

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL**

**DEGRADAÇÃO DE CILINDROSPERMOPSINA POR  
PROCESSO FENTON: CINÉTICA, EFEITO DO pH, DA  
CONCENTRAÇÃO DE CILINDROSPERMOPSINA E DAS  
DOSES DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E Fe(II)**

**MATHEUS ALMEIDA FERREIRA**

**ORIENTADORA: CRISTINA CELIA SILVEIRA BRANDÃO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL E  
RECURSOS HÍDRICOS**

**BRASÍLIA/DF: OUTUBRO – 2022**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL**

**DEGRADAÇÃO DE CILINDROSPERMOPSINA POR PROCESSO FENTON:  
CINÉTICA, EFEITO DO pH, DA CONCENTRAÇÃO DE  
CILINDROSPERMOPSINA E DAS DOSES DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E Fe(II)**

**Dissertação submetida ao Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Faculdade de Tecnologia da Universidade de Brasília como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de mestre em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.**

**APROVADA POR:**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Cristina Celia Silveira Brandão, PhD**  
**Departamento de Engenharia Civil e Ambiental – ENC/UnB**  
**(Orientadora)**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Yovanka Pérez Ginoris, DSc**  
**Departamento de Engenharia Civil e Ambiental – ENC/UnB**  
**(Examinador Interno)**

---

**Prof. José Roberto Guimarães, DSc**  
**Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo – FECFAU/Unicamp**  
**(Examinador Externo)**

**BRASÍLIA/DF, OUTUBRO DE 2022**

## FICHA CATALOGRÁFICA

FERREIRA, MATHEUS ALMEIDA

Degradação de Cilindropermopsina por Processo Fenton: Cinética, efeito do pH, da concentração de cilindropermopsina e das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II). 2022.

xviii, 137p., 210 x 297 mm (ENC/FT/UnB, Mestre, Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, 2021).

Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

1. Processos Oxidativos Avançados

2. Processo Fenton

3. Cianotoxinas

4. Cilindropermopsina

I. ENC/FT/UnB

II. Título (série)

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

FERREIRA, M. A. (2022). Degradação de Cilindropermopsina por Processo Fenton: Cinética, efeito do pH, da concentração de cilindropermopsina e das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II). Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 137p.

## CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Matheus Almeida Ferreira

TÍTULO: Degradação de Cilindropermopsina por Processo Fenton: Cinética, efeito do pH, da concentração de cilindropermopsina e das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe (II).

GRAU: Mestre ANO: 2022

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

---

Matheus Almeida Ferreira

ferreira.m.a@outlook.com

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Lêda, e aos meus irmãos, em especial à Wesley (*in memoriam*), que sempre me apoiaram e foram compreensivos com as minhas ausências durante a realização desta pesquisa.

Aos meus amigos Carolina, Victor, Romário, Pâmella, Daniela e Elisa por todo o apoio e incentivo.

À minha orientadora, Professora Cristina, por toda a generosidade e incansável disposição para ensinar, por ouvir e respeitar minhas opiniões. Fazer ciência no Brasil tem se tornado cada vez mais difícil nos últimos anos, mas ver tudo o que a Professora Cristina faz para que nós alunos possamos desenvolver pesquisas de qualidade é muito bonito e inspirador.

Às Professoras Yovanka Ginoris e Raquel Soares e ao Professor Fernando Sodré, pelo suporte e pela troca de informações.

À Sara Kollar, Carla Vizzotto e Carla Patrícia, pelo cuidado, suporte e pela companhia no laboratório. Ao Daniel Valencia, pela amizade e parceria, por sempre estar disponível para me ouvir e por aceitar virar noites no laboratório. Estar no laboratório em plena pandemia com vocês foi mais fácil.

À Caesb, por permitir o acesso e coleta de água bruta na ETA Lago Norte. À Claudia Simões e à Cíntia Pinke pelas informações fornecidas e pela ajuda nas análises.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de Pesquisa.

Aos que não foram citados, mas que contribuíram de alguma forma, muito obrigado!

## RESUMO

A cianotoxina cilindrospermopsina (CYN) se tornou uma significativa preocupação ambiental e de saúde humana, uma vez que apresenta alto potencial toxicológico e cianobactérias produtoras de CYN são encontradas em corpos hídricos ao longo de todo o Planeta, incluindo o Brasil. Altas concentrações de cianotoxinas podem ser produzidas durante florações de cianobactérias e atenção especial é necessária quando as florações ocorrem em reservatórios de água destinados ao consumo humano, já que as cianotoxinas extracelulares não são efetivamente removidas por tratamentos convencionais. Dessa forma, tratamentos avançados, como o processo oxidativo Fenton, se fazem necessários para produzir água segura. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar, em escala de bancada, a aplicação do processo Fenton para a degradação de CYN em matrizes água ultrapura (UP), água ultrapura contendo metanol (UPM) e água do Lago Paranoá contendo metanol (LPM). Para as três matrizes avaliadas, a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima para degradação de  $0,05 \mu M$  de CYN foi de 0,4, com eficiência de degradação máxima cerca de 100% em matriz UP ( $25 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $62,5 \mu M$  de  $Fe(II)$ ), 91% em matriz UPM ( $50 \mu M$  de  $H_2O_2$ ,  $125 \mu M$  de  $Fe(II)$  e  $513,3 \mu M$  de metanol) e de 98% em matriz LPM ( $100 \mu M$  de  $H_2O_2$ ,  $250 \mu M$  de  $Fe(II)$  e  $513,3 \mu M$  de metanol). Quando a concentração inicial de CYN aumentou de  $0,05$  para  $0,2 \mu M$ , a eficiência de degradação de CYN diminuiu de 99% para 86% em matriz UPM com doses de  $25 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $62,5 \mu M$  de  $Fe(II)$  e de 94% para 85% em matriz LPM com doses de  $75 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $187,5 \mu M$  de  $Fe(II)$ . A degradação de CYN pelo processo Fenton, utilizando-se a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima de 0,4, mostrou-se pouco dependente da presença de outros compostos orgânicos existentes na matriz, uma vez que a adição de  $5 \text{ mg/L}$  de ácidos húmicos,  $125 \mu M$  C de matéria orgânica algogênica e  $513,3 \mu M$  de metanol resultaram em redução máxima de eficiência de 16 pontos percentuais. Independentemente da matriz analisada, valores de degradação de CYN superiores a 93% foram obtidos para faixa de pH inicial entre 3 e 5. Sob as condições estudadas, a degradação de CYN pelo processo Fenton seguiu o modelo cinético de pseudo-primeira-ordem ( $0,910 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ) para matriz UPM e não apresentou ordem definida para matriz LPM, oscilando entre pseudo-segunda-ordem ( $1,314 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e pseudo-terceira-ordem ( $1,878 \times 10^{13} \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

**Palavras-chave:** processos oxidativos avançados, processo Fenton; cianotoxinas; cilindrospermopsina.

## ABSTRACT

The cyanotoxin cylindrospermopsin (CYN) has become a significant environmental and human health concern due to its high toxicological potential and because CYN-producing species are found in water bodies all over the Planet, including Brazil. During cyanobacterial blooms, high concentrations of cyanotoxins may be produced, and special attention is needed when these blooms occur in sources of water intended for human consumption, as extracellular cyanotoxins are not effectively removed by conventional drinking water treatments. Thus, advanced treatment technologies, such as Fenton's oxidation process, are necessary to produce safe water. In this context, the present study aimed to evaluate, on a bench scale, the application of the Fenton process for CYN degradation in three different water matrices: ultrapure water (UW), ultrapure water with the presence of methanol (UWM) and Paranoá Lake water with the presence of methanol (PLWM). For all three matrices, the optimal  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  molar ratio for the degradation of  $0.05 \mu\text{M}$  of CYN was 0.4, with maximum degradation efficiency of about 100% for UP ( $25 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$  and  $62.5 \mu\text{M Fe(II)}$ ), 91% for UWM ( $50 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$ ,  $125 \mu\text{M Fe(II)}$  and  $513.3 \mu\text{M}$  methanol) and 98% for PLWM ( $100 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$ ,  $250 \mu\text{M Fe(II)}$  and  $513.3 \mu\text{M}$  methanol). When the initial CYN concentration increased from  $0.05$  to  $0.2 \mu\text{M}$ , the degradation efficiency decreased from 99% to 86% in UWM with  $25 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$  and  $62.5 \mu\text{M Fe(II)}$ , and from 94% to 85% in PLWM with  $75 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$  and  $187.5 \mu\text{M Fe(II)}$ . Furthermore, at the optimal  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  molar ratio of 0.4, CYN degradation by Fenton process was shown to be poorly dependent on the presence of other organic compounds in the matrix, since the addition of  $5 \text{ mg/L}$  of humic acids,  $125 \mu\text{M C}$  of algogenic organic matter and  $513.3 \mu\text{M}$  of methanol resulted in a maximum efficiency loss of 16 percentage points. Regardless of the matrix analyzed, degradation of CYN higher than 93% was obtained for pH values between 3 and 5. Under the conditions herein studied, CYN degradation by Fenton process followed the pseudo-first-order ( $0.910 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ) kinetic model for UWM, while for PLWM the order was not clearly defined, oscillating between pseudo-second-order ( $1.314 \times 10^5 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) and pseudo-third-order ( $1.878 \times 10^{13} \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

**Keywords:** advanced oxidation processes; Fenton process; cyanotoxins; cylindrospermopsin.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	4
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>5</b>
3.1	CYANOBACTÉRIAS: ASPECTOS GERAIS .....	5
3.2	CYANOTOXINAS .....	9
3.3	CILINDROSPERMOPSINAS .....	12
3.4	DEGRADAÇÃO DE CYANOTOXINAS NA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO POR POA .....	16
3.5	PROCESSO FENTON .....	20
3.6	ESTUDOS ENVOLVENDO A APLICAÇÃO DE POA PARA DEGRADAÇÃO DE CYANOTOXINAS NA ÁGUA .....	22
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
4.1	REAGENTES .....	33
4.2	CULTIVO DE <i>RAPHIDIOPSIS RACIBORSKII</i> E PREPAPO DE EXTRATO .....	33
4.3	ENSAIOS DE OXIDAÇÃO .....	35
4.4	MÉTODOS ANALÍTICOS .....	36
4.4.1	<i>Detecção e quantificação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></i> .....	36
4.4.2	<i>Detecção e quantificação de Fe(II), Fe(III) e Ferro total</i> .....	37
4.4.3	<i>Detecção e quantificação de CYN</i> .....	38
4.4.4	<i>Outros métodos</i> .....	39
4.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	40
4.5.1	<i>Fase 0: Validação do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN</i> 41	
4.5.2	<i>Fase 1: Efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na oxidação de CYN</i> .....	43
4.5.3	<i>Fase 2: Efeito das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II)</i> .....	48

4.5.4	<i>Fase 3: Influência do metanol da degradação de CYN em água ultrapura ...</i>	48
4.5.5	<i>Fase 4: Efeito da concentração inicial de CYN na eficiência de oxidação ....</i>	49
4.5.6	<i>Fase 5: Efeito do pH inicial na degradação de CYN.....</i>	49
4.5.7	<i>Fase 6: Ensaio cinéticos de degradação de CYN.....</i>	50
4.5.8	<i>Fase 7: Efeito dos ácidos húmicos e da matéria orgânica algogênica na degradação de CYN em água ultrapura.....</i>	50
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>52</b>
5.1	ETAPA 0: VALIDAÇÃO DO MÉTODO CLAE-EM/EM PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CYN.....	52
5.2	FASE 1: EFEITO DA RELAÇÃO MOLAR H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /FE(II) NA DEGRADAÇÃO DE CYN.....	59
5.2.1	<i>Etapa 0 – Ensaio preliminares .....</i>	59
5.2.2	<i>Etapa 1 – Screening do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol.....</i>	64
5.2.3	<i>Etapa 2 – Efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN na faixa de maior degradação obtida .....</i>	68
5.2.4	<i>Etapa 3 – Screening do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em água do Lago Paranoá contendo metanol.....</i>	70
5.3	FASE 2: EFEITO DAS DOSES DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> E FE (II) .....	74
5.3.1	<i>Matriz água ultrapura contendo metanol.....</i>	74
5.3.2	<i>Matriz água do Lago Paranoá contendo metanol.....</i>	76
5.4	FASE 3: INFLUÊNCIA DO METANOL NA EFICIÊNCIA DE OXIDAÇÃO DE CYN.....	79
5.5	FASE 4: EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE CYN.....	85
5.6	FASE 5: EFEITO DO PH INICIAL .....	89
5.7	FASE 6: CINÉTICA .....	93
5.7.1	<i>Matriz água ultrapura contendo metanol.....</i>	93
5.7.2	<i>Matriz água do Lago Paranoá contendo metanol.....</i>	96



5.8 FASE 7: EFEITO DA PRESENÇA DE ÁCIDOS HÚMICOS E MATÉRIA ORGÂNICA ALGOGÊNICA NA OXIDAÇÃO DE CYN.....	97
<b>6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>103</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>106</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Cianotoxinas produzidas pelas espécies de cianobactérias comuns em águas superficiais (Organização Mundial da Saúde, 2017).....	9
Tabela 3.2 – Efeito tóxico de cianotoxinas em mamíferos/humanos (Falconer, 2004; Van Apeldoorn <i>et al.</i> , 2007; Pegram <i>et al.</i> , 2008; Huisman <i>et al.</i> , 2018; Chorus e Welker, 2021).....	11
Tabela 3.3 – Fórmula química e massa molar de cilindrospermopsina e variantes (Chorus e Welker, 2021). ....	13
Tabela 3.4 – Concentrações de CYN, 7-epi-CYN e 7-deoxi-CYN em cultivo para diferentes linhagens de <i>Oscillatoria</i> (Mazmouz <i>et al.</i> , 2011). ....	14
Tabela 3.5 – Potencial de redução de agentes oxidantes comumente utilizados no tratamento de efluentes (Schneider e Bláha, 2020). ....	18
Tabela 3.6 – Condições experimentais e degradação de MCs por processo Fenton reportadas na literatura. ....	29
Tabela 4.1 – Reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho.....	34
Tabela 4.2 – Métodos analíticos para caracterização da água natural. ....	39
Tabela 4.3 – Interferentes analisados para verificação da seletividade do método CLAE-EM/EM de detecção e quantificação de CYN.....	43
Tabela 4.4 – Matriz de planejamento experimental para verificação da robustez do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN. As amostras foram enriquecidas com 0,012 µM de CYN. ....	44
Tabela 4.5 – Condições experimentais dos ensaios preliminares. Em todos os experimentos o pH inicial foi de cerca de 5,0. ....	46
Tabela 5.1 – Valores de LOD e LOQ para o método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM em matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá.....	54
Tabela 5.2 – Viés do método para detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM expresso como recuperação para as concentrações de CYN de 0,0022 e 0,0481 µM em matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá. ....	56

Tabela 5.3 – Teste de normalidade Shapiro-Wilk com $\alpha$ de 5% para cada amostra analisada nos ensaios de robustez.....	57
Tabela 5.4 – Resultados da análise de variância com quatro fatores e $\alpha$ de 5% para avaliação da robustez do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN.....	58
Tabela 5.5 – Características da água natural coletada após pré-filtração na Estação de Tratamento de Água Lago Norte. ....	71
Tabela 5.6- Parâmetros cinéticos da oxidação de CYN em água ultrapura contendo metanol pelo processo Fenton. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de 0,05 $\mu$ M de CYN e doses de 25 $\mu$ M de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 62,5 $\mu$ M de Fe(II).....	94
Tabela 5.7- Parâmetros cinéticos da oxidação de CYN em água do Lago Paranoá contendo metanol pelo processo Fenton. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de 0,05 $\mu$ M de CYN e doses de 75 $\mu$ M de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 187,5 $\mu$ M de Fe(II).....	97

