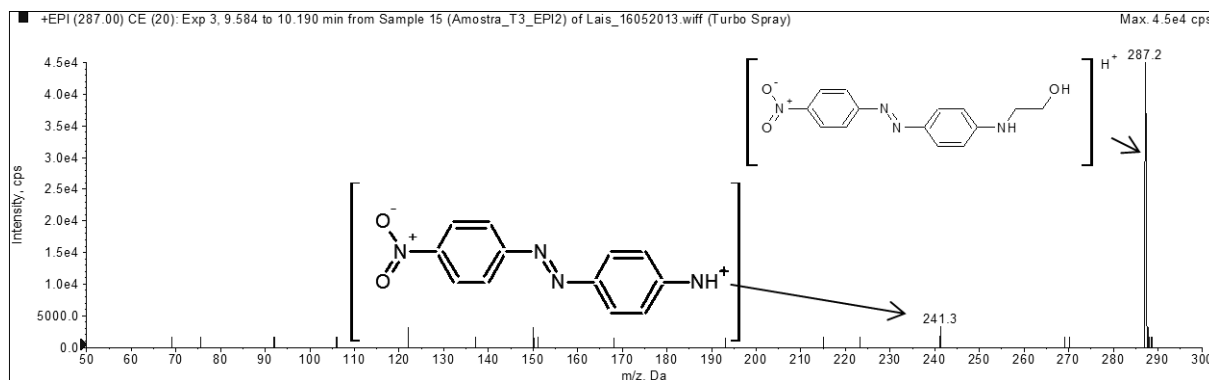


Figura 16: Espectro de massas em MS² do produto de degradação do DR1 com m/z 287.

O intermediário m/z 194 foi obtido pela clivagem da ligação entre o grupo azo e o anel aromático substituído com NO₂. A fragmentação desse intermediário levou à formação do íon m/z 166 pela perda de N₂ (Figura 17).

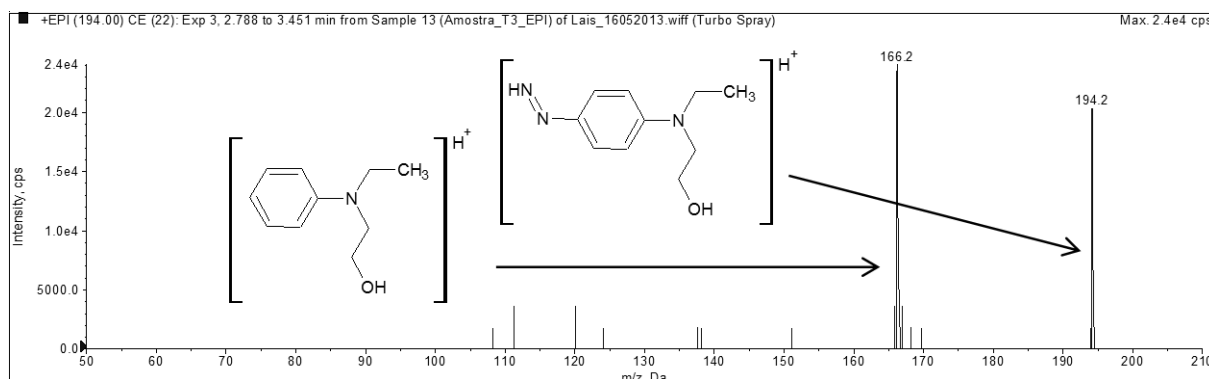


Figura 17: Espectro de massas em MS² do produto de degradação do DR1 com m/z 194.

Todos os intermediários identificados não mostraram alteração no grupo azo. Porém, podem existir intermediários que não foram identificados em que o grupo cromóforo tenha sido removido. Com a manutenção do grupo cromóforo seria de se esperar que até 10 minutos de experimento, onde há máxima concentração dos intermediários, a redução na cor da solução não fosse tão pronunciada. Ainda com relação à coloração da solução, mesmo sem modificação do grupo cromóforo, qualquer processo de oxidação interfere na extensão da conjugação das ligações π e, portanto, é capaz de promover modificações nos máximos de absorção. Observando os espectros de absorção que são mostrados na Tabela 4 nota-se que a absorção da molécula que sofreu mudança apenas no grupo auxocromo, pela perda de um grupo etil no nitrogênio aminico, apresenta espectro de absorção muito semelhante ao do corante, enquanto que as moléculas em que houve adição de hidroxila as insaturações têm maior deslocamento do máximo de absorção em relação ao corante.

Acompanhando-se a degradação por absorção UV-Vis (Figura 18) observa-se que há diminuição da absorbância em 512 nm (máximo de absorção em solução aquosa) e aumento

em 423 nm, 292 nm e 220 nm nos primeiros 10 minutos de experimento. Como há manutenção do grupo cromóforo e mudança apenas na extensão da conjugação das duplas ligações devido à mudança dos grupos substituintes é de se esperar que os compostos formados nos primeiros 10 minutos de experimento continuem apresentando absorção na região do UV/Vis.