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Fluxograma da origem de florações de cianobactérias (Merel <i>et al.</i> , 2013). .....	7
Figura 3.2 – Estrutura química de (a) CYN e variantes (b) 7-epi-CYN (c) 7-deoxi-CYN (d) 7-deoxi-desulfo-CYN e (e) 7-deoxi-desulfo-12-acetil-CYN (Wimmer <i>et al.</i> , 2014). .....	13
Figura 3.3 – Classificação dos POA tradicionais e emergentes (Priyadarshini <i>et al.</i> , 2022). .....	19
Figura 3.4 – Sítios ativos para degradação de CYN por processos oxidativos de UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (He <i>et al.</i> , 2014). .....	31
Figura 4.1 – Gradiente de eluição utilizado no método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM. ....	38
Figura 4.2 – Fluxograma geral da metodologia experimental para avaliação da degradação de CYN pelo processo Fenton. .....	40
Figura 5.1 – Linearidade do método de detecção e quantificação de CYN (entre 0,002 e 0,217 µM) para (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá. ....	52
Figura 5.2 – Curvas de calibração para (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá. ....	53
Figura 5.3 – Determinação dos valores de LOD e LOQ em (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá. .....	53
Figura 5.4 – Faixas de trabalho do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN em (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá. .....	54
Figura 5.5 – Avaliação da seletividade do método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM. Concentrações de 0,012 µM de CYN, 5 mg/L de ácidos húmicos (AH), reagentes Fenton (20,9 µM de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 55,9 µM de Fe(II) e 23,3 µM de Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> ) e matéria orgânica algogênica (MOA) proveniente de extrato contendo CYN em concentração de 0,0024 µM, e pH inicial corrigido para 5,0 com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50 mM. ....	55

Figura 5.6 – Determinação do viés do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN expresso como recuperação para as concentrações de CYN de 0,0022 e 0,0481 $\mu\text{M}$ em (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá.....	56
Figura 5.7 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de (a) CYN, $\text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{Fe(II)}$ , e (b) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de 1.026,6 $\mu\text{M}$ de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ , concentração inicial de 0,1 $\mu\text{M}$ de CYN e doses iniciais de, 2,1 $\mu\text{M}$ de $\text{H}_2\text{O}_2$ e 0,75 a 5,25 $\mu\text{M}$ de $\text{Fe(II)}$ .....	60
Figura 5.8 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de (a) CYN, $\text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{Fe(II)}$ , e (b) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de 1.026,6 $\mu\text{M}$ de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ , concentração inicial de 0,1 $\mu\text{M}$ de CYN e doses de 10 $\mu\text{M}$ de $\text{H}_2\text{O}_2$ e 3,6 a 25 $\mu\text{M}$ de $\text{Fe(II)}$ . .....	60
Figura 5.9 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de CYN, $\text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{Fe(II)}$ em (a) 30 min, (b) 60 min, e (c) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 $\mu\text{M}$ de metanol, pH inicial $\approx 5$ , concentração inicial de 0,05 $\mu\text{M}$ de CYN e doses de 10 $\mu\text{M}$ de $\text{H}_2\text{O}_2$ e 3,6 a 25 $\mu\text{M}$ de $\text{Fe(II)}$ . .....	61
Figura 5.10 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de (a) CYN, $\text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{Fe(II)}$ , e (b) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 $\mu\text{M}$ de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ , concentração inicial de 0,05 $\mu\text{M}$ de CYN e doses de 25 $\mu\text{M}$ de $\text{Fe(II)}$ e 10 a 70 $\mu\text{M}$ de $\text{H}_2\text{O}_2$ . .....	62
Figura 5.11 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de CYN, $\text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{Fe(II)}$ em (a) 5 min, (b) 30 min, e (c) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 $\mu\text{M}$ de metanol, pH inicial $\approx 5$ , concentração inicial de 0,05 $\mu\text{M}$ de CYN e doses de 50 $\mu\text{M}$ de $\text{Fe(II)}$ e 20 a 140 $\mu\text{M}$ de $\text{H}_2\text{O}_2$ . .....	63
Figura 5.12 – Concentrações dos reagentes Fenton em cada grupo de ensaios para determinação do efeito da relação molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ na degradação de CYN em matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 $\mu\text{M}$ de metanol. ....	64

Figura 5.13 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe(II). Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 μM de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial ≈ 5, dose de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> fixa em 25 μM e doses de Fe(II) variando de 6,3 a 62,5 μM. ....	65
Figura 5.14 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe(II). Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 μM de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial ≈ 5, dose de Fe(II) fixa em 25 μM e doses de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> variando de 10 a 100 μM. ....	66
Figura 5.15 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe(II). Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 μM de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial ≈ 5, dose de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> fixa em 25 μM e doses de Fe(II) variando de 25 a 125 μM. ....	69
Figura 5.16 – Concentração residual de CYN para diferentes relações molares H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe(II). Matriz água do Lago Paranoá contendo cerca de 513,3 μM de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, dose de 25 μM de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e doses de 25 a 125 μM de Fe(II). ....	71
Figura 5.17 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (c) Fe(II), (d) Fe(III), (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe(II). Matriz água do Lago Paranoá contendo cerca de 513,3 μM de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial ≈ 5, dose de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> fixa em 75 μM e doses de Fe(II) variando de 22 a 375 μM. ....	72
Figura 5.18 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe(II). Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 μM de metanol, tempo de reação de 30 min e pH inicial ≈ 5. ....	75
Figura 5.19 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (c) Fe(II), (d) Fe(III), (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a	

relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água do Lago Paranoá contendo cerca de $513,3 \mu M$ de metanol, Tempo de reação de 30 min e pH inicial $\approx 5$ . .....	77
Figura 5.20 – Valores médios ( $n=2$ ) e desvio padrão da concentração residual de CYN em matriz água ultrapura sem metanol para as dose fixas de $H_2O_2$ de (a) $2,4 \mu M$ e (b) $25 \mu M$ . Tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ e doses de $0,7$ a $125 \mu M$ de $Fe(II)$ . .....	79
Figura 5.21 – Valores médios ( $n \geq 2$ ) e desvio padrão da concentração relativa ( $C/C_0$ ) de CYN em matrizes água ultrapura sem e com metanol. Tempo de reação 30 min, pH 5, concentração de $0,05 \mu M$ de CYN e doses de $25 \mu M$ de $H_2O_2$ e $7,4$ a $125 \mu M$ de $Fe(II)$ . .....	81
Figura 5.22 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) $H_2O_2$ , e (c) $Fe(II)$ , $Fe(III)$ e ferro total para diferentes doses de $H_2O_2$ e $Fe(II)$ , mantendo-se fixa em $0,4$ a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura sem metanol, tempo de reação de 30 min e pH inicial $\approx 5$ . .....	82
Figura 5.23 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) $H_2O_2$ , e (c) $Fe(II)$ , $Fe(III)$ e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes concentrações iniciais de CYN, mantendo-se fixa em $0,4$ a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ , dose de $H_2O_2$ de $25 \mu M$ e dose de $Fe(II)$ de $62,5 \mu M$ . .....	86
Figura 5.24 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) $H_2O_2$ , e (c) $Fe(II)$ , (d) $Fe(III)$ , (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes concentrações iniciais de CYN, mantendo-se fixa em $0,4$ a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água do Lago Paranoá metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ , dose de $H_2O_2$ de $75 \mu M$ e dose de $Fe(II)$ de $187,5 \mu M$ . .....	87
Figura 5.25 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) $H_2O_2$ , e (c) $Fe(II)$ , $Fe(III)$ e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes valores de pH inicial, mantendo-se fixa em $0,4$ a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ , dose de $H_2O_2$ de $25 \mu M$ e dose de $Fe(II)$ de $62,5 \mu M$ . .....	89
Figura 5.26 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) $H_2O_2$ , e (c) $Fe(II)$ , (d) $Fe(III)$ , (e) ferro total, e (f) desenvolvimento	

do pH de oxidação para diferentes valores iniciais de pH, mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial $\approx 5$ , dose de $H_2O_2$ de $75 \mu M$ e dose de $Fe(II)$ de $187,5 \mu M$ . .....	90
Figura 5.27 – Ajuste dos dados experimentais de degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol pelo processo Fenton aos modelos cinéticos de (a) pseudo-zero-ordem, (b) pseudo-primeira-ordem, (c) pseudo-segunda-ordem e (d) pseudo-terceira-ordem. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de $0,05 \mu M$ de CYN e doses de $25 \mu M$ de $H_2O_2$ , $62,5 \mu M$ de $Fe(II)$ . .....	94
Figura 5.28 – Ajuste dos dados experimentais de degradação de CYN em água do Lago Paranoá contendo metanol pelo processo Fenton aos modelos cinéticos de (a) pseudo-zero-ordem, (b) pseudo-primeira-ordem, (c) pseudo-segunda-ordem e (d) pseudo-terceira-ordem. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de $0,05 \mu M$ de CYN e doses de $75 \mu M$ de $H_2O_2$ , $187,5 \mu M$ de $Fe(II)$ . .....	96
Figura 5.29 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) $H_2O_2$ , (c) $Fe(II)$ , (d) $Fe(III)$ , (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de $H_2O_2$ e $Fe(II)$ , mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo metanol, tempo de reação de 30 min e pH inicial $\approx 5$ . .....	99
Figura 5.30 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) $H_2O_2$ , (c) $Fe(II)$ , (d) $Fe(III)$ , (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de $H_2O_2$ e $Fe(II)$ , mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo metanol e $5 \text{ mg/L}$ de AH, tempo de reação de 30 min e pH inicial $\approx 5$ . .....	100
Figura 5.31 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) $H_2O_2$ , (c) $Fe(II)$ , (d) $Fe(III)$ , (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de $H_2O_2$ e $Fe(II)$ , mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo MOA (CONP = $125 \mu M$ C), tempo de reação de 30 min e pH inicial $\approx 5$ . .....	101



## LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E ABREVIACÕES

$\cdot\text{OH}$  – Radical hidroxila

$\text{HO}_2\cdot$  – Radical hidroperoxila

7-deoxi-CYN – 7-deoxi-cilindrospermopsina

7-deoxi-desulfo-12-acetil-CYN – 7-deoxi-desulfo-12-acetil-cilindrospermopsina

7-Deoxi-desulfo-CYN – 7-deoxi-desulfo-cilindrospermopsina

7-epi-CYN – 7-epi-cilindrospermopsina

AH – Ácidos húmicos

CLAE-EM/EM – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial

CONP – Carbono orgânico não-purgável

CYN – Cilindrospermopsina

CYNs – Cilindrospermopsinas (cilindrospermopsina e variantes)

DPD – Sulfato de N,N-dietil-1,4-fenilenodiamônio

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay*

EPH – Eletrodo-padrão de hidrogênio

HPLC – *High performance liquid chromatography*

LC-QTOF/MS – *Liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry*

MC – Microcistina

MC-LR – Variante LR de microcistinas

MC-RR – Variante RR de microcistinas

MCs – Microcistinas (microcistina e variantes)

MOA – Matéria orgânica algogênica

MON – Matéria orgânica natural

MRM – Monitoramento de reações múltiplas

MS – Ministério da Saúde

ns – Sem diferença estatística significativa

OD – Oxigênio dissolvido

OMS – Organização Mundial da Saúde

POA – Processos oxidativos avançados

POD – Peroxidase

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

# 1 INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos naturais podem se tornar eutróficos à medida que envelhecem e são preenchidos com sedimentos (Carpenter, 1981). Entretanto, atividades humanas, como uso e ocupação inadequada de bacias hidrográficas, agricultura, indústria e disposição de esgotos tratados de forma ineficiente, podem acelerar a eutrofização natural por meio do aumento do aporte de nutrientes, resultando na eutrofização antropogênica.

O enriquecimento de corpos hídricos por nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, promove o rápido crescimento de cianobactérias, algas e plantas aquáticas, que altera a biodiversidade e o equilíbrio do ecossistema, comprometendo a qualidade e os vários usos da água (Thomas, 1969; Colby *et al.*, 1972a; Nixon, 1995; Smith, 2003; Smith *et al.*, 2006; Dolman *et al.*, 2012). O rápido crescimento de cianobactérias em ambientes eutrofizados pode ser prejudicial quando as cianotoxinas produzidas atingem concentrações capazes de causar danos à saúde de humanos e de animais.

Dezenas de gêneros e espécies de cianobactérias são capazes de produzir alguma toxina (Codd, 1995; Carmichael, 1997; Antoniou *et al.*, 2005). As cilindrospermopsinas (CYNs) estão entre as cianotoxinas de maior interesse sanitário, já que possuem efeitos hepatotóxicos, nefrotóxicos, imunotóxicos, citotóxicos e genotóxicos (Falconer *et al.*, 1999; Falconer, 2004; Humpage *et al.*, 2005; Poniedziątek *et al.*, 2012). As CYNs são produzidas por espécies de vários gêneros, incluindo *Raphidiopsis*, *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Lyngbya*, e *Umezakia*. A presença de espécies produtoras de CYNs já foi relatada em lagos, rios e mananciais em todo o Planeta (Buratti *et al.*, 2017).

A maioria das cianotoxinas, como microcistinas (MCs), nodularinas e saxitoxinas, encontra-se principalmente na forma intracelular, ou seja, as cianotoxinas são mantidas no interior das células e só são liberadas para o corpo hídrico (toxina extracelular) quando ocorre a lise celular. Entretanto, as CYNs podem ser liberadas para o ambiente aquático durante todo o ciclo de vida das cianobactérias (Antoniou *et al.*, 2005). Enquanto a fração de MCs extracelular representa menos de 30% do total de MCs (Graham *et al.*, 2010), a fração de CYN extracelular pode variar de 50 a 90% do total de CYN (Preußel *et al.*, 2009; USEPA, 2014; Kokociński *et al.*, 2017). Ressalta-se, ainda, que a CYN extracelular tende a ser

razoavelmente estável em águas superficiais sob irradiação solar, com meia-vida de 11-15 dias, embora a presença de pigmentos celulares possa acelerar a degradação de CYN (Chiswell *et al.*, 1999).

Como as cianotoxinas representam riscos à saúde humana e suas frações dissolvidas não são efetivamente removidas pelos processos convencionais de tratamento de água, é necessária atenção especial quando as florações de cianobactérias ocorrem em reservatórios de água destinada ao consumo humano (Keijola *et al.*, 1988; Himberg *et al.*, 1989; Falconer, 2004; Teixeira e Rosa, 2006; Van Apeldoorn *et al.*, 2007).

Os estudos abordando tratamentos convencionais de água têm focado na remoção de cianobactérias sem comprometer a integridade celular com o objetivo de remover as toxinas intracelulares. Entretanto, como altas concentrações de CYN extracelular, geralmente variando de <1 a 10 µg/L, mas ocasionalmente até 800 µg/L (Humpage e Fastner, 2021), podem ser observadas em corpos hídricos durante todo o desenvolvimento da floração, o uso de processos avançados no tratamento de água para consumo humano se faz necessário para enfrentar o desafio de remover CYN, ou qualquer outra cianotoxina extracelular. No Brasil, com base no trabalho de Humpage e Falconer (2003), o Ministério da Saúde (MS) estabeleceu no ano de 2021 o valor máximo permitido de 1 µg/L de CYN na água para consumo humano (BRASIL, 2021).

Entre as alternativas para a remoção de cianotoxinas extracelulares, os processos oxidativos avançados (POA) vêm ganhando destaque. Os POA são baseados na geração *in situ* de agentes oxidantes poderosos e não seletivos, principalmente o radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), que são capazes de reagir com uma ampla gama de poluentes orgânicos e inorgânicos. Entre os POA, o processo Fenton, além de ser um dos mais econômicos (Azbar *et al.*, 2004; Cañizares *et al.*, 2009; Gadipelly *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2020), apresenta alto desempenho, simplicidade operacional, curtos tempos de reação e ausência de toxicidade dos reagentes  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  utilizados neste processo (Al Momani *et al.*, 2008; Bautista *et al.*, 2008; Jiang *et al.*, 2020; Schneider e Bláha, 2020).

No processo Fenton, a produção do radical  $\cdot\text{OH}$  ocorre a partir da reação entre o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o  $\text{Fe(II)}$ , e a eficiência deste processo depende de vários parâmetros: pH, tempo de reação, temperatura, concentração inicial do poluente, bem como as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  e a

relação molar entre estes reagentes (Miller *et al.*, 2017; Roudi *et al.*, 2018). As doses dos reagentes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) também impactam no custo do processo e na concentração de sólidos, podendo aumentar a produção de lodo e prejudicar as etapas posteriores de tratamento ou descarte, quando altas concentrações de Fe(II) são utilizadas (Vasquez-Medrano *et al.*, 2018).

Devido ao potencial de mineralização completa característico dos POA e a relativa simplicidade operacional, numerosos estudos têm sido realizados usando o processo Fenton para a degradação de uma diversidade de poluentes, mas, com relação à remoção de cianotoxinas, os estudos se concentraram na oxidação de MCs, promovendo eficiência de degradação entre 18 e 100% (Gajdek *et al.*, 2001; Bandala *et al.*, 2004; Al Momani *et al.*, 2008; Bober *et al.*, 2008; Zhong *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2017).

Estudos sobre a degradação de CYN pelo processo Fenton ainda são escassos e, até o presente momento, além de publicações do grupo de pesquisa do programa de Pós Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos da Universidade de Brasília, apenas um trabalho, Schneider *et al.* (2022), foi encontrado na literatura. Entretanto, algumas publicações sobre a oxidação de CYN por processos Fenton-like estão disponíveis (Liu *et al.*, 2018; Henz *et al.*, 2019; Munoz *et al.*, 2019).

Frente à escassez de trabalhos sobre a remoção de CYN, uma das cianotoxinas de grande interesse sanitário e ambiental, por seu comprovado efeito tóxico, é fundamental a realização de estudos envolvendo técnicas avançadas de tratamento de água para garantir a produção segura de água para consumo humano. O processo Fenton, um dos processos oxidativos avançados mais conhecido, vem sendo utilizado para a oxidação de diversos compostos de preocupação emergente e, certamente, possui alto potencial para a degradação de CYN.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral do presente trabalho é estudar, em escala de bancada, a degradação de cilindropermopsina (CYN), em diferentes matrizes, por meio do processo oxidativo avançado Fenton.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Para três matrizes (água ultrapura, água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol), avaliar o efeito da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  e das doses de  $H_2O_2$  e de  $Fe(II)$  sobre a degradação de CYN;
- Avaliar o efeito do pH inicial e da concentração inicial de CYN sobre a degradação desta toxina, para as matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol;
- Determinar a cinética de degradação de CYN por meio do processo Fenton, considerando as matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol;
- Avaliar o efeito da presença de ácidos húmicos e de matéria orgânica algogênica na degradação de CYN.

### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 CIANOBACTÉRIAS: ASPECTOS GERAIS**

As cianobactérias são microrganismos procariotos gram-negativos fotoautotróficos que fazem parte do domínio Bactéria e apresentam características tanto de bactérias quanto de algas (Fogg *et al.*, 1973). Essas bactérias podem ser unicelulares, coloniais ou filamentosas, e crescem em suspensão na coluna de água ou aderidas às superfícies.

De modo geral, nos processos vitais das cianobactérias são requeridos água, dióxido de carbono, luz e substâncias inorgânicas (Pádua, 2009). Segundo Sharma e Mallick (2005), para o crescimento e multiplicação das cianobactérias são necessários fosfato, nitrato, magnésio e cálcio como macronutrientes inorgânicos e Fe, Mn, Zn, Mo, Co, B e Cu como micronutrientes.

A ubiquidade das cianobactérias é notória e tais microrganismos são comumente encontrados em corpos hídricos, rochas, solos e ambientes extremos como fontes termais, desertos e regiões polares, sugerindo o pioneirismo destas bactérias na colonização da Terra primitiva (Kulasooriya, 2011).

Schopf e Walter (1982) definem a era geológica do Proterozóico (0,57 - 2,50 bilhões de anos) como a era das cianobactérias, uma vez que se observa abundância de cianobactérias nos registros fósseis desta época, além do acúmulo de oxigênio na atmosfera terrestre. A partir de fósseis encontrados em rochas sedimentares na Austrália, Schopf e Packer (1987) estimaram a origem das cianobactérias em cerca de 3,3 - 3,5 bilhões de anos.

Devido à capacidade de produção de oxigênio através da fotossíntese, as cianobactérias são consideradas os produtores originais do oxigênio atmosférico (Azevedo, 1998) e foram responsáveis pela mudança da composição da atmosfera primitiva, convertendo-a de redutora para oxidante (Olson, 2006), o que acarretou significativo aumento da biodiversidade na Terra.

Na fotossíntese, sendo geralmente a água o doador de elétrons, os pigmentos (clorofila-a e ficocianina) presentes na membrana fotossintética são responsáveis por captar a radiação luminosa e transformá-la em energia química, além de conferir as colorações azul, verde ou verde-azulado características do grupo das cianobactérias (Whitton, 2012).

Por serem microrganismos produtores primários e algumas espécies possuem a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, as cianobactérias são de extrema importância para o equilíbrio do ecossistema, constituindo a base da cadeia alimentar e atuando significativamente para a ciclagem de energia nos ciclos biogeoquímicos do carbono e nitrogênio.

Entretanto, nas últimas décadas, as cianobactérias estão majoritariamente associadas à eventos de eutrofização de corpos hídricos. A eutrofização pode ser entendida como o processo de enriquecimento de um corpo hídrico por nutrientes, especialmente, nitrogênio e fósforo, que promove o rápido crescimento de cianobactérias, algas e plantas aquáticas, desequilibrando o ecossistema aquático e comprometendo a qualidade e os vários usos da água (Thomas, 1969; Colby *et al.*, 1972b; Nixon, 1995; Smith, 2003; Smith *et al.*, 2006; Ansari *et al.*, 2010; Dolman *et al.*, 2012).

O processo de eutrofização é natural e ocorre a medida que o corpo hídrico envelhece e é preenchido com sedimentos (Carpenter, 1981), porém tal processo tem-se intensificado, devido, principalmente, ao uso e ocupação inadequados de bacias hidrográficas e aos lançamentos de efluentes doméstico, industrial e agrícola sem tratamento ou tratados de forma ineficiente.

Além do estado trófico do corpo hídrico, resultante do aporte de nutrientes, Merel *et al.* (2013) apontam que o florescimento de cianobactérias é regulado também por dois fatores ambientais principais, são eles: temperatura da água e disponibilidade de luz. Na Figura 3.1 é apresentado o fluxograma do desenvolvimento das florações de cianobactérias.



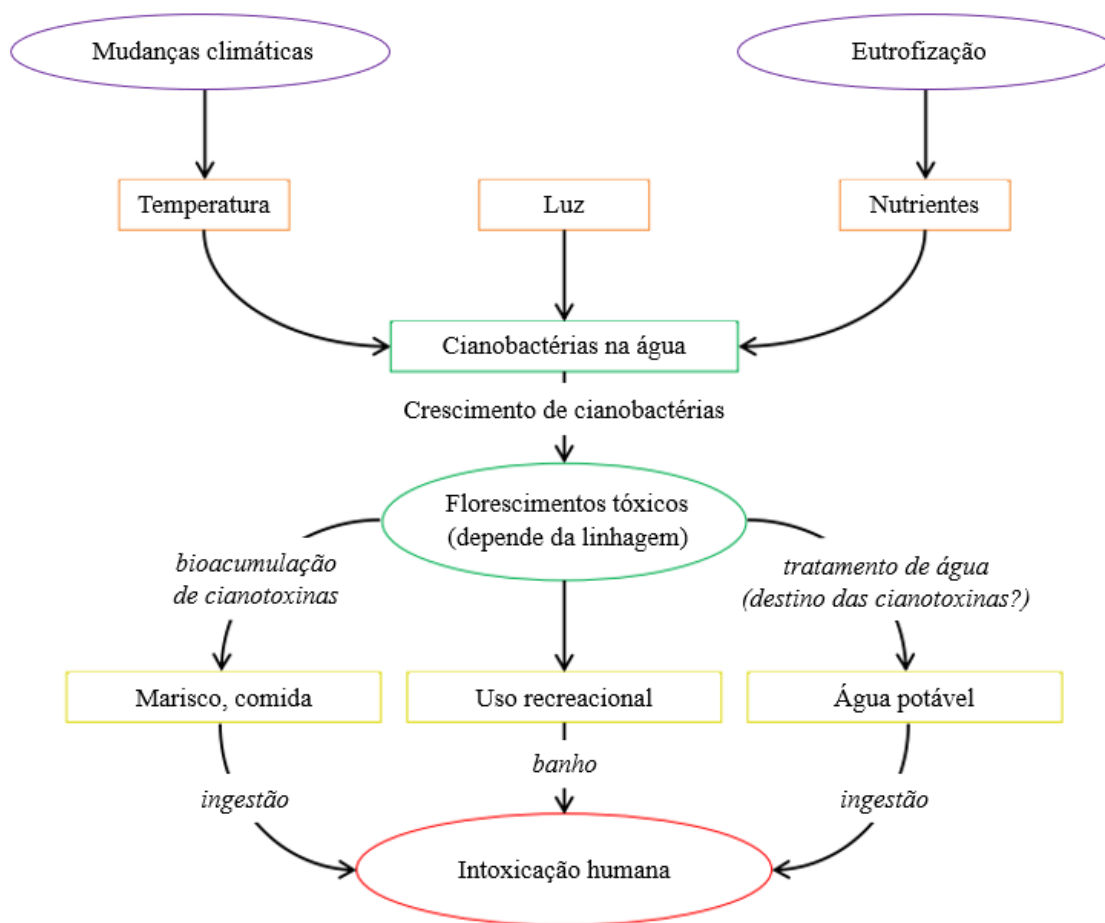


Figura 3.1 – Fluxograma da origem de florações de cianobactérias (Merel *et al.*, 2013).

É importante notar na Figura 3.1 que a temperatura é influenciada pelo efeito das mudanças climáticas. Segundo Visser *et al.* (2016), o aquecimento global pode, por meio da elevação das temperaturas, favorecer o aumento da frequência e da intensidade de florescimento de cianobactérias, uma vez que as cianobactérias apresentam maiores taxas de crescimento em temperaturas superiores a 25 °C (Paerl e Huisman, 2008).

De acordo com Wood *et al.* (2007), o florescimento de cianobactérias, particularmente na senescência, pode acarretar diversos problemas para o manancial hídrico, como: redução do oxigênio dissolvido, mau gosto e odor, mudança de cor, aumento de turbidez, além da produção de cianotoxinas que podem levar a intoxicação humana.

Conforme é apresentado na Figura 3.1, a intoxicação humana por cianotoxinas pode ocorrer por diferentes vias como ingestão de água ou alimentos contaminados e pelo uso recreacional de água contaminada. Diversos casos de intoxicação e problemas de saúde ocasionados pela

exposição à cianotoxinas já foram relatados (Miller e Tisdale, 1931; Dillenberg e Dehnel, 1960; Lippy e Erb, 1976; Falconer *et al.*, 1983; Turner *et al.*, 1990; Giannuzzi *et al.*, 2011).

Um caso grave e de destaque internacional ocorreu em 1996 em Caruaru, no estado brasileiro de Pernambuco. Nesse episódio, devido à utilização de água proveniente de um manancial eutrófico tratada de forma inadequada, pacientes de uma clínica de hemodiálise foram expostos por via intravenosa a MCs. Dentre os 131 pacientes da clínica, 116 apresentaram distúrbios visuais, náuseas, vômitos e fraqueza muscular. Posteriormente, 100 pacientes desenvolveram insuficiência hepática aguda e 52 morreram (Azevedo *et al.*, 2002).

Dezenas de espécies distintas de cianobactérias são capazes de produzir algum tipo de cianotoxina (Codd, 1995; Carmichael, 1997; Antoniou *et al.*, 2005; Machado *et al.*, 2017). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2003), as Cianobactérias tóxicas mais comuns em águas superficiais são: *Microcystis* spp., *Raphidiopsis raciborskii*, *Planktothrix* (syn. *Oscillatoria*) *rubescens*, *Synechococcus* spp., *Planktothrix* (syn. *Oscillatoria*) *agardhii*, *Gloeotrichia* spp., *Anabaena* spp., *Lyngbya* spp., *Aphanizomenon* spp., *Nostoc* spp., *Oscillatoria* spp., *Schizothrix* spp. e *Synechocystis* spp.

As florações de cianobactérias têm recebido grande atenção em virtude da variedade de gêneros e espécies de cianobactérias capazes de produzir toxinas como MCs, anatoxinas, saxitoxina e CYNs. Em casos de florações de cianobactérias, ocorre geralmente a alteração visual das características do corpo hídrico, com o surgimento de espumas e mudança de cor, indicando a necessidade do início da quantificação de cianobactérias e, se confirmada a floração, o início das análises quantitativas de cianotoxinas.

Para a quantificação de cianotoxinas na água, os métodos mais utilizados são os testes imunoenzimático do tipo ELISA (*enzyme-linked immunoassay*), cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa sequencial (CLAE-MS/MS) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector de arranjo de diodos ou fotodiodos.

### 3.2 CIANOTOXINAS

As cianotoxinas são classificadas como metabólitos secundários, ou seja, são produtos que não estão diretamente envolvidos no crescimento normal, desenvolvimento ou reprodução celular (Carmichael, 1992).

Uma mesma espécie ou linhagem de cianobactéria pode ser capaz de produzir mais de um tipo de cianotoxina. Na Tabela 3.1 são apresentadas as cianotoxinas possíveis de serem produzidas por cada espécie de cianobactéria comumente encontrada em águas superficiais.

Tabela 3.1 – Cianotoxinas produzidas pelas espécies de cianobactérias comuns em águas superficiais (Organização Mundial da Saúde, 2017).