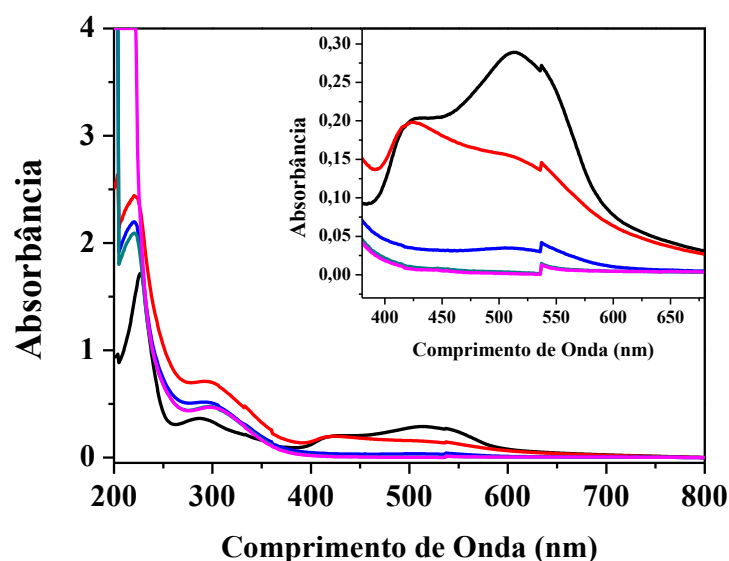
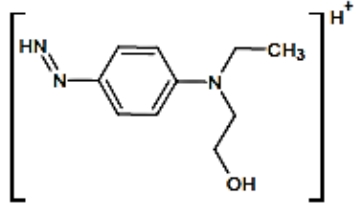
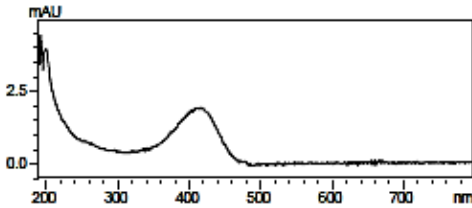
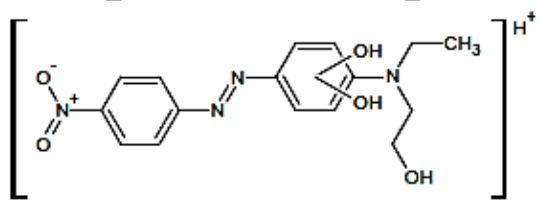
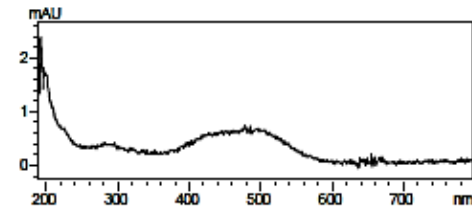
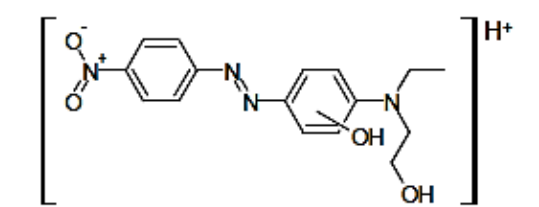
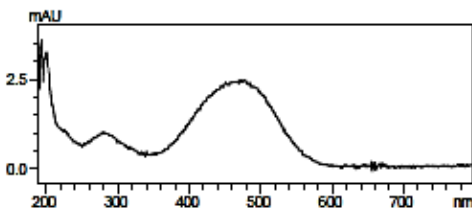
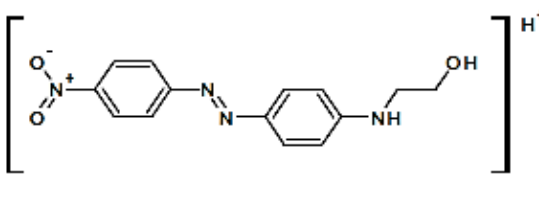
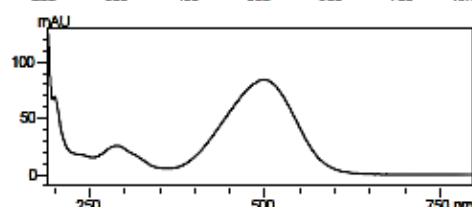
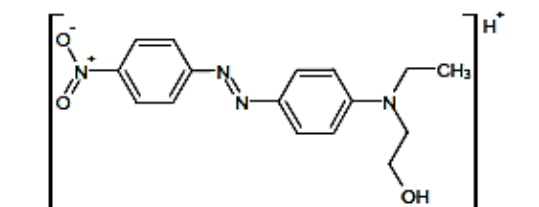


Figura 18: Acompanhamento da modificação do espectro de absorção da solução tratada em diferentes tempos de experimento: 0 min (—), 10 min (—), 30 min (—), 60 min (—) e 90 min (—). Destaque: ampliação de 380 – 680 nm.

Nos tempos seguintes há diminuição da absorção em todos os comprimentos de onda citados, atingindo a diminuição de 99% em 512 nm, referente ao corante. Exceto para absorção abaixo de 300 nm aos 90 minutos de experimento, que aumentou mais de 100% com relação à absorção no tempo inicial.