Espécies tóxicas	Cianotoxinas produzidas
<i>Anabaena</i> spp.	Microcistinas, saxitoxinas, anatoxina-a, anatoxina-a(S)
<i>Aphanizomenon</i> spp.	Anatoxin-a, saxitoxinas, cilindropermopsinas
<i>Cylindrospermum</i> spp.	Anatoxin-a
<i>Raphidiopsis</i> spp.	Cilindropermopsinas, saxitoxinas
<i>Lyngbya</i> spp.	Cilindropermopsinas, saxitoxinas, lyngbyatoxinas
<i>Microcystis</i> spp.	Microcistinas, anatoxina-a (pequenas quantidades)
<i>Nodularia</i> spp.	Nodularinas
<i>Nostoc</i> spp.	Microcistinas
<i>Oscillatoria</i> spp.	Anatoxina-a, microcistinas
<i>Planktothrix</i> spp.	Anatoxina-a, homoanatoxina-a, microcistinas
<i>Raphidiopsis curvata</i>	Cilindropermopsinas
<i>Umezakia natans</i>	Cilindropermopsinas

Inicialmente, as cianotoxinas foram classificadas em três grupos de acordo com a estrutura química de cada molécula: peptídeos cíclicos (MCs e nodularinas), alcaloides (anatoxina-a, anatoxina-a(S), cilindropermopsinas e saxitoxinas) e lipopolissacarídeos (Chorus *et al.*, 1999). Ressalta-se que, a partir da melhoria dos métodos de identificação, novos metabólitos secundários bioativos que não se enquadram nessa classificação têm sido identificados.

As cianotoxinas podem apresentar diferentes modos de ação quanto à toxicidade, podendo ser hepatotóxica, neurotóxica, dermatotóxica etc. Os principais gêneros produtores, o modo de ação, o efeito tóxico e a dose letal mediana (LD<sub>50</sub>) das cianotoxinas são apresentados na Tabela 3.2. O valor de LD<sub>50</sub> representa a quantidade necessária de um composto, aplicado

em uma única dose, para causar a morte em média de 50% da população de animais, em um dado grupo de teste.

Devido à toxicidade apresentada pelas cianotoxinas (Tabela 3.2) e aos potenciais riscos à saúde humana, essa problemática se tornou uma preocupação global. No Brasil, devido ao já mencionado trágico evento ocorrido em 1996 na cidade de Caruaru causado pela exposição a MCs e que resultou na morte de 52 pessoas (Azevedo *et al.*, 2002), o MS estabeleceu no ano de 2000 os valores limites de 1 µg/L para microcistinas MCs (obrigatório) e 15 µg/L para CYN (recomendado) (Brasil, 2000). Posteriormente, com base nos estudos de Humpage e Falconer (2003), o valor limite recomendado para CYN foi reduzido para 1 µg/L em 2011 (Brasil, 2011), tornando-se obrigatório apenas em 2021 (Brasil, 2021), em função do crescente número de relatos de ocorrência de CYN em águas superficiais no país (Bittencourt-Oliveira *et al.*, 2014).

Os florescimentos de cianobactérias demandam maior atenção quando ocorrem em reservatórios destinados ao abastecimento de água para consumo humano, uma vez que, os processos convencionais de tratamento de água não são efetivos para remoção da fração extracelular das cianotoxinas (Keijola *et al.*, 1988; Himberg *et al.*, 1989; Falconer, 2004; Teixeira e Rosa, 2006; Van Apeldoorn *et al.*, 2007).

A maioria das cianotoxinas tais como MCs, nodularinas e saxitoxinas são principalmente intracelulares, e a fração dissolvida (toxina extracelular) é detectada no corpo hídrico somente quando ocorre a lise celular. Entretanto, segundo Antoniou *et al.* (2005), CYNs podem ser constantemente secretadas no ambiente aquático (toxina extracelular) por células viáveis durante todo o ciclo de vida das cianobactérias. Neste contexto, as tecnologias de tratamento convencionais têm focado na remoção das cianobactérias sem que haja a ruptura das células, evitando a liberação das toxinas para a água. Porém, essa estratégia perde eficiência quando há cianobactérias produtoras de CYNs na água, uma vez que mesmo com a remoção de células íntegras a fração extracelular permanece dissolvida na água.

Tabela 3.2 – Efeito tóxico de cianotoxinas em mamíferos/humanos (Falconer, 2004; Van Apeldoorn *et al.*, 2007; Pegram *et al.*, 2008; Huisman *et al.*, 2018; Chorus e Welker, 2021).

Cianotoxina	Principais gêneros produtores	Modo de ação	Efeito tóxico em mamíferos/humanos	LD <sub>50</sub> (µg/kg) i.p. ratos
Microcistinas	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Planktothrix</i> e <i>Synechococcus</i>	Inibição de proteínas fosfatases	Danos no fígado e nos rins, gastroenterite, promoção de tumores, reparação reduzida do DNA e toxicidade reprodutiva	50 a > 1200
Nodularinas	<i>Nodularia</i>	Inibição de proteínas fosfatases	Os mesmos efeitos que as microcistinas mais a fraca carcinogenicidade	30 a 50
Cilindrospermopsinas	<i>Raphidiopsis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Chrysochlorum</i> e <i>Raphidiopsis</i>	Inibição da síntese proteica, danos ao DNA e morte celular	Danos a múltiplos órgãos, gastroenterite e genotoxicidade	10
Anatoxina-a	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Oscillatoria</i> e <i>Phormidium</i>	Agonista de receptores nicotínicos de acetilcolina em junções neuromusculares	Perda de coordenação, tremores musculares e insuficiência respiratória	200 a 250
Anatoxina-s(S)	<i>Dolichospermum</i>	Inibidor da acetilcolinesterase	Salivação, incontinência, tremores musculares e insuficiência respiratória	20
Saxitoxinas	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Raphidiopsis</i> e <i>Dolichospermum</i>	Bloqueio dos canais de sódio nos neurônios	Parestesia, entorpecimento, paralisia e insuficiência respiratória	2100 em 24h 200 em 72h
BMAA	<i>Microcystis</i> e <i>Nostoc</i> (possivelmente difundido entre as cianobactérias, mas ainda sem consenso)	Excesso de estimulação de receptores de glutamato em neurônios e associação com proteínas	Perda de coordenação, atrofia muscular e possíveis contribuições para doenças neurodegenerativas (por exemplo, esclerose lateral amiotrófica e doença de Alzheimer)	-
Lipopolisacarídeos	Todas as cianobactérias	Inflamação e promoção da produção de citocinas	Irritação da pele, febre e perturbação gastrointestinal	-

DL<sub>50</sub>: dose letal a 50% dos animais expostos; i.p.: injeção intraperitoneal; BMAA: β-N-metilamino-L-alanina.

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA), menos de 5% da quantidade total de MCs e anatoxina-a produzida é extracelular (US EPA, 2014). De acordo com Rapala *et al.* (1997), quando se trata de MCs, nodularinas e saxitoxinas, menos de 10 - 20% da toxina total é extracelular. Por outro lado, quando se trata de CYN, a fração extracelular pode chegar a valores entre 50 e 90% do total de toxina produzida (PreuBel *et al.*, 2009; Kokociński *et al.*, 2017).

Nesse cenário, como as frações de cianotoxinas extracelulares, ou seja, dissolvidas na água não são efetivamente removidas nos processos de tratamentos convencionais, as CYNs, por se apresentarem majoritariamente na forma extracelular, demandam maior atenção.

### 3.3 CILINDROSPERMOPSINAS

Cilindrospermopsina (Figura 3.2a) é um alcaloide composto por uma guanidina tricíclica ligada através de um carbono hidroxilado (C7) a um grupo hidroximetiluracil. Essa toxina foi detectada e isolada pela primeira vez a partir de cultivo de *Raphidiopsis raciborskii* (anteriormente *Cylindrospermopsis raciborskii*) proveniente de um reservatório de água localizado no estado australiano de Queensland (Ohtani *et al.*, 1992).

Até o presente momento, quatro variantes de CYN foram reportadas na literatura (Wimmer *et al.*, 2014), são elas: 7-epi-cilindrospermopsina (7-epi-CYN), Figura 3.2b; 7-deoxi-cilindrospermopsina (7-deoxi-CYN), Figura 3.2c; 7-deoxi-desulfo-cilindrospermopsina (7-Deoxi-desulfo-CYN), Figura 3.2d; e a 7-deoxi-desulfo-12-acetil-cilindrospermopsina (7-deoxi-desulfo-12-acetil-CYN), Figura 3.2e. Na Tabela 3.3 são apresentadas as fórmulas químicas e as massas molares de CYN e suas variantes.

Como a CYN é um composto *zwitterion*, ou seja, apresenta comportamento similar ao comportamento de íons bipolares, esta cianotoxina apresenta alta solubilidade em água (Merel *et al.*, 2010; Westrick *et al.*, 2010; De La Cruz *et al.*, 2013). Onstad *et al.* (2007), usando programa de computador que estima propriedades físicas baseadas em relações estrutura-atividade, obtiveram o valor de 8,8 para o pKa de CYN.

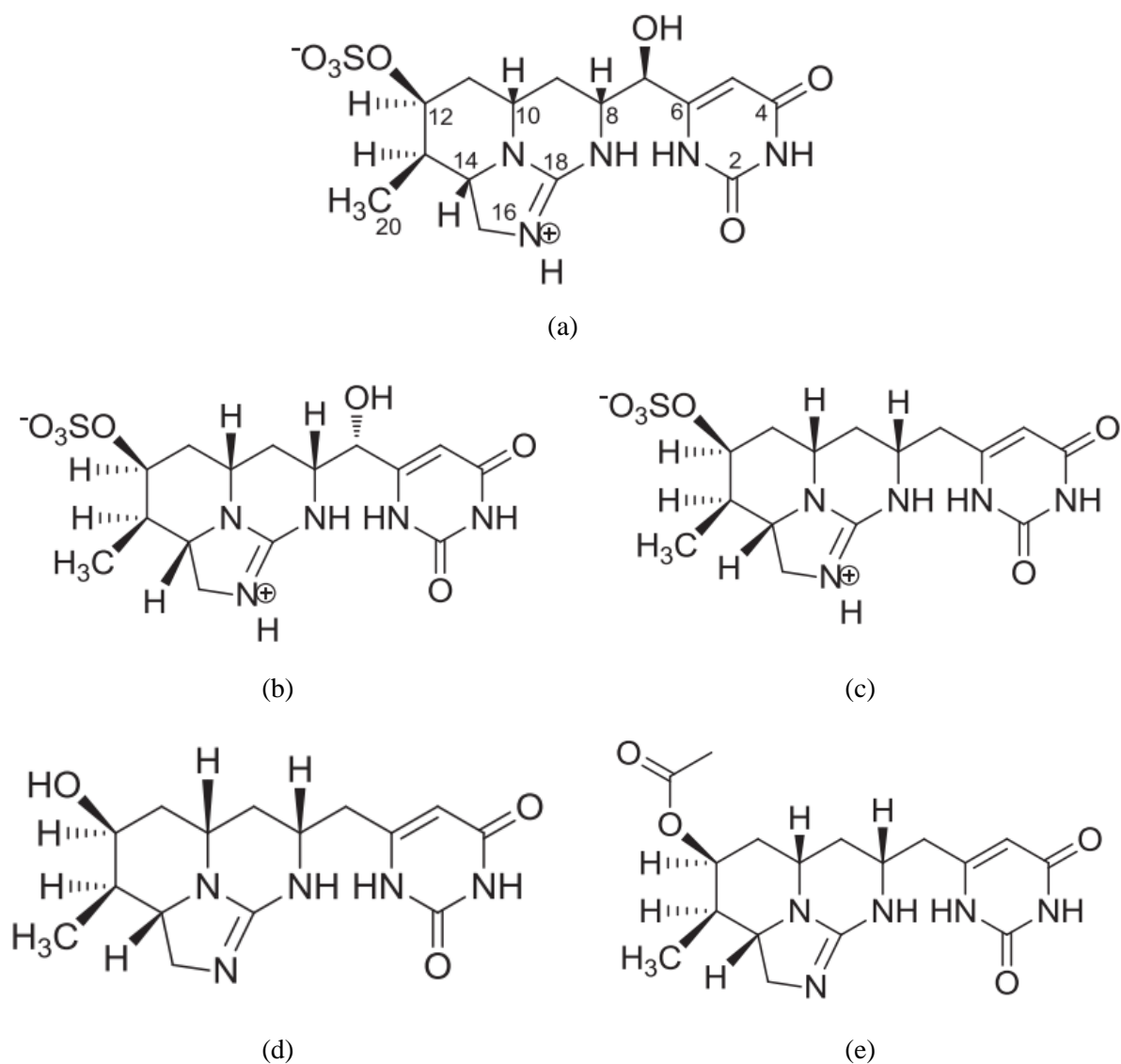


Figura 3.2 – Estrutura química de (a) CYN e variantes (b) 7-epi-CYN (c) 7-deoxi-CYN (d) 7-deoxi-desulfo-CYN e (e) 7-deoxi-desulfo-12-acetil-CYN (Wimmer *et al.*, 2014).

Tabela 3.3 – Fórmula química e massa molar de cilindrospermopsina e variantes (Chorus e Welker, 2021).

Variante	Fórmula	Massa molar (g/mol)
CYN	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> S	415,428
7-epi-CYN	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> S	415,428
7-deoxi-CYN	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	399,429
7-deoxi-desulfo-CYN	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	319,366
7-deoxi-desulfo-12-acetil-CYN	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	361,404

De acordo com Chiswell *et al.* (1999), CYN pura é relativamente estável em solução aquosa na presença de luz solar, entretanto quando em solução contendo alta concentração de pigmentos a degradação é rápida, com meia vida de 1,5 hora em laboratório. Já quando em solução contendo baixa concentração de pigmentos, como em reservatórios de água, a degradação é lenta, na faixa de 11 a 15 dias.

O gene cluster responsável pela produção de CYN está relacionado com 15 fases abertas de leituras, que codificam todas as informações necessárias para a biossíntese, regulação e liberação da toxina (Mihali *et al.*, 2008).

A produção de CYN, 7-epi-CYN e 7-deoxiy-CYN em diferentes cepas de cianobactérias produtoras de CYN do gênero *Oscillatoria* foi avaliada por Mazmouz *et al.* (2011). Conforme apresentado na Tabela 3.4, os autores observaram diferentes proporções de CYN, 7-epi-CYN e 7-deoxiy-CYN nas cepas analisadas.

Tabela 3.4 – Concentrações de CYN, 7-epi-CYN e 7-deoxiy-CYN em cultivo para diferentes linhagens de *Oscillatoria* (Mazmouz *et al.*, 2011).

Cepas	Local de origem e ano	Concentração total (µg/L)	CYN (%)	7-epi-CYN (%)	7-deoxiy-CYN (%)
PCC 6407	Estados Unidos, 1964	490	23	72	5
PCC 6506	Desconhecido	610	30	69	1
PCC 10702	França, 2006	640	23	73	4
PCC 7926	Finlândia, 1987	850	92	2	6
PCC 7930	Finlândia, 1977	810	93	2	5

A partir dos dados apresentados na Tabela 3.4, nota-se dois grupos distintos com relação as frações de CYN, 7-epi-CYN e 7-deoxiy-CYN. O primeiro grupo é composto pelas cepas PCC 6407, PCC 6506 e PCC 10702 e o segundo pelas cepas PCC 7926 e PCC 9730. Mazmouz *et al.* (2011) observaram que a sequência de nucleotídeo do gene *cyrI* era idêntica entre as cepas de um mesmo grupo, porém era diferente (90% de similaridade) entre os grupos. Os autores atribuíram as diferenças nas frações de CYN, 7-epi-CYN e 7-deoxiy-CYN em cada grupo às diferenças no gene *cyrI*, que é responsável pela hidroxilação da 7-deoxiy-CYN, convertendo-a em CYN.

Além da expressão gênica, a produção e liberação de CYN é influenciada por diversos fatores ambientais como luz, temperatura e concentração de cianobactérias (Preußel *et al.*,



2009). Em águas superficiais, os valores típicos de concentração de CYN estão na faixa de 1 a 10 µg/L, podendo eventualmente atingir 800 µg/L (Falconer e Humpage, 2006; Pichardo *et al.*, 2017; Humpage e Fastner, 2021).

Falconer (2004) alerta sobre a necessidade de se observar os possíveis efeitos da exposição a doses baixas de cianotoxinas e também a exposições intermitentes a doses mais altas a longo prazo, uma vez que evidências experimentais indicam a crescente promoção de tumores e carcinogênese em roedores devido à contaminação por cianotoxinas. A CYN também apresenta efeitos tóxicos em espécies de crustáceos do gênero *Dáfnia* (Nogueira *et al.*, 2004; Zagatto *et al.*, 2012; Restani e Fonseca, 2014) e espécies de peixes dos gêneros *Poecilia* (Lopes, 2016), *Danio* (Zagatto *et al.*, 2012) e *Oreochromis* (Puerto *et al.*, 2014).

Com relação à toxicidade das variantes de CYN, a variante 7-epi-CYN apresenta potencial tóxico similar ao potencial de CYN (Banker *et al.*, 2000) e, inicialmente, pensou-se que a variante 7-deoxy-CYN não apresentava toxicidade (Banker *et al.*, 2000; Heintzelman *et al.*, 2002). Entretanto, o trabalho realizado por Looper *et al.* (2005) mostrou, a partir de experimentos *in vivo*, que a variante 7-deoxy-CYN também é capaz de inibir a síntese proteica, que é um dos principais modos de atuação da toxicidade de CYN.

É importante salientar que as variantes 7-deoxi-desulfo-CYN e 7-deoxi-desulfo-12-acetil-CYN só foram detectadas em 2014, a partir de cultivo de *Raphidiopsis raciborskii*, por Wimmer *et al.* (2014), que afirmam que, com base na estrutura química, estas variantes também podem apresentar toxicidade.

Segundo Banker *et al.* (2001) a toxicidade de CYN e variantes está diretamente relacionada ao grupo uracila presente no alcaloide. A presença do radical hidroximetil na uracila possibilita o pareamento de base entre o hidrogênio e a adenina nos RNAm, inibindo, então, a síntese proteica (Bortoli e Pinto, 2015). Falconer (2004) afirma ainda que a toxicidade de CYN se dá também por outros mecanismos relacionados ao citocromo P450. Ressalta-se que, de acordo com Humpage e Fastner (2021), os mecanismos específicos da toxicidade de CYN ainda não estão completamente elucidados e dependem de fatores como magnitude e frequência da dose de CYN, duração da exposição, estágio de vida, idade ou sexo do organismo e o período de tempo em que o animal é monitorado após a dose.

Nesse sentido, a avaliação de cianotoxinas por estudos toxicológicos surge como uma importante ferramenta para estabelecer os níveis seguros de ingestão diária aceitável, que representa a quantidade diária que se pode consumir de uma determinada substância, sem que haja efeitos adversos para a saúde humana. A definição de valores seguros para a ingestão diária aceitável para CYN é de extrema importância, uma vez que estudos têm mostrado a capacidade de bioacumulação da CYN em peixes (Guzmán-Guillén *et al.*, 2015) e plantas comestíveis (Chen *et al.*, 2012; Cordeiro-Araújo *et al.*, 2017).

A partir de testes de toxicidade realizados em camundongos albinos suíços machos, Humpage e Falconer (2003) definiram como 30 µg/kg de massa corporal/dia o nível sem efeitos adversos observáveis para CYN e o valor da ingestão diária aceitável calculado foi de 0,03 µg/kg de massa corporal. A Organização Mundial da Saúde (Organização Mundial da Saúde, 2020), a partir do trabalho de Humpage e Falconer (2003), define os seguintes valores limites provisório de CYN na água potável a longo prazo (0,7 µg/L), na água potável a curto prazo (3,0 µg/L) e em água para fins de recreação (6,0 µg/L).

Para a redução das concentrações de cianotoxinas na água, a aplicação de múltiplas barreiras (desde a fonte até o consumidor final) no sistema de abastecimento se faz necessária. Em um sistema de múltiplas barreiras, o tratamento de água é uma etapa de grande importância que deve ser adaptada para cada caso, levando em consideração fatores como qualidade e quantidade da água bruta, bem como a qualidade desejada para a água tratada.

Como já mencionado anteriormente, os processos tradicionais de água não removem efetivamente as cianotoxinas dissolvidas na água e, neste cenário, os processos avançados de tratamento emergem como uma promissora alternativa, entre eles, os POA têm ganhado destaque devido à efetividade que mostram na degradação de diversos contaminantes orgânicos.

### **3.4 DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS NA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO POR POA**

Os POA foram conceituados pela primeira vez por Glaze *et al.* (1987) e foram definidos como aqueles processos nos quais ocorre a geração do agente oxidante radical  $\cdot\text{OH}$  em quantidade suficiente para promover a purificação da água. Atualmente, sabe-se que outros

agentes oxidantes como o radical hidroperoxila ( $\text{HO}_2^\bullet$ ), o radical sulfato ( $\text{SO}_4^{\bullet-}$ ) e complexos de ferro de alta valência também são gerados nos POA (Lee *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2017).

O primeiro estudo envolvendo a aplicação de POA para a degradação de compostos orgânicos foi publicado em 1894 por Fenton (1894), que observou que a mistura racêmica de ácido tartárico era oxidada em solução aquosa contendo Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Nesse trabalho, o autor estudou os subprodutos gerados a partir da degradação da mistura racêmica de ácido tartárico, entretanto não abordou a questão dos agentes oxidantes envolvidos no processo. Posteriormente, Haber e Weiss (1934) propuseram o mecanismo de formação do radical  $^\bullet\text{OH}$  a partir da reação entre o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o Fe(II), que será melhor detalhado na seção 3.5.

Os POA foram classificados principalmente de acordo com o método de geração do radical  $^\bullet\text{OH}$ , podendo ser classificados como químicos, fotoquímicos, induzidos por radiação, cavitação, e eletroquímicos (Priyadarshini *et al.*, 2022). Em função das diferentes vias de produção do radical  $^\bullet\text{OH}$ , existem diversos tipos de POA, tais como: ozonização ( $\text{O}_3$ ), ozônio combinado com peróxido de hidrogênio ( $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ) e/ou radiação UV ( $\text{UV}/\text{O}_3$ ,  $\text{UV}/\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ), fotólise por radiação UV, Fenton, foto e eletro-Fenton, fotocatalise com  $\text{TiO}_2$  e polioxometalatos, oxidação eletroquímica, ultrassom, radiólise por feixe de elétron, radiação gama, dentre outros.

Nas últimas décadas, os POA têm recebido grande atenção de pesquisadores dado o alto potencial de redução do radical  $^\bullet\text{OH}$ , quando comparado aos demais agentes oxidantes comumente utilizados no tratamento de água para consumo humano e de efluentes domésticos e industriais (Tabela 3.5).

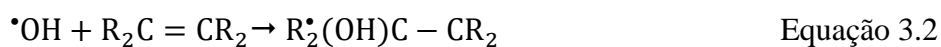
Segundo Miller *et al.* (2017), o alto potencial de redução do radical hidroxila justifica as baixas concentrações, em estado estacionário, do radical hidroxila na água ( $10^{-10}$  a  $10^{-12}$  M) e também os altos valores de constante da taxa de reação entre o radical hidroxila e compostos orgânicos ( $10^6$  a  $10^{10}$   $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ). Devido à alta reatividade, o tempo de meia vida do radical  $^\bullet\text{OH}$  é extremamente baixo, na ordem de  $10^{-9}$  s (Pryor, 1986). Em águas superficiais, Attri *et al.* (2015) observaram o tempo de vida do radical  $^\bullet\text{OH}$  de  $10^{-6}$  s.

Tabela 3.5 – Potencial de redução de agentes oxidantes comumente utilizados no tratamento de efluentes (Schneider e Bláha, 2020).

Oxidante	Fórmula	Faixa de pH	Potencial de redução (V/EPH)
Radical sulfato	$SO_4^{\bullet-}$	Ácido/neutro	2,5 – 3,1
Radical hidroxila	$\bullet OH$	Ácido	2,7
		Neutro/alcalino	1,8
Ferrato	$[FeO_4]^{2-}$	Ácido	2,2
		Alcalino	0,7
Ozônio	$O_3$	Ácido	2,1
		Alcalino	1,2
Peroxidissulfato	$S_2O_4^{2-}$	Ácido	2,0
Peróxido de hidrogênio	$H_2O_2$	Ácido	1,8
		Alcalino	0,9
Peroximonosulfato	$HSO_5^-$ ou $SO_5^{2-}$	Ácido	1,8
Radical hidropéroxil	$OH_2^{\bullet}$	-	1,7
Permanganato	$MnO_4^-$	Ácido	1,7
		Alcalino	0,6
Ácido hipocloroso	$HOCl$	-	1,5
Cloro	$Cl_2$	-	1,4
Dióxido de cloro	$ClO_2$	-	1,3
Radical peroximonosulfato	$SO_5^{\bullet-}$	Neutro	1,1
Radical sulfito	$SO_3^{\bullet-}$	Neutro	0,6

EPH: eletrodo-padrão de hidrogênio.

Segundo Pârvulescu *et al.* (2012), a degradação de um composto orgânico qualquer pelo radical  $\bullet OH$  ocorre por meio de três mecanismos principais: (i) abstração de hidrogênio, tipicamente de grupos alquila ou hidroxila (Equação 3.1), (ii) adição eletrofílica a sistemas insaturados como em ligações duplas de carbono C=C, sistemas aromáticos e aminas neutras (Equação 3.2), (iii) transferência direta de elétrons (Equação 3.3).



No tratamento de água para consumo humano, os POA podem ser aplicados tanto para desinfecção quanto para degradação e eliminação da toxicidade de contaminantes emergentes, como pesticidas, hormônios e fármacos, além de compostos que produzem sabor e odor. Dessa forma, os POA, em função do propósito desejado, podem ser aplicados ao longo de todas as etapas do tratamento de água.

De acordo com Linden e Mohseni (2014), os POA apresentam as seguintes vantagens: elevada taxa de reação com a maioria das substâncias; degradação e não acumulação dos poluentes, como ocorre em sistemas de adsorção; não ser um processo seletivo, sendo capaz de degradar praticamente qualquer contaminante; além de apresentar baixa pegada de carbono.

Apesar das vantagens dos POA, tais processos podem apresentar custos elevados, além de produzir subprodutos desconhecidos, em caso de oxidação incompleta. Ressalta-se ainda que a geração de subprodutos também pode ocorrer em outros processos oxidativos, como a cloração. Neste sentido, uma série de novas tecnologias tem surgido com o objetivo de reduzir os custos e otimizar a degradação de poluentes utilizando os POA. Na Figura 3.3 são apresentadas as principais tecnologias convencionais e emergentes de POA.

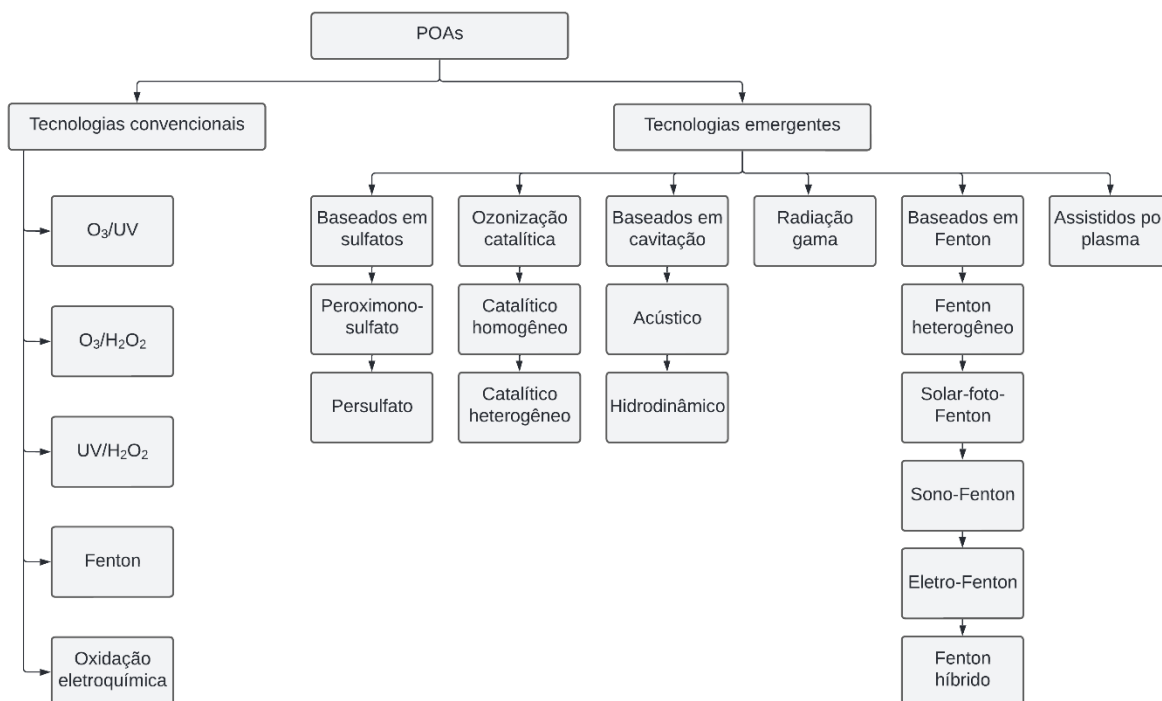


Figura 3.3 – Classificação dos POA tradicionais e emergentes (Priyadarshini *et al.*, 2022).

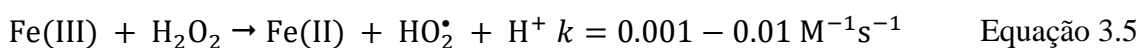
Entre os POA apresentados na Figura 3.3, o processo Fenton é um dos mais econômicos (Azbar *et al.*, 2004; Cañizares *et al.*, 2009; Gadipelly *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2020) e vem ganhando destaque em função do seu alto desempenho, simplicidade operacional, curtos tempos de reação e a ausência de toxicidade dos reagentes, de fácil manuseio, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) utilizados no processo (Al Momani *et al.*, Smith e El-Din, 2008; Bautista *et al.*, 2008; Jiang *et al.*, 2020; Schneider e Bláha, 2020).

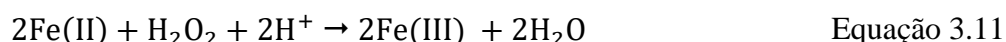
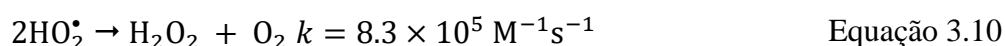
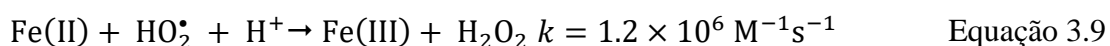
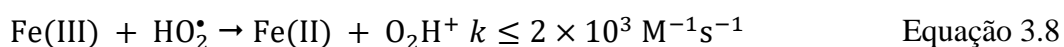
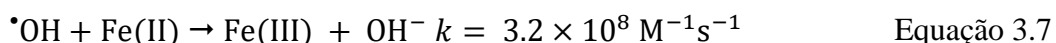
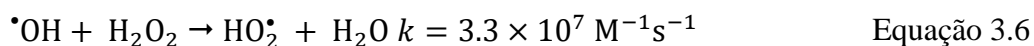
As vantagens do processo Fenton em comparação com os outros POA podem tornar este processo mais adequado para aplicação prática, especialmente em países em desenvolvimento, como o Brasil. Em estações de tratamento de água pré-existentes, o processo Fenton e a coagulação utilizando sais de ferro podem ser facilmente combinados em uma única unidade de mistura rápida, apenas adicionando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 3.5 PROCESSO FENTON

Em função do estado em que se encontra o catalisador utilizado, líquido ou sólido, o processo Fenton pode ser classificado como homogêneo ou heterogêneo, respectivamente. O processo Fenton clássico ocorre em sistema aquoso homogêneo, utilizando Fe(II) como catalisador e na de ausência de luz com comprimento de onda adequado para causar a foto-redução dos complexos de Fe(III) (Miller *et al.*, 2017). Quando há luz com comprimento de onda adequado para causar a foto-redução dos complexos de Fe(III) o processo é denominado foto-Fenton.