Os experimentos de CLAE-MS e CLAE-DAD foram feitos em equipamentos diferentes e, portanto, apresentam ligeira diferença entre os tempos de retenção de cada intermediário. Na tentativa de relacionar os picos observados em CLAE-MS com os observados em CLAE-DAD adotou-se a razão entre o tempo de retenção do corante nos experimentos de CLAE-MS e CLAE-DAD como constante e válida para todos os outros compostos. Isso foi necessário pois o método cromatográfico empregado não permitiu uma boa resolução entre os picos. Essa aproximação permitiu obter os espectros de absorção dos intermediários, como mostra a (Tabela 4), com exceção do intermediário m/z 194, que encontra-se numa região do cromatograma muito próxima ao volume morto. Pode-se observar que as substâncias apresentam absorção na região do visível, concordando mais uma vez com a formação de intermediários que ainda apresentam o grupo cromóforo.

Tabela 4: Espectros de absorção de alguns intermediários identificados por espectrometria de massas correlacionados com o tempo de retenção dos picos obtidos por CLAE-DAD.

t_r	m/z	Espectro de absorção	Estrutura proposta
3,05	194		
6,09	347		
8,28	331		
9,83	287		
18,1	315		

4.5 Avaliação da toxicidade

O microcrustáceo *Daphnia similis* foi utilizado para avaliar a toxicidade aguda tanto do corante quanto dos constituintes do meio reacional. O primeiro teste realizado foi o branco, a fim de avaliar se algum dos reagentes utilizados causaria efeito tóxico aos organismos. O branco continha os reagentes utilizados para o processo foto-Fenton, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, H_2O_2 , H_2SO_4 , e ainda NaOH , utilizado para corrigir o pH, e catalase bovina, utilizada para consumir o H_2O_2 . As soluções assim compostas foram testadas, seguindo o mesmo procedimento para determinação da toxicidade das amostras contendo corante, e não foi observado nenhum efeito tóxico, de modo que, se observada toxicidade nas amostras contendo corante, o efeito estaria associado unicamente aos componentes da formulação do corante e aos seus produtos de degradação produzidos pelo processo foto-Fenton.

Avaliou-se ainda a toxicidade da amostra sem tratamento, composta apenas por $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, corante e H_2SO_4 e NaOH para correção do pH. Esse procedimento foi adotado devido à precipitação de ferro no pH próximo à neutralidade que poderia remover o corante da solução por adsorção ao precipitado formado. Com essa solução foi realizado procedimento de EFS para avaliar quanto do corante permanecia em solução após a precipitação dos hidróxidos de ferro. Foram realizadas duas medidas para cada concentração e na Tabela 5 é apresentada a média dessas medidas.

A Figura 19 mostra a porcentagem de imobilidade para *Daphnia similis* como função da diluição das amostras testadas (maiores informações podem ser obtidas nos anexos A-E). Com base nesses dados é possível determinar a CE50 das amostras, que estão apresentados na Tabela 5. Vemos que na presença e ausência de ferro a CE50 foi 1% e 22,4% respectivamente. Calculando em termos de concentração de corante, isso implica que a concentração de corante tóxica para 50% dos indivíduos foi 230 e 270 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores são aproximadamente o dobro do valor determinado para CE 50 do corante com 95% de pureza (127 $\mu\text{g L}^{-1}$) (FERRAZ ET AL., 2011).

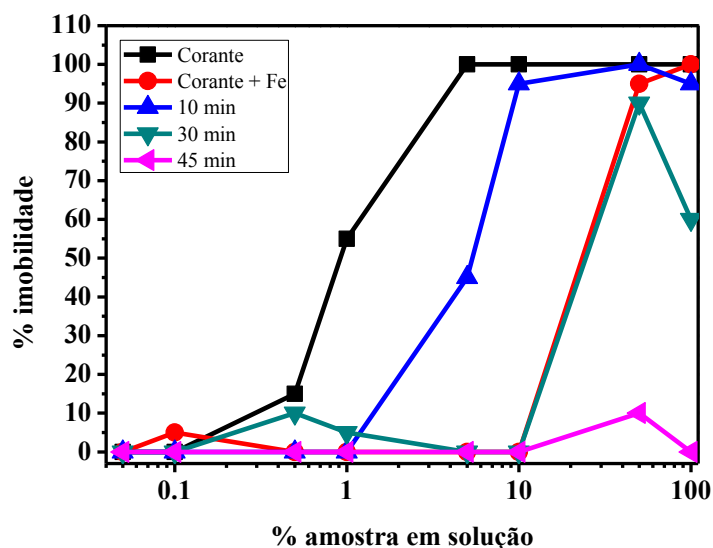


Figura 19: Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em função da diluição de cada amostra de corante durante o tratamento.

Tabela 5: Concentração de DRI e toxicidade para *Daphnia similllis* das amostras de corante durante tratamento foto-Fenton.