No processo Fenton, a formação do radical  $\cdot\text{OH}$  envolve várias reações paralelas e em série, Equações 3.4 a 3.10 (Bielski *et al.*, 1985; De Laat e Gallard, 1999), que podem ser representadas por uma reação global, Equação 3.11 (Tang e Huang, 1996). As constantes cinéticas das Equações 3.4 a 3.10 foram relatadas em outros estudos (Rigg *et al.*, 1954; Walling e Goosen, 1973; Bielski *et al.*, 1985; Rush e Bielski, 1986; Buxton *et al.*, 1988; De Laat e Gallard, 1999).





Como o Fe(III) pode ser reduzido a Fe(II) pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, conforme é apresentado na Equação 3.5, o Fe(III) também é comumente utilizado como catalisador inicial. Nesse caso, o processo Fenton passa a ser chamado de *Fenton-like*. O processo *Fenton-like* com Fe(III) como catalisador inicial é mais lento que o processo Fenton, já que ocorre incorporação da etapa inicial de redução do Fe(III) a Fe(II) pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, cuja constante da taxa de reação é baixa ( $k = 0,001$  a  $0,01 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) em comparação com o processo Fenton ( $k = 70 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), promovendo o acúmulo de Fe(III) e a possível geração de lodo no sistema.

Nos processos *Fenton-like* outros catalisadores como cromo, cobre, manganês, assim como outros oxidantes, por exemplo HClO, S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> ou HSO<sub>5</sub><sup>-</sup> também podem ser utilizados para produzir os radicais  $\cdot\text{OH}$  ou SO<sub>4</sub><sup>-•</sup> (Schneider e Bláha, 2020).

Nos processos Fenton ou *Fenton-like*, além do radical  $\cdot\text{OH}$ , outros agentes oxidantes como radicais hidroperoxila, radicais sulfato e complexos de ferro de alta valência são produzidos para degradar compostos orgânicos e inorgânicos (Lee *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2017).

A eficiência do processo Fenton depende de vários parâmetros: pH, tempo de reação, temperatura, concentração inicial do contaminante, bem como as dosagens dos reagentes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) e a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) (Miller *et al.*, 2017; Roudi *et al.*, 2018). A dosagem de reagentes também reflete sobre o custo do processo e sobre a concentração de sólidos, que pode aumentar a produção de lodo e prejudicar as etapas posteriores de tratamento ou de descarte, quando altas concentrações de Fe(II) são utilizadas (Vasquez-Medrano *et al.*, 2018).

Sob condições de excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no meio, o Fe(III) produzido é lentamente reduzido para Fe(II) como mostrado nas Equações 3.6 e 3.9, consumindo  $\text{H}_2\text{O}_2$  e gerando o radical  $\text{HO}_2^\bullet$ . Nessa situação, a produção do radical  $^\bullet\text{OH}$  pode diminuir, uma vez que há competição entre os reagentes para geração dos radicais  $\text{HO}_2^\bullet$  e  $^\bullet\text{OH}$ . A geração do radical  $\text{HO}_2^\bullet$  deve ser minimizada, já que este oxidante possui menor potencial de redução que o radical  $^\bullet\text{OH}$  (Tabela 3.5). Além disso, como já mencionado anteriormente, o excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) pode provocar o sequestro do radical  $^\bullet\text{OH}$  (Equações 3.7 e 3.8).

O pH da solução também desempenha um papel importante no processo Fenton. Para valores de pH maiores que 3,2 ocorre a precipitação de Fe(III) (Laat e Gallard, 1999), diminuindo a quantidade de Fe(III) disponível para regeneração de Fe(II) e, conseqüentemente, diminuindo a produção do radical  $^\bullet\text{OH}$  (Equação 3.6). De forma similar, porém em meio ácido forte, a regeneração de Fe(II) também é desfavorecida pelo  $\text{H}^+$  (Oliveira *et al.*, 2006; Zhong *et al.*, 2009). Já com relação ao  $\text{H}_2\text{O}_2$ , à medida que o pH aumenta, a estabilidade do  $\text{H}_2\text{O}_2$  diminui, reduzindo a geração do radical  $^\bullet\text{OH}$  (Jung *et al.*, 2009). De modo geral, é consenso na literatura que o processo Fenton apresenta maiores eficiências de degradação em condições ácidas, com valores de pH entre 3 e 4 (Pignatello *et al.*, 2006; Tekin *et al.*, 2006; Zhong *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2017).

### **3.6 ESTUDOS ENVOLVENDO A APLICAÇÃO DE POA PARA DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS NA ÁGUA**

Nas últimas décadas, os POA têm sido aplicados para a degradação de diversos poluentes, tanto no tratamento de água para consumo humano quanto no tratamento de efluentes domésticos e industriais, devido, principalmente, à não seletividade do radical  $^\bullet\text{OH}$ .

Um dos primeiros trabalhos publicados sobre a aplicação do processo Fenton para degradação de cianotoxinas foi realizado por Gajdek *et al.* (2001). Os autores utilizaram Fe(II) e Fe(III) como catalisadores iniciais para a oxidação de MC-LR, com 80% de pureza, obtida a partir de cultivo de *Microcystis aeruginosa*. A concentração de MC-LR foi determinada por CLAE acoplado à detector UV.

No trabalho de Gajdek *et al.* (2001), os experimentos foram conduzidos com concentração inicial de MC-LR de 298,6 mg/L e relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ou  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(III)}$  iguais a



10. Os autores obtiveram cerca de 11% de remoção de MC-LR utilizando 170,1 mg/L de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 27,9 mg/L de Fe(II) após 20 min de reação. A degradação de MC-LR foi de cerca de 100% quando as concentrações dos reagentes  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) foram aumentadas para 510,2 e 83,8 mg/L, respectivamente.

Ao se utilizar Fe(III) como catalisador inicial, degradações de MC-LR mais lentas foram observadas. Utilizando-se 83,8 mg/L de Fe(III) e 510,2 mg/L de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a degradação de MC-LR foi de apenas 9% em 20 min de reação (atingindo cerca de 46% de degradação de MC-LR após 60 min de reação), o que indica o efeito da etapa inicial de redução do Fe(III) para Fe(II) (Gajdek *et al.*, 2001).

Bandala *et al.* (2004) realizaram estudos comparativos entre os processos Fenton e foto-Fenton também para a degradação de MC-LR. Em ambos os processos, os autores utilizaram concentração inicial de MC-LR (obtida de extrato) de cerca de 4 mg/L diluída em água ultrapura em pH inicial 5. A concentração de MC-LR foi determinada por CLAE acoplado à detector UV.

As relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  avaliadas por Bandala *et al.* (2004) foram iguais a 1,0 e 2,2. Para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 1,0, utilizando-se 8,5 mg/L de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 14,0 mg/L de Fe(II), cerca de 17% de MC-LR foi degradada em 180 min. Já para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 2, utilizando-se 17,0 mg/L de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 14,0 mg/L de Fe(II), cerca de 14% de MC-LR foi degradada em 180 min. Mantendo-se a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 2,0, porém se aumentando as concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) para respectivamente 170,1 e 139,6 mg/L, 61% de MC-LR foi degradada em 180 min.

Para fins de comparação, Bandala *et al.* (2004) conduziram ensaios utilizando o processo foto-Fenton (empregando radiação UV-A com comprimento de onda de 365 nm), fixando-se a dose de Fe(II) em 14,0 mg/L e variando-se a dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$  entre 3,4 e 17,0 mg/L de modo a obter as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4, 1,0 e 2,0. Os autores observaram que independentemente das doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) e da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  cerca de 100% de MC-LR foi degradada em 40 min de reação.

Ao se comparar os resultados obtidos por Bandala *et al.* (2004) com aqueles obtidos por Gajdek *et al.* (2001), nota-se de forma clara que se adequando o valor da relação molar

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) e das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e de Fe(II) é possível degradar altas concentrações de MC-LR, o que reforça a aplicabilidade do processo. Ressalta-se ainda que, como os trabalhos de Gajdek *et al.* (2001) e Bandala *et al.* (2004) foram os primeiros estudos abordando a aplicação dos processos Fenton, Fenton-like e foto-Fenton para degradação de MCs, estes trabalhos focaram apenas nos aspectos básicos do processo, como as concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) e a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II).

Bober *et al.* (2008) estudaram a combinação dos processos Fenton e ozonização para oxidar MC-LR em água ultrapura. A MC-LR, obtida a partir de cultivo de *Microcystis aeruginosa*, foi detectada e quantificada por CLAE acoplada à detector de arranjo de fotodiodos. Os autores observaram que o uso do processo Fenton isolado, ou seja, sem a presença de O<sub>3</sub>, promoveu a degradação de 18,2 e 15,9% de MC-LR quando o pH foi, respectivamente, 3,0 e 6,8, utilizando relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 6,0 (0,51 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 0,14 mg/L de Fe(II)).

Em virtude das diferentes eficiências dos POA, Al Momani *et al.* (2008) estudaram a aplicação de O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/Fe(II) e Fenton para degradação de MC-LR (90% de pureza) em água ultrapura. A MC-LR foi detectada e quantificada por medição de absorvância em comprimento de onda 180-320 nm e por CLAE.

Para a avaliação do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de MC-LR, Al Momani *et al.* (2008) conduziram dois grupos de experimentos com pH inicial 7. No primeiro grupo, os autores fixaram a dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em 0,005 mg/L e variaram a dose de Fe(II) entre 0,05 e 0,25 mg/L de modo a obter relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) entre 0,03 e 0,16. Nesse grupo de experimentos, os autores observaram que a degradação de MC-LR aumentou à medida que a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) diminuiu, atingindo a máxima degradação, 98%, de MC-LR em 1,3 min para a relação molar de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 0,04, utilizando 0,005 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 0,2 mg/L de Fe(II).

Já no segundo grupo de ensaios, Al Momani *et al.* (2008) mantiveram fixa a dose de Fe(II) em 0,05 mg/L e a dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi variada entre 0,005 e 0,020 de modo a obter relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) entre 0,16 e 0,66. Diferentemente do primeiro grupo, a degradação de MC-LR aumentou à medida que a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) também aumentou, atingindo a máxima degradação de aproximadamente 100% de MC-LR em 1,3 min para a relação molar de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 0,66, utilizando 0,02 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 0,05 mg/L de Fe(II).

Al Momani *et al.* (2008) avaliaram também o efeito do pH inicial, da temperatura e da concentração inicial de MC-LR na eficiência do processo Fenton, por meio de experimentos conduzidos com concentrações iniciais de 1 mg/L de MC-LR, 0,005 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 0,05 mg/L de Fe(II) e 1,3 min de reação. Os autores observaram que diminuindo o pH da solução de 7 para 3, a eficiência de degradação de MC-LR aumentou de 75 para 85%. Além disso, o aumento da temperatura de 20 para 35°C resultou no aumento da eficiência de 60 para 85% de degradação de MC-LR. Por fim, observou-se ainda que a redução da concentração inicial de MC-LR de 1,0 para 0,5 mg/L resultou no aumento da eficiência de degradação da toxina de 75 para 97%.

Nas condições avaliadas para cada processo (O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/Fe(II) e Fenton) e por meio de estudos cinéticos, Al Momani *et al.* (2008) observaram que o processo Fenton apresentou maiores velocidades de degradação de MC-LR ( $k_a = 8,76 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ , para as seguintes condições experimentais 1 mg/L de MC-LR, 0,005 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 0,2 mg/L de Fe(II)) em comparação com os demais POA estudados.

O processo Fenton também foi aplicado para a degradação de uma outra variante de MCs, a MC-RR, obtida com 83% de pureza a partir de cultivo de *Microcystis aeruginosa* (Zhong *et al.*, 2009). MC-RR foi quantificada por CLAE acoplada à detector de arranjo de fotodiodo.

Assim como Al Momani *et al.* (2008), Zhong *et al.* (2009) conduziram dois grupos de experimentos com concentração inicial de MC-RR de 1,45 mg/L em água ultrapura e pH 3 para avaliar o efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação da toxina.

No primeiro grupo, experimentos foram conduzidos com dose de Fe(II) fixa em 5,6 mg/L, enquanto a dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> variou entre 17,0 e 85,0 mg/L de modo a obter relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) entre 5 e 25. Os autores observaram que o aumento da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) 5 para 15 resultou no aumento da eficiência de degradação de MC-RR de 71 para 97%, e que para relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) superiores a 15 houve redução da oxidação da toxina para valores entre 92 e 93% devido ao efeito de sequestro do radical  $\cdot\text{OH}$  pelo excesso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Para a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima de 15 houve rápida degradação de MC-RR, com oxidação de 62% nos primeiros 5 min.

Já no segundo grupo de ensaios realizados por Zhong *et al.* (2009), a dose de  $H_2O_2$  foi fixada em 51,0 mg/L, enquanto a dose de Fe(II) variou entre 2,8 e 14,0 mg/L de modo a obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 6 e 30. O segundo grupo de experimento apresentou comportamento similar ao primeiro, no qual o aumento da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  de 6 para 15 resultou no aumento da eficiência de degradação de MC-RR de 88 para 97%, e que para a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  de 30 houve redução de degradação da toxina para 84%, devido à baixa dose de Fe(II).

Zhong *et al.* (2009) também estudaram o efeito do pH inicial (2,02 a 6,84) na degradação de MC-RR no processo Fenton. A menor degradação de 81% de MC-RR foi obtida quando o pH foi 2,02, provavelmente devido à ação dos íons de hidrogênio, em meio ácido forte, que podem impedir a redução de Fe(III) a Fe(II). A máxima degradação de 97% foi obtida para o pH 3,01. Ressalta-se ainda que o aumento do pH de 3,01 para 5,12 resultou na redução da eficiência de oxidação de 97 para 94%. Já quando o valor de pH inicial foi 6,84, a eficiência de degradação de MC-RR foi de aproximadamente 92%.

Outro estudo comparativo entre os POA UV, UV/ $H_2O_2$ , e Fenton para degradação de MC-LR foi realizado por Park *et al.* (2017). A eficiência de degradação de MC-LR, detectada por CLAE-EM/EM, foi similar entre os POA avaliados: cerca de 72% utilizando-se UV/ $H_2O_2$ , cerca de 66% utilizando-se Fenton e cerca de 64% utilizando-se UV.

Para a avaliação do efeito da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  na degradação de MC-LR, foram realizados dois grupos de experimentos conduzidos com concentração inicial de MC-LR de 200  $\mu g/L$ , pH entre 4,5 e 5,2 e tempos de reação de 5 e 15 min.

No primeiro grupo de experimentos, Park *et al.* (2017) fixaram a dose de Fe(II) em 0,2 mg/L e a dose de  $H_2O_2$  foi variada entre 0,01 e 1,00 mg/L de modo a obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 0,08 e 8,21. Nesse grupo de experimentos, a degradação de MC-LR aumentou de 7,2 para 20,3%, quando a dose de  $H_2O_2$  passou de 0,01 para 0,2 mg/L e posteriormente diminuiu para 18,7% para concentrações de  $H_2O_2$  superiores a 0,2 mg/L.

Já no segundo grupo de experimentos, fixou-se a dose de  $H_2O_2$  em 0,2 mg/L e variou-se a dose de Fe(II) entre 0,05 e 0,5 mg/L de modo a obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 0,66 e 6,57. O segundo grupo de experimentos apresentou um comportamento similar ao

primeiro, no qual a degradação de MC-LR aumentou quando a dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> passou de 0,05 para 0,2 mg/L e posteriormente diminuiu para concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> superiores a 0,2 mg/L.

Com base na maior degradação de MC-LR, a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 1,64 foi definida como ótima. Fixando-se a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima de 1,64, Park *et al.* (2017) conduziram experimentos cinéticos para avaliar o efeito das concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) (variando de 0,2 a 10 mg/L). Os autores observaram que o aumento das concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) de 0,2 para 5,0 mg/L elevou para 76,8% a degradação de MC-LR após 30 min de reação, porém o aumento das concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) de 5,0 para 10 mg/L não resultou em aumento significativo na degradação da toxina.

Para a avaliação do efeito da concentração inicial de MC-LR (2, 20 e 200 µg/L) e do pH inicial (3, 5, 7, 9 e 11), experimentos foram realizados se mantendo fixas as dosagens de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e de Fe(II) em 5 mg/L e relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima de 1,64.

Assim como Al Momani *et al.* (2008), Park *et al.* (2017) observaram que a eficiência da degradação tende a diminuir com o aumento da concentração inicial de MC-LR, já que para as concentrações de MC-LR de 2, 20 e 200 µg/L as eficiências de remoção foram 92, 80 77%, respectivamente. Já com relação ao efeito do pH inicial, os autores obtiveram degradações de 77,27% de MC-LR em pH 3 e remoções inferiores a 10% em pH ente 9 e 11, em função da diminuição da dose de Fe(II) devido à formação de Fe(OH)<sub>3</sub><sup>-</sup>, Fe(OH)<sup>+</sup>, Fe(OH)<sub>2</sub><sup>2+</sup> e precipitação de hidróxido de ferro.

Quanto ao efeito da matéria orgânica natural, Park *et al.* (2017) observaram redução de 14,8 a 25% de degradação de CYN com o aumento da concentração de matéria orgânica natural de 0 para 5,0 mg/L. Quando os autores utilizaram água natural com concentração inicial de MC-LR de 20 µg/L e 5 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II), a melhor eficiência de degradação foi de 33,13%, valor inferior ao valor obtido para água ultrapura, em função do aumento da competição causado pela matéria orgânica natural.

Comparando-se os trabalhos de Al Momani *et al.* (2008), Zhong *et al.* (2009) e Park *et al.* (2017) nota-se que o aumento do pH tende a causar a redução da eficiência de degradação de MCs. Neste sentido, os catalisadores heterogêneos surgem como uma importante alternativa, já que são menos afetados por variações no pH (Miller *et al.*, 2017).

Fang *et al.* (2011) estudaram a aplicação do catalisador heterogêneo zeólita FeY (preparado através da adição de Fe(II) em peneira molecular NaY) no processo foto-Fenton (UV-vis com comprimento de onda > 450 nm) para degradação de padrão MC-LR em água ultrapura e pH inicial 5,0. MC-LR foi quantificada por CLAE acoplada à detector de arranjo de fotodiodo. Os autores compararam os POA Fenton, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/FeY, UV-vis/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/FeY, UV-vis/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e UV-vis/FeY.

Com relação ao efeito do pH na eficiência dos catalisadores FeY e Fe(II), Fang *et al.* (2011) conduziram experimentos com valores de pH iniciais de 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Nesses experimentos, as concentrações iniciais MC-LR, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, FeY foram respectivamente de 2,0, 170 e 10 mg/L. Ressalta-se que, nesses experimentos, a dose de Fe(II) foi igual a quantidade de Fe(II) contida no catalisador heterogêneo FeY. Em valores de pH entre 2 e 4 ambos os catalisadores apresentaram comportamento similar, entretanto para valores de pH maiores que 5, o catalisador heterogêneo FeY apresentou desempenho significativamente superior ao do catalisador homogêneo Fe(II), uma vez que a peneira molecular NaY utilizada pode promover o transporte de Fe(II) e a adsorção de MC-LR, criando sítios ativos de Fe(II) e melhorando a atividade de decomposição catalítica de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em pH neutro.

Nota-se que a eficiência de degradação no processo Fenton depende das condições experimentais adotadas. Na Tabela 3.6 é apresentado um resumo dos parâmetros importantes para o processo Fenton aplicado para degradação de MCs.

Como pode ser observado na Tabela 3.6, não há consenso quanto à relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima para o processo Fenton, uma vez que este parâmetro também depende de condições específicas, tais como pH, tipo e concentração do contaminante. Para a degradação de MCs pelo processo Fenton, a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima relatada está na faixa de 0,66 a 15.

É importante ressaltar que são escassos os estudos sobre a aplicação dos processos de Fenton para degradação de CYN. As publicações se concentram no estudo de degradação de MCs por meio dos processos Fenton, foto-Fenton e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Entretanto, a oxidação de CYN e também de MC-RR, MC-LR, anatoxina-a, e saxitoxina pelo processo Fenton-like heterogêneo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-R400) foi estudada por Munoz *et al.* (2019). Todas as cianotoxinas analisadas foram quantificadas por CLAE acoplada à detector

de arranjo de fotodiodo. Os autores estudaram a oxidação de 500 µg/L de CYN em água ultrapura, pH 5 e com excesso de reagentes Fenton (2 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e concentração fixa de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-R400 em 200 mg/L). Sob essas condições, mais de 95% de CYN foi degradada em 90 min de reação (constante aparente da taxa de pseudo-primeira-ordem de 7,4167 s<sup>-1</sup>).

Tabela 3.6 – Condições experimentais e degradação de MCs por processo Fenton reportadas na literatura.

Toxina	MCs (µg/L)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mg/L)	Fe(II) (mg/L)	Relação molar H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe(II)	Matriz	pH	Tempo (min)	Degradação (%)
MC-LR <sup>1</sup>	298551	170,1	27,9	10	UP	-	20	11
MC-LR <sup>1</sup>	298553	510,2	83,8	10	UP	-	20	≈ 100
MC-LR <sup>2</sup>	3980,7	8,5	14,0	1	UP*	5	180	17
MC-LR <sup>2</sup>	3980,7	17,0	13,96	2	UP*	5	180	14
MC-LR <sup>2</sup>	3980,7	170,1	139,6	2	UP*	5	180	61
MC-LR <sup>3</sup>	1000	0,02	0,05	0,66	UP	7	1,3	≈ 100
MC-LR <sup>3</sup>	1000	0,005	0,2	0,04	UP	7	1,3	98
MC-RR <sup>4</sup>	1450	51	5,6	15	UP	2,02	30	81
MC-RR <sup>4</sup>	1450	51	5,6	15	UP	3,01	30	97
MC-RR <sup>4</sup>	1450	51	5,6	15	UP	6,84	30	92
MC-LR <sup>5</sup>	497,6	0,51	0,14	6	UP	3	4	18,2
MC-LR <sup>5</sup>	497,6	0,51	0,14	6	UP	6,8	4	15,9
MC-LR <sup>6</sup>	2	5	5	1,6	UP	5,2	30	92
MC-LR <sup>6</sup>	20	5	5	1,6	UP	5,2	30	80
MC-LR <sup>6</sup>	200	5	5	1,6	UP	5,2	30	77
MC-LR <sup>6</sup>	2	5	5	1,6	UN	7,6	30	30
MC-LR <sup>6</sup>	20	5	5	1,6	UN	7,6	30	38
MC-LR <sup>6</sup>	200	5	5	1,6	UN	7,6	30	53

UP: água ultrapura; UN: água natura.; \*: contém tampão fosfato; <sup>1</sup> Gajdek *et al.* (2001); <sup>2</sup> Bandala *et al.* (2004); <sup>3</sup> Al Momani *et al.* (2008); <sup>4</sup> Zhong *et al.* (2009); <sup>5</sup> Bober *et al.* (2008); e <sup>6</sup> Park *et al.* (2017).

A constante de taxa para degradação de CYN por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-R400 obtida por Munoz *et al.* (2019) é elevada e pode ser atribuída ao próprio nanocatalisador utilizado, que foi especialmente projetado e otimizado para o processo Fenton-like heterogêneo (Álvarez-Torrellas *et al.*, 2020). Como os nanocatalisadores possuem alta superfície e baixa resistência à difusão, são mais eficientes que os catalisadores heterogêneos convencionais (Garrido-Ramírez *et al.*, 2010).

Munoz *et al.* (2019) também avaliaram o efeito dos principais componentes de águas superficiais, ou seja, matéria orgânica natural e alguns íons inorgânicos como  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  e  $\text{SO}_4^{2-}$  sobre a eficiência de degradação de CYN em água ultrapura. Os autores não observaram efeito significativo destas interferências na oxidação de CYN para tempo de reação superior a 180 min. A degradação de CYN também foi avaliada em água natural (carbono orgânico total de 2,7 mg/L,  $\text{SO}_4^{2-}$  de 11,2 mg/L,  $\text{PO}_4^{3-}$  de 0,1 mg/L e  $\text{Cl}^-$  de 14,1 mg/L), na qual a degradação de CYN foi de cerca de 90% após 6 h de tratamento, enquanto apenas 1,5 h foi suficiente para atingir sua completa degradação, aproximadamente 100%, em água ultrapura.

Liu *et al.* (2018) aplicaram o processo Fenton-like ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(III)-B}^*$ ) com o objetivo de reduzir a atividade estrogênica de CYN, quantificada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas. As condições iniciais dos experimentos conduzidos pelos autores foram:  $5,0 \times 10^{-3}$  M de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $5,0 \times 10^{-6}$  M de  $\text{Fe(III)-B}^*$  e  $2,4 \times 10^{-7}$  M de CYN em pH 9,5 (tampão de 0,01 M de  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ ). Os autores mostraram que houve redução da atividade estrogênica após o tratamento de CYN pelo processo  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(III)-B}^*$ . Porém, ressalta-se que o trabalho realizado por Liu *et al.* (2018) não aborda questões específicas sobre os parâmetros operacionais típicos do processo Fenton.

Já com relação à oxidação de CYN pelo processo Fenton, Schneider *et al.* (2022) conduziram experimentos em água ultrapura, pH inicial 3, tempo de reação de 60 min e com as concentrações iniciais de 0,72  $\mu\text{M}$  de CYN, 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 20  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ . A CYN foi quantificada por CLAE/detector de arranjo de diodo. Os autores reportaram relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima de 0,5 com 31% de degradação de CYN nas condições avaliadas.

O efeito do pH inicial na degradação de CYN pelo processo Fenton (concentrações de 0,72  $\mu\text{M}$  de CYN, 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 20  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$  e 60 min de reação) também foi avaliado por Schneider *et al.* (2022), que obtiveram degradações de CYN de cerca de 12%, 58%, 50% e 2% para os respectivos valores de pH inicial 3,0; 4,3; 5,6; e 11,0.

Schneider *et al.* (2022) analisaram ainda o efeito das concentrações iniciais de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$ , mantendo-se fixa a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima de 0,5. Esses experimentos foram conduzidos em água ultrapura, com pH inicial ótimo de 4,3 e com concentração inicial de CYN de 0,72  $\mu\text{M}$  e durante 60 min. Os autores reportaram 50% de degradação do CYN com



10  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 20  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ , 82% com 20  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 40  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$  e 97% com 40  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 80  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

Com relação às vias de degradação de CYN pelo radical  $\cdot\text{OH}$  no processo Fenton, Schneider *et al.* (2022) propuseram um mecanismo de degradação com base no ataque a três grupos específicos: o grupo hidroximetil uracilo, o grupo alcaloide tricíclico e o grupo sulfato. Resultados similares foram reportados por He *et al.* (2014), que avaliaram a degradação de CYN utilizando o radical hidroxila como agente oxidante gerado no processo UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ .

A partir dos ensaios de oxidação de CYN por processo fotocatalítico, UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ , He *et al.* (2014) observaram que a reação de degradação de CYN é de pseudo-primeira-ordem, com constante da taxa de reação de  $7,5 \times 10^{-3}$  e de  $5,28 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{mJ}$  para as concentrações iniciais de CYN, respectivamente, de 2,1 e 8,3  $\mu\text{g/L}$ . A partir da análise dos subprodutos gerados (identificados por LC-QTOF/MS), os autores propuseram o mecanismo de oxidação de CYN com base no ataque a 3 grupos específicos (Figura 3.4), são eles: grupo A, grupo hidroximetil uracila; grupo B, grupo alcaloide tricíclico e grupo C, um grupo sulfato.

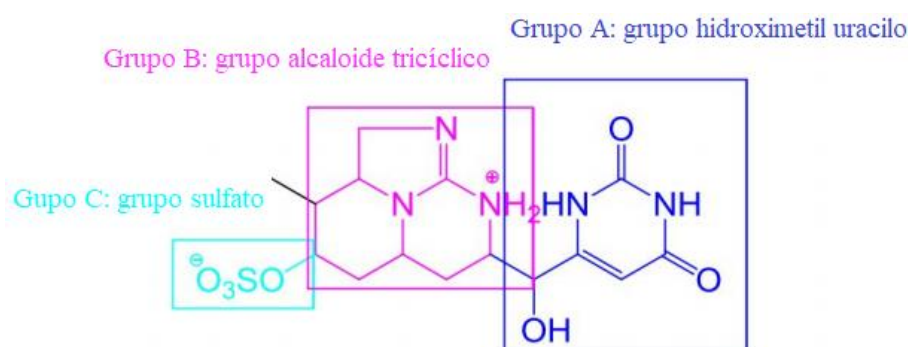


Figura 3.4 – Sítios ativos para degradação de CYN por processos oxidativos de UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  (He *et al.*, 2014).

Zhang *et al.* (2015) também estudaram os subprodutos (identificados por LC-QTOF/MS) e as vias de degradação de CYN, porém utilizando o radical hidroxila gerado no processo UV/ $\text{TiO}_2$ . O mecanismo de degradação de CYN foi proposto com base na hidroxilação, eliminação de sulfato e reações de abertura do anel na fração hidroximetil uracila e no grupo guanidina tricíclica. Os resultados obtidos por Zhang *et al.* (2015) são similares aos reportados por He *et al.* (2014) e Schneider *et al.* (2022), e mostram que, apesar das diferentes vias (Fenton, UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  e UV/ $\text{TiO}_2$ ) de geração do radical  $\cdot\text{OH}$ , o mecanismo de degradação de CYN não foi alterado. As reações no grupo hidroximetil uracilo, podem

reduzir ou eliminar a toxicidade de CYN, uma vez que este grupo é o principal responsável pela a toxicidade da CYN (He *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2015; Schneider *et al.*, 2022).