Tempo de experimento (min)	Concentração em solução (mg L ⁻¹)	CE 50 (%) *	Concentração equivalente (mg L ⁻¹)
0 (sem ferro)	23 ± 4	1,0	0,23
0 (com ferro)	1,2 ± 0,3	22	0,27
10 (com ferro)	3 ± 2	4,4	
30 (com ferro)	1,9 ± 0,7	28	
45 (com ferro)	0,3 ± 0,2	NT**	

* CE50 dada como % de diluição da amostra testada que causou efeito em 50% dos organismos; ** NT – não tóxico

Ainda observando a Tabela 5 vemos que com 10 minutos de tratamento a CE50 diminuiu para 4,4%, o que significa que com esse tempo de tratamento há um aumento na toxicidade da amostra em relação a amostra sem tratamento na presença de ferro e uma ligeira diminuição em relação à amostra contendo apenas corante. Com esse tempo de tratamento aproximadamente 35% do corante já havia sido degradado, entretanto, não havia variado o COT. O aumento da toxicidade é frequentemente observado em diferentes tipos de tratamento. As substâncias são degradadas em etapas, ou seja, durante o tratamento há formação de outros compostos, são os chamados produtos de degradação, por isso COT não variou.

Compostos clorados são um exemplo de produtos de degradação que podem ser mais tóxicos que os compostos iniciais, formados em processos de cloração (OLIVEIRA ET AL., 2010). Zhang mostrou que após processo de tratamento em estação de tratamento de esgoto o

efluente de uma indústria têxtil apresentou maior toxicidade aguda que antes do tratamento (ZHANG ET AL., 2012). Essas observações reforçam a necessidade de monitorar o tratamento de efluentes com bioensaios.

Embora a toxicidade aguda tenha aumentado aos 10 minutos, com 30 minutos de irradiação observa-se que a toxicidade diminui em relação à amostra sem tratamento, porém essa diminuição é relativamente pequena, uma vez que 82% do corante já tinha sido removido e 35% de COT também. A alta remoção de corante com a pequena diferença de toxicidade em relação à amostra sem tratamento indica mais uma vez que os produtos formados são mais tóxicos que o corante. Com 45 minutos não se observa efeito tóxico para *Daphnia similis*. Nesse tempo de experimento concentração de corante e o COT já haviam caído 98% e 60%, respectivamente. Portanto, podemos dizer que a toxicidade foi removida após 45 minutos de tratamento. A toxicidade não foi avaliada após esse tempo pois não houve mudanças expressivas na concentração do corante ou de COT.

A não toxicidade apresentada com 45 minutos de tratamento indica que as substâncias tóxicas para *Daphnia similis* geradas aos 10 min foram totalmente transformadas pelo processo foto-Fenton, levando tanto corantes quanto produtos de degradação a substâncias não tóxicas para esse organismo. Os resultados apresentados anteriormente evidenciam que monitorar substâncias isoladamente não é suficiente para indicar a eficiência de tratamento, uma vez que mesmo com 82% de remoção de corante a amostra ainda apresentava toxicidade.

Comparando os resultados de toxicidade com o avanço de formação de intermediários, vemos que a mais alta toxicidade observada ocorre quando há o máximo de formação dos intermediários. Pelas estruturas propostas a remoção de grupamentos alquila de amina terciária (m/z 287) e a inserção de grupos hidroxila nos anéis aromáticos (m/z 331 e 347) parece tonar os compostos mais tóxicos, embora não tenhamos encontrado na literatura informações a respeito da toxicidade das substâncias identificadas. Deve-se lembrar ainda que a toxicidade pode ser atribuída a compostos não identificados. Apesar de maior toxicidade no início, após 45 minutos de experimento atingem-se níveis não tóxicos. Esse resultado é interessante, pois mostra um tratamento que é eficiente na remoção da cor, na mineralização de 65% da amostra e na remoção da toxicidade, que é um ponto crítico, normalmente negligenciado, do tratamento de efluentes, mostrando que os orgânicos residuais não apresentam toxicidade.

5 CONCLUSÃO

O processo foto-Fenton mostrou alta eficiência tanto na remoção de cor quanto na mineralização do corante DR1, atingindo já com 30 minutos mais de 97% de remoção do corante e após o tempo final do experimento obteve-se a total remoção da absorbância na região de máxima absorção do corante e 65% de remoção de COT. A variação na quantidade de H_2O_2 adicionada durante o tratamento foto-Fenton poderia aumentar os valores de degradação e remoção de carbono orgânico total, entretanto, considerando-se os desvios das análises, não houve diferença entre as degradações com adição de H_2O_2 apenas no início do experimento e durante o experimento.

A maior produção de intermediários foi no tempo de 10 minutos de tratamento sendo removidos com tempos mais longos de degradação. Os compostos que puderam ser identificados mostraram a manutenção do grupo cromóforo, motivo pelo qual a diminuição da absorção na região do UV/Vis é mais lenta que a diminuição da concentração de DR1. Os intermediários formados com 10 minutos são os responsáveis pelo aumento da toxicidade, que diminui com a degradação dos mesmos.

O acompanhamento do tratamento com teste ecotoxicológico mostrou que a toxicidade aguda para *Daphnia similis* foi removida ao final do experimento, e os resultados indicam a importância de monitorar a toxicidade durante a degradação para evitar que os efluentes sejam considerados tratados antes da remoção da toxicidade e ainda para indicar em que momento o tratamento pode ser interrompido, evitando gastos desnecessários de reagente e energia. Por tratar-se de um organismo sensível a uma grande variedade de contaminantes ambientais pode

ser indicado pela legislação para monitoramento de efluentes têxteis, uma vez que embora a legislação não permita o lançamento de efluentes tóxicos também não indica qual organismo deve ser utilizado para determinar a toxicidade.

A eficiência do processo foto-Fenton abrangeu não apenas as características químicas da amostra, quanto à remoção do corante e da sua absorção característica, como também foi eficiente na remoção da toxicidade em curto período de tratamento.

REFERÊNCIAS

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, v. 53, n. 1, p. 51-59, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: ecotoxicologia aquática - toxicidade aguda - método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cadocera, Custacea). Rio de Janeiro, 2009. 23 p.

AZBAR, N.; YONAR, T.; KESTIOGLU, K. Comparison of various advanced oxidation processes and chemical treatment methods for COD and color removal from a polyester and acetate fiber dyeing effluent. **Chemosphere**, v. 55, n. 1, p. 35-43, 2004.

BASTIAN, E. Y. O. **Guia técnico ambiental da indústria têxtil**. São Paulo: CETESB, 2009. 85 p. Disponível em:
<http://www.cetesb.sp.gov.br/Tecnologia/producao_limpa/documentos/textil.pdf> Acesso em: 19 ago. 2013.

BERTOLETTI, E. **Controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2008. 42 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução no 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 maio 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>> Acesso em: 05 set. 2013.

BURATINI, S. V.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A. Evaluation of *Daphnia similis* as a test species in ecotoxicological assays. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 73, n. 5, p. 878-882, 2004.

CARNEIRO, P. A.; UMBUZEIRO, G. A.; OLIVEIRA, D. P.; ZANONI, M. V. Assessment of water contamination caused by a mutagenic textile effluent/dyehouse effluent bearing disperse dyes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 174, n. 1/3, p. 694-699, 2010.

CHEMKEYS. **Análise quantitativa por cromatografia**. 2009. Disponível em:
<<http://chemkeys.com/br/2009/07/23/analise-quantitativa-por-cromatografia-2/>>. Acesso em: 02 set. 2013.

CHEQUER, F. M. D.; LIZIER, T. M.; DE FELÍCIO, R.; ZANONI, M. V. B.; DEBONSI, H. M.; LOPES, N. P.; MARCOS, R.; OLIVEIRA, D. P. 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.

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

- FERRAZ, E. R.; OLIVEIRA, G. A.; GRANDO, M. D.; LIZIER, T. M.; ZANONI, M. V.; OLIVEIRA, D. P. 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.; UMBUZEIRO, G. A.; ALMEIDA, G.; CALOTO-OLIVEIRA, A.; CHEQUER, F. M.; ZANONI, M. V.; DORTA, D. J.; OLIVEIRA, D. P. 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, 2011.
- GALLARD, H.; DE LAAT, J.; LEGUBE, B. Spectrophotometric study of the formation of iron(III)-hydroperoxy complexes in homogeneous aqueous solutions. **Water Research**, v. 33, n. 13, p. 2929-2936, 1999.
- GA C A- ONTA O, J. TO ADES, F. A. P E -ESTRADA, L.; OLLER, I.; MALATO, S.; MALDONADO, M. I.; PERAL, J. Degradation pathways of the commercial reactive azo dye procion red h-e7b under solar-assisted photo-Fenton reaction. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 17, p. 6663-6670, 2008.
- 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, 1993.
- HUANG, W.; BRIGANTE, M.; WU, F.; MOUSTY, C.; HANNA, K.; MAILHOT, G. Assessment of the Fe(III)-EDDS complex in Fenton-like processes: from the radical formation to the degradation of bisphenol A. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 4, p. 1952-1959, 2013.
- MALATO, S.; BLANCO, J.; CÁCERES, J.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; AGÜERA, A.; RODRIGUEZ, A. Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-Fenton and TiO₂ using solar energy. **Catalysis Today**, v. 76, n. 2/4, p. 209-220, 2002.
- MICHAEL, I.; HAPESHI, E.; MICHAEL, C.; VARELA, A. R.; KYRIAKOU, S.; MANAIA, C. M.; FATTA-KASSINOS, D. Solar photo-Fenton process on the abatement of antibiotics at a pilot scale: degradation kinetics, ecotoxicity and phytotoxicity assessment and removal of antibiotic resistant enterococci. **Water Research**, v. 46, n. 17, p. 5621-5634, 2012.
- MODÉ, D. F. **Degradação de fenol e clorofenóis pelo processo foto-Fenton com irradiação artificial ou solar**. 2002. 84 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara 2002.
- NEAMTU, M.; YEDILER, A.; SIMINICEANU, I.; MACOVEANU, M.; KETTRUP, A. Decolorization of disperse red 354 azo dye in water by several oxidation processes: a comparative study. **Dyes and Pigments**, v. 60, n. 1, p. 61-68, 2004.
- 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, 2003.
- NOGUEIRA, R. F. P.; GUIMARÃES, J. R. Photodegradation of dichloroacetic acid and 2,4-dichlorophenol by ferrioxalate/H₂O₂ system. **Water Research**, v. 34, n. 3, p. 895-901, 2000.

NOGUEIRA, R. F. P.; OLIVEIRA, M. C.; PATERLINI, W. C. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. **Talanta**, v. 66, n. 1, p. 86-91, 2005.

NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A. G.; SILVA, M. R. A. D.; VILLA, R. D.; OLIVEIRA, M. C. D. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 400-408, 2007.

OLIVEIRA, G. A. R.; FERRAZ, E. R. A.; CHEQUER, F. M. D.; GRANDO, M. D.; ANGELI, J. P. F.; TSUBOY, M. S.; MARCARINI, J. C.; MANTOVANI, M. S.; OSUGI, M. E.; LIZIER, T. M.; ZANONI, M. V. B.; OLIVEIRA, D. P. 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/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 703, n. 2, p. 200-208, 2010.

OLLER, I.; MALATO, S.; SANCHEZ-PEREZ, J. A. Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination: a review. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 20, p. 4141-66, 2011.

OLLER, I.; FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P.; MALDONADO, M.; PÉREZ-ESTRADA, L.; GERNJAK, W.; PULGARIN, C.; PASSARINHO, P.; MALATO, S. Solar heterogeneous and homogeneous photocatalysis as a pre-treatment option for biotreatment. **Research on Chemical Intermediates**, v. 33, n. 3/5, p. 407-420, 2007.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS . **Declaração da ONU sobre a qualidade da água**. 2010. Disponível em:

<http://www.unwater.org/downloads/unw_wwd_statement1.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2014.

OSUGI, M. E.; RAJESHWAR, K.; FERRAZ, E. R. A.; OLIVEIRA, D. P.; ARAÚJO, Â. R.; ZANONI, M. V. B. Comparison of oxidation efficiency of disperse dyes by chemical and photoelectrocatalytic chlorination and removal of mutagenic activity. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 7, p. 2086-2093, 2009.

PIGNATELLO, J. J. Dark and photoassisted Fe³⁺-catalyzed degradation of chlorophenoxy herbicides by hydrogen-peroxide. **Environmental Science & Technology**, v. 26, n. 5, p. 944-951, 1992.

PIGNATELLO, J. J.; OLIVEROS, E.; MacKAY, A. Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 1-84, 2006.

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.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SALAZAR, R.; GARCIA-SEGURA, S.; URETA-ZAÑARTU, M. S.; BRILLAS, E. Degradation of disperse azo dyes from waters by solar photoelectro-Fenton. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 18, p. 6371-6379, 2011.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Têxtil e confecção**. Disponível em: < <http://portal.rn.sebrae.com.br/pagina.php?id=82> >. Acesso em: 10 jan. 2014.

SHAW, J. R.; PFRENDER, M. E.; EADS, B. D.; KLAPER, R.; CALLAGHAN, A.; SIBLY, R. M.; COLSON, I.; JANSEN, B.; GILBERT, D.; COLBOURNE, J. K. Daphnia as an emerging model for toxicological genomics. In: CHRISTER, H.; PETER, K. (Ed.). **Advances in experimental biology**. Amsterdam: Elsevier, 2008. v. 2, p. 165-328.

SILVA, M. R. A.; TROVÓ, A. G.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradation of the herbicide tebuthiuron using solar photo-Fenton process and ferric citrate complex at circumneutral pH. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 191, n. 2/3, p. 187-192, 2007.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 2010. 960 p.

SOARES, P. A.; SILVA, T. F.; MANENTI, D. R.; SOUZA, S. M.; BOAVENTURA, R. A.; VILAR, V. J. Insights into real cotton-textile dyeing wastewater treatment using solar advanced oxidation processes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 2, p. 932-945, 2014.

TRIPATHI, P.; CHAUDHURI, M. Decolourisation of metal complex azo dyes and treatment of a dyehouse waste by modified photo-Fenton (UV-vis/ferrioxalate/H₂O₂) process. **Indian Journal of Engineering & Materials Science**, v. 11, n. 6, p. 499-504, 2004.

TROVÓ, A. G. **Fotodegradação de fármacos por processos oxidativos avançados utilizando fonte de irradiação artificial e solar**: avaliação química e ecotoxicológica. 2009. 198 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

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

UMBUZEIRO, G. D. A.; FREEMAN, H. S.; WARREN, S. H.; OLIVEIRA, D. P. de; TERAQ, Y.; WATANABE, T.; CLAXTON, L. D. The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. **Chemosphere**, v. 60, n. 1, p. 55-64, 2005.

VACCHI, F. I.; ALBUQUERQUE, A. F.; VENDEMIATTI, J. A.; MORALES, D. A.; ORMOND, A. B.; FREEMAN, H. S.; ZOCOLLO, G. J.; ZANONI, M. V. B.; UMBUZEIRO, G. Chlorine disinfection of dye wastewater: implications for a commercial azo dye mixture. **Science of the Total Environment**, v. 442, n. 0, p. 302-309, 2013.

- ZAHARIA, C.; SUTEU, D. Textile organic dyes – characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents: a critical overview. In: PUZYN, T.; MOSTRAG-SZLICHTYNG, A. (Org.). **Organic pollutants ten years after the Stockholm convention**. Rijeka: InTech, 2012. p. 55-86. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/organic-pollutants-ten-years-after-the-stockholm-convention-environmental-and-analytical-update/textile-organic-dyes-characteristics-polluting-effects-and-separation-elimination-procedures-from-in>>. Acesso em: 04 mar. 2013.
- ZAPATA, A.; VELEGRAKI, T.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. A.; MANTZAVINOS, D.; MALDONADO, M. I.; MALATO, S. Solar photo-Fenton treatment of pesticides in water: effect of iron concentration on degradation and assessment of ecotoxicity and biodegradability. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 88, n. 3/4, p. 448-454, 2009.
- ZAPATA, A.; OLLER, I.; SIRTORI, C.; RODRÍGUEZ, A.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. A.; LÓPEZ, A.; MEZCUA, M.; MALATO, S. Decontamination of industrial wastewater containing pesticides by combining large-scale homogeneous solar photocatalysis and biological treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 2, p. 447-456, 2010.
- ZHANG, W.; LIU, W.; ZHANG, J.; ZHAO, H.; ZHANG, Y.; QUAN, X.; JIN, Y. Characterisation of acute toxicity, genotoxicity and oxidative stress posed by textile effluent on zebrafish. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, n. 11, p. 2019-2027, 2012.
- ZHOU, T.; LI, Y.; WONG, F. S.; LU, X. Enhanced degradation of 2,4-dichlorophenol by ultrasound in a new Fenton like system (Fe/EDTA) at ambient circumstance. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 5, p. 782-90. 2008.

ANEXO

ANEXO A – Resultado do teste de toxicidade para amostra contendo apenas DR1

	LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA E MICROBIOLOGIA AMBIENTAL "PROF. DR. ABÍLIO LOPES"			
	Resultado de Teste Agudo <i>Daphnia similis</i>			F-PAN-01-A Rev00
				Data da Revisão: _____
PAN-01 Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i>				

Organismo teste (lote): <i>D. similis</i> - 049/13 DS e 059/13 DS	
Início (data/hora): 03/10/13	Final (data/hora): 05/10/13
Responsável: Regina, Regina, Loui	

Água de diluição (lote): 164/13	Amostra ou Solução Estoque (lote):
	Dyspersed Red 1 - 20 mg/L

Temperatura inicial:	Temperatura final:
----------------------	--------------------

Amostra	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		Parâmetros	
	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg/L)
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,05 %	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,1 %	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,5 %	0/5	1/5	1/5	1/5	3/20	15%		
1 %	3/5	3/5	3/5	2/5	11/20	55%		
5 %	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%		
10 %	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%		
50 %	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%		
100 %	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%		

TRM - 0,00

Resultado CE(I)50; 48 h: 1,00 %	Intervalo de Confiança 95%: 0,73 - 1,37
---------------------------------	---

Observações:
pH 6,12 TOC = 10,63

Elaborado por: Adria Caloto de Oliveira	Revisado por: Anjaina Fernandes de Albuquerque	Aprovado por: Gisela de Aragão Umbuzeiro
Data da Elaboração: 27/07/2012	Cópia Controlada	Cópia 01 Página de

ANEXO B – Resultado do teste de toxicidade para amostra contendo apenas DR1 e $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$

	LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA E MICROBIOLOGIA AMBIENTAL "PROF. DR. ABÍLIO LOPES"		
	Resultado de Teste Agudo <i>Daphnia similis</i>		F-PAN-01-A Rev00
			Data da Revisão:
PAN-01	Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i>		

Organismo teste (lote): <i>D. similis</i> - 049/13 BS / 059/13 BS	
Início (data/hora): 03/10/13	Final (data/hora): 05/10/13
Responsável: <i>Ricarda, Larina, Lais</i>	

Água de diluição (lote): 164/13	Amostra ou Solução Estoque (lote):
	<i>Dispersão Red 1 + Fe III</i>

Temperatura inicial:	Temperatura final:
----------------------	--------------------

Amostra	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		Parâmetros	
	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg/L)
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,05%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,1%	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%		
0,5%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
1%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
5%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
10%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
50%	4/5	5/5	5/5	5/5	19/20	95%		
100%	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%		

TRIM = 0,00

Resultado CE(I)50; 48 h: 22,36%	Intervalo de Confiança 95%: 19,05 - 26,25
---------------------------------	---

Observações:

pH 7,75	TOC = 10,82
---------	-------------

Elaborado por: Adria Caloto de Oliveira	Revisado por: Anjaina Fernandes de Albuquerque	Aprovado por: Gisela de Aragão Umbuzeiro
Data da Elaboração: 27/07/2012	Cópia Controlada	Cópia 01 Página ____ de ____

ANEXO C – Resultado do teste de toxicidade para amostra com 10 minutos de tratamento

	LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA E MICROBIOLOGIA AMBIENTAL "PROF. DR. ABÍLIO LOPES"		
	Resultado de Teste Agudo <i>Daphnia similis</i>		
	PAN-01 Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i>		Data da Revisão

Organismo teste (lote): <i>D. similis</i>	049/13 DS e 059/13 DS
Início (data/hora): 03/10/13	Final (data/hora): 05/10/13
Responsável: Bianca / Larina / Lais	

Água de diluição (lote): 164113	Amostra ou Solução Estoque (lote):
	Dispersão Red. I + Fe III - Foto Fenton 10'

Temperatura inicial:	Temperatura final:
----------------------	--------------------

Amostra	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		Parâmetros	
	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg/L)
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,05%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,1%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,5%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
1%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
5%	2/5	3/5	3/5	4/5	9/20	45%		
10%	5/5	4/5	5/5	5/5	19/20	95%		
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%		
100%	5/5	4/5	5/5	5/5	19/20	95%		

TRIM: 2,50

Resultado CE(I)50; 48 h: 4,44 %	Intervalo de Confiança 95%: 3,29 - 6,00
---------------------------------	---

Observações:	
pH = 6,36	TOC = 9,75
* (TRIM: 0,00) (CE ₅₀ : 4,46%) - Demonstração (3,37 - 5,90)	

Elaborado por: Adria Caloto de Oliveira	Revisado por: Anjaina Fernandes de Albuquerque	Aprovado por: Gisela de Aragão Umbuzeiro
Data da Elaboração: 27/07/2012	Cópia Controlada	Cópia 01
		Página de

ANEXO D – Resultado do teste de toxicidade para amostra com 30 minutos de tratamento

	LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA E MICROBIOLOGIA AMBIENTAL "PROF. DR. ABÍLIO LOPES"			
	Resultado de Teste Agudo <i>Daphnia similis</i>			F-PAN-01-A Rev00
				Data da Revisão: _____
PAN-01	Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i>			

Organismo teste (lote): <i>D. similis</i> 049/13 DS e 059/13 DS
Início (data/hora): 03/10/13 Final (data/hora): 04/10/13
Responsável: Bianca / Carolina / Luis

Água de diluição (lote): 104/13	Amostra ou Solução Estoque (lote): <i>Daphnia</i>
	Bol 1 + Fe - Foto Fenton 30'

Temperatura inicial:	Temperatura final:
----------------------	--------------------

Amostra	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		Parâmetros	
	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg/L)
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,05 %	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,1 %	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,5 %	0/5	1/5	0/5	1/5	2/20	10%		
1 %	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%		
5 %	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
10 %	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
50 %	4/5	4/5	5/5	5/5	18/20	90%		
100 %	4/5	4/5	2/5	2/5	12/20	60%		

TRIM = 25,0

Resultado CE(I)50; 48 h: 28,43 %	Intervalo de Confiança 95%: 21,06 - 38,36
----------------------------------	---

Observações:
pH = 6,79 TOC = 4,736
* TRIM : 0,00 CE ₅₀ = 21,11% - Demonstração (16,45 - 27,09)

Elaborado por: Adria Caloto de Oliveira	Revisado por: Anjaina Fernandes de Albuquerque	Aprovado por: Gisela de Aragão Umbuzeiro
Data da Elaboração: 27/07/2012	Cópia Controlada	Cópia 01
		Página de

ANEXO E – Resultado do teste de toxicidade para amostra com 45 minutos de tratamento

	LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA E MICROBIOLOGIA AMBIENTAL "PROF. DR. ABÍLIO LOPES"			
	Resultado de Teste Agudo <i>Daphnia similis</i>			F-PAN-01-A Rev00
				Data da Revisão:
PAN-01	Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i>			

Organismo teste (lote): <i>D. similis</i> - 049/13 DS + 059/13 DS	
Início (data/hora): 03/10/13	Final (data/hora): 05/10/13
Responsável: Regina Leandra Lian	

Água de diluição (lote): 164/13	Amostra ou Solução Estoque (lote): <i>Expete</i>
	<i>Red 1 - Fe(III) + Ponto Ponto 45'</i>

Temperatura inicial:	Temperatura final:
----------------------	--------------------

Amostra	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		Parâmetros	
	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg/L)
Controle	4/5	4/5	4/5	4/5	16/20	5%		
0,05%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,1%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
0,5%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
1%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
5%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
10%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		
50%	0/5	0/5	2/5	0/5	2/20	10%		
100%	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		

Resultado CE(I)50; 48 h: —	Intervalo de Confiança 95%: —
(Não Tóxico)	

Observações:
pH = 6,85
TOC = 4,813

Elaborado por: Adria Caloto de Oliveira	Revisado por: Anjaina Fernandes de Albuquerque	Aprovado por: Gisela de Aragão Umbuzeiro
Data da Elaboração: 27/07/2012	Cópia Controlada	Cópia 01
		Página de