Dessa forma, por se mostrar eficiente para degradação e detoxificação de CYN, pela eliminação do grupo hidroximetil uracilo, o processo Fenton é uma importante alternativa para o tratamento de água contaminada com cianotoxinas. Como já mencionado anteriormente, o processo Fenton é econômico, apresenta alto desempenho e simplicidade operacional, podendo ser incorporando ao tratamento convencional de água para consumo humano por meio da adição de  $H_2O_2$  nas unidade de mistura rápida nas estações de tratamento de água. Para tal, faz-se necessário ainda o aprofundamento de estudos sobre as influências dos principais parâmetros operacionais do processo Fenton e da cinética de oxidação com vista a viabilidade de aplicação deste processo no tratamento de água.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 REAGENTES

Os reagentes usados no desenvolvimento deste trabalho são apresentados na Tabela 4.1.

Salvo especificado de outro modo, as soluções utilizadas nos experimentos foram preparadas a partir de diluição/dissolução em água ultrapura obtida de um sistema de purificação de água Milli-Q® (C79625, Merck Millipore, Darmstadt, Hesse, Alemanha).

### 4.2 CULTIVO DE *Raphidiopsis raciborskii* E PREPAPO DE EXTRATO

Para o cultivo unialgal da cepa CYPO11K produtora de CYNs foi utilizado o meio ASM-1 (Gorham *et al.*, 1964), com pH em torno de 7,5, fotoperíodo de 12 horas em sala climatizada com temperatura de cerca de 24 °C.

As toxinas intracelulares (CYN e variantes) foram extraídas por meio do processo de gelo e degelo, realizado por três vezes consecutivas. Após o último degelo, o cultivo lisado foi submetido a banho ultrassônico com frequência de 40 kHz durante 30 minutos em lavadora ultrassônica (USC 5000, Unique, São Paulo, Brasil) para otimizar a liberação do material intracelular (Nicholson e Burch, 2001).

Posteriormente ao banho ultrassônico, o extrato lisado foi filtrado sucessivamente em: 1) papel filtro quantitativo faixa preta com 125 mm de diâmetro e tamanho de poro de cerca de 7,5 µm (3551, Nalgon); 2) membrana em microfibras de vidro, sem resina, com 47 mm de diâmetro e tamanho de poro de 0,7 µm (AP4004700, Millipore); e 3) membrana em ésteres de celulose com 47 mm de diâmetro e tamanho de poro de 0,45 µm (HAWP04700, Millipore).

O extrato filtrado em 0,45 µm foi armazenado à -20 °C na ausência de luz até o momento da utilização.

Tabela 4.1 – Reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho.

Reagente	Especificação e/ou grau de pureza	Fornecedor	Utilização
CYN	> 95%, padrão	Eurofins/Abraxis	Ensaio de oxidação e validação do método de detecção e quantificação de CYN
Metanol	99,9%, grau HPLC	Sigma Aldrich	Fase móvel do método de detecção e quantificação de CYN e diluição do padrão de CYN
Ácido acético glacial	> 99,7%, grau HPLC	J.T. Baker	Modificador da fase móvel do método de detecção e quantificação de CYN
Peróxido de hidrogênio	35% (v/v)	Neon	Ensaio de oxidação
Sulfato de ferro (II) heptahidratado	99%	Dinâmica	Ensaio de oxidação
Sulfito de sódio	98%	Dinâmica	Ensaio de oxidação
Ácido sulfúrico	98% (v/v)	Dinâmica	Ensaio de oxidação e método de quantificação de peróxido de hidrogênio
Hidróxido de sódio	97%	Dinâmica	Ensaio de oxidação
Fosfato de sódio dibásico	98%	Neon	
Fosfato de sódio monobásico	98%	Neon	
DPD (sulfato de N,N-dietil-1,4-fenilenodiamônio)	98%	Neon	Quantificação de peróxido de hidrogênio
Peroxidase (POD) obtida de raiz forte	Tipo II	Sigma Aldrich	
FerroZine (3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazina)	97%	Sigma Aldrich	
Acetato de amônio	97%	Neon	
Cloridrato de hidroxilamina	96%	Synth	Quantificação de espécies de ferro
Ácido clorídrico	36,5% (v/v)	Dinâmica	
Hidróxido de amônio	27% (v/v)	Synth	
Cloreto de ferro (III) hexahidratado	97%	Dinâmica	
Ácido húmico sal sódico		Sigma Aldrich	Ensaio de oxidação.

### 4.3 ENSAIOS DE OXIDAÇÃO

Os ensaios de oxidação pelo processo Fenton foram conduzidos em três matrizes distintas contendo CYN em concentrações iniciais de 0,05; 0,1 ou 0,2  $\mu\text{M}$ , preparadas a partir da diluição de solução estoque com concentração apropriada ou da própria dissolução primária de 1203,6  $\mu\text{mol}$  de padrão de CYN em 1 mL de água ultrapura ou em 1 mL de solução de água ultrapura e metanol (1:1). As três matrizes analisadas neste trabalho foram: 1) água ultrapura, 2) água ultrapura contendo metanol e 3) água do Lago Paranoá contendo metanol. Essas soluções, matrizes enriquecidas com CYN, serão chamadas genericamente de "água de estudo". Ressalta-se que o metanol presente nas matrizes analisadas foi proveniente da utilização de soluções feitas a partir da dissolução do padrão de CYN em solução de água ultrapura e metanol para enriquecer as matrizes com CYN. A dissolução do padrão de CYN em solução de água ultrapura e metanol é uma recomendação da USEPA (USEPA, 2015), para implementação do método analítico de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM, que melhora a durabilidade e estabilidade de CYN.

Os ensaios foram realizados em batelada, utilizando-se 100 mL de água de estudo de matrizes água ultrapura contendo metanol e água ultrapura, e 150 mL de água de estudo de matriz água do Lago Paranoá contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 250 mL. Para a avaliação da cinética de oxidação do processo, os ensaios foram realizados com 250 mL da matriz água ultrapura contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 500 mL, e 800 mL da matriz água do Lago Paranoá contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 1000 mL. Todos os ensaios foram conduzidos em sala climatizada com temperatura entre 23 e 25 °C.

Para a realização dos ensaios de oxidação, inicialmente o pH da água de estudo foi corrigido para o valor desejado utilizando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  50 mM ou NaOH 100 mM. Em seguida, as reações de oxidação foram iniciadas adicionando simultaneamente à água de estudo quantidades pré-determinadas de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sob vigorosa agitação magnética. O pH de oxidação foi monitorado durante todo o período de reação utilizando pHmetro (Scientific Orion 3 Star, Thermo Fisher Scientific).

Imediatamente após o tempo de reação desejado, amostras para análises de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , Fe(II), Fe(III), ferro total foram coletadas, e uma solução de sulfito de sódio (em excesso

estequiométrico  $2\text{Na}_2\text{SO}_3:1\text{H}_2\text{O}_2$  (Bader *et al.*, 1988)) foi adicionada para consumir o  $\text{H}_2\text{O}_2$  residual, interrompendo a produção do radical  $\cdot\text{OH}$ . Para a quantificação das espécies de ferro dissolvidas, as amostras foram filtradas em filtro para seringa com tamanho de poro de  $0,22\ \mu\text{m}$  (Millex, Millipore) antes das análises. Após a adição da solução de sulfito de sódio, amostras para análises de CYN e carbono orgânico não-purgável (CONP) foram coletadas.

As análises de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , Fe(II), Fe(III) e ferro total foram realizadas imediatamente após a coleta. As amostras para CONP foram filtradas em membrana em microfibras de vidro, sem resina, com 47 mm de diâmetro e tamanho de poro de  $0,7\ \mu\text{m}$  (AP4004700, Millipore), acidificadas ( $\text{pH} \approx 2,0$ ) com HCl 2M e armazenadas à  $4\ ^\circ\text{C}$  na ausência de luz até serem analisadas. Já as amostras para quantificação de CYN foram filtradas em filtro para seringa com tamanho de poro de  $0,22\ \mu\text{m}$  (Millex, Millipore) e armazenadas à  $-20\ ^\circ\text{C}$  na ausência de luz até serem analisadas.

O detalhamento dos ensaios de oxidação de CYN pelo processo Fenton está descrito no item 4.5.

## 4.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

### 4.4.1 Detecção e quantificação de $\text{H}_2\text{O}_2$

A concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi medida usando o método fotométrico POD-DPD, conforme descrito por Bader *et al.* (1988). O peróxido de hidrogênio foi medido imediatamente após o tempo de reação definido, retirando-se uma amostra do reator antes da adição da solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

Na rotina analítica, uma alíquota de 13,5 mL da água de estudo após oxidação pelo processo Fenton era transferida para um béquer de 50 mL e, sob agitação magnética, era adicionado 1,5 mL de solução 0,5 M de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e 0,5 M de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ . Logo após, eram adicionados 25  $\mu\text{L}$  de 38,12 mM de solução DPD (preparada em 50 mM de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e 25  $\mu\text{L}$  da solução de POD com 100 unidades/mL. Após reação durante 40 segundos a mistura era transferida para uma cubeta de quartzo de 5 cm de caminho óptico. A absorbância era medida em comprimento de onda de 551 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis (DR 5000, Hach).

Para a quantificação de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , foi utilizada uma curva de calibração com 6 pontos abrangendo as concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na faixa de 0,61 a 10,29  $\mu\text{M}$ . Amostras com concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  fora da faixa da curva de calibração foram diluídas em água ultrapura antes da análise.

#### **4.4.2 Detecção e quantificação de Fe(II), Fe(III) e Ferro total**

As concentrações de Fe(II) e de ferro total foram medidas pelo método fotométrico FerroZine, descrito por Viollier *et al.* (2000). De forma similar ao  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o Fe(II) residual e o ferro total foram medidos imediatamente após o tempo de reação, retirando uma amostra do reator antes da adição da solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

Inicialmente, para quantificar o Fe(II) residual, uma alíquota de 0,3 mL de solução de FerroZine 10 mM (preparada em acetato de amônio 0,1 M) era adicionada a 2,7 mL de amostra da água de estudo após oxidação pelo processo Fenton para formar o complexo Fe(II)-FerroZine. Após 2 min de reação, a mistura era transferida para uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico e a absorvância do complexo Fe(II)-FerroZine era medida em comprimento de onda de 562 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis (DR 5000, Hach).

Após a determinação da concentração de Fe(II), para quantificar o ferro total presente, 0,45 mL de cloridrato de hidroxilamina 1,4 M (preparado em HCl 2M) era adicionado a uma alíquota de 2,4 mL da solução contendo o complexo Fe(II)-FerroZine formado, com objetivo de reduzir as espécies Fe(III) para Fe(II). Após 10 min de reação era adicionado 0,15 mL de solução de acetato de amônio 10 M. Após mais 1 min de reação, a absorvância da solução resultante também era medida em comprimento de onda de 562 nm. A concentração de Fe(III) foi calculada como uma diferença entre as concentrações totais de ferro e Fe(II).

Para quantificações de Fe(II) e ferro total, foi utilizada uma curva de calibração de 6 pontos abrangendo concentrações de Fe(III) na faixa de 1,34 a 6,72  $\mu\text{M}$ . Amostras com concentrações de Fe(II) fora da faixa da curva de calibração foram diluídas em água ultrapura antes da análise.

#### 4.4.3 Detecção e quantificação de CYN

A concentração de CYN foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (Agilent Série 1200, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) acoplada à espectrometria de massa sequencial (3200 QTRAP, Sciex, Toronto, ON, Canadá) com fonte de íons *electrospray* operando em modo positivo, usando N<sub>2</sub> como gás de cortina (20 psi) e gás de fonte (40 psi) sob uma tensão de pulverização capilar de 5 kV a 450 °C. O desenvolvimento desse método analítico para detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM foi baseado no método 545 da USEPA (USEPA, 2015).

A separação dos interferentes da matriz foi realizada utilizando uma coluna Kromasil 100-5-C18 (100 × 4,6 mm, 5 µm, Akzo Nobel, Bohus, Suécia), acoplada a uma pré-coluna correspondente (3,0 × 4,6 mm, 5 µm). Como fase móvel foram utilizadas soluções de ácido acético 0,15% (v/v) preparada em água ultrapura (A) e metanol (B), com vazão de 0,55 mL/min. O gradiente de eluição utilizado é apresentado na Figura 4.1. Sob essas condições, a eluição da CYN ocorreu em aproximadamente 4,6 min.

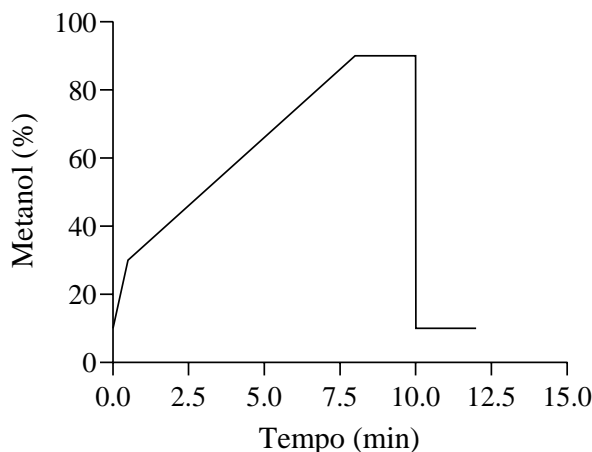


Figura 4.1 – Gradiente de eluição utilizado no método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM.

Para a aquisição de espectrometria de massas, um potencial de declusterização de 56 V foi aplicado ao orifício para evitar o agrupamento dos íons. O modo de monitoramento de reação múltipla (MRM) foi usado para detecção e quantificação de CYN por meio do monitoramento de três transições de íons precursor/ íon produto. A transição mais intensa, com m/z de 416,1 para 194,3 (43 eV CE), foi usada para quantificação, enquanto as



transições com m/z de 416,1 para 336,1 (29 eV CE) e de 416,1 para 176,2 (45 eV CE) foram usadas para fins de confirmação.

A quantificação foi realizada por calibração externa usando uma curva analítica com 6 pontos que abrangem as concentrações de CYN na faixa de 2,41 nM a 0,12 µM. Amostras com concentrações de CYN fora da faixa da curva de calibração foram diluídas em água ultrapura.

O procedimento de validação do método analítico para detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM está descrita no item 4.5.1.

#### 4.4.4 Outros métodos

Para a caracterização da água do Lago Paranoá, foram utilizados os seguintes parâmetros: pH, condutividade elétrica (CE), alcalinidade, cor, turbidez e carbono orgânico não purgável (CONP). Os métodos analíticos utilizados para análise desses parâmetros são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Métodos analíticos para caracterização da água natural.

Parâmetro	Método	Protocolo	Equipamento
CE (µS/cm)	Condutância	2510B*	Condutivímetro (Sension 5, Hach)
Alcalinidade (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	Titulométrico	2320B*	-
Cor Aparente	Espectofotométrico	2120C*	UV-Vis (DR 5000, Hach)
Turbidez (NTU)	Nefelométrico	2130B*	Turbidímetro (2100AN, Hach)
CONP (µM C)	Combustão em alta temperatura	5310B*	Analizador TOC (multi N/C 3100, Analytik Jena)

\* Protocolos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Baird *et al.*, 2017).

Ressalta-se que os métodos analíticos descritos na Tabela 4.3 seguiram os protocolos estabelecidos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Baird *et al.*, 2017) e que, além destes métodos, foram ainda monitorados na água do Lago Paranoá a temperatura (Sension 5, Hach) e a absorvância UV<sub>254</sub> (DR 5000, Hach).

## 4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Com o objetivo geral de estudar a degradação de CYN pelo processo Fenton, a metodologia experimental deste trabalho foi subdividida em 8 Fases principais (Figura 4.2).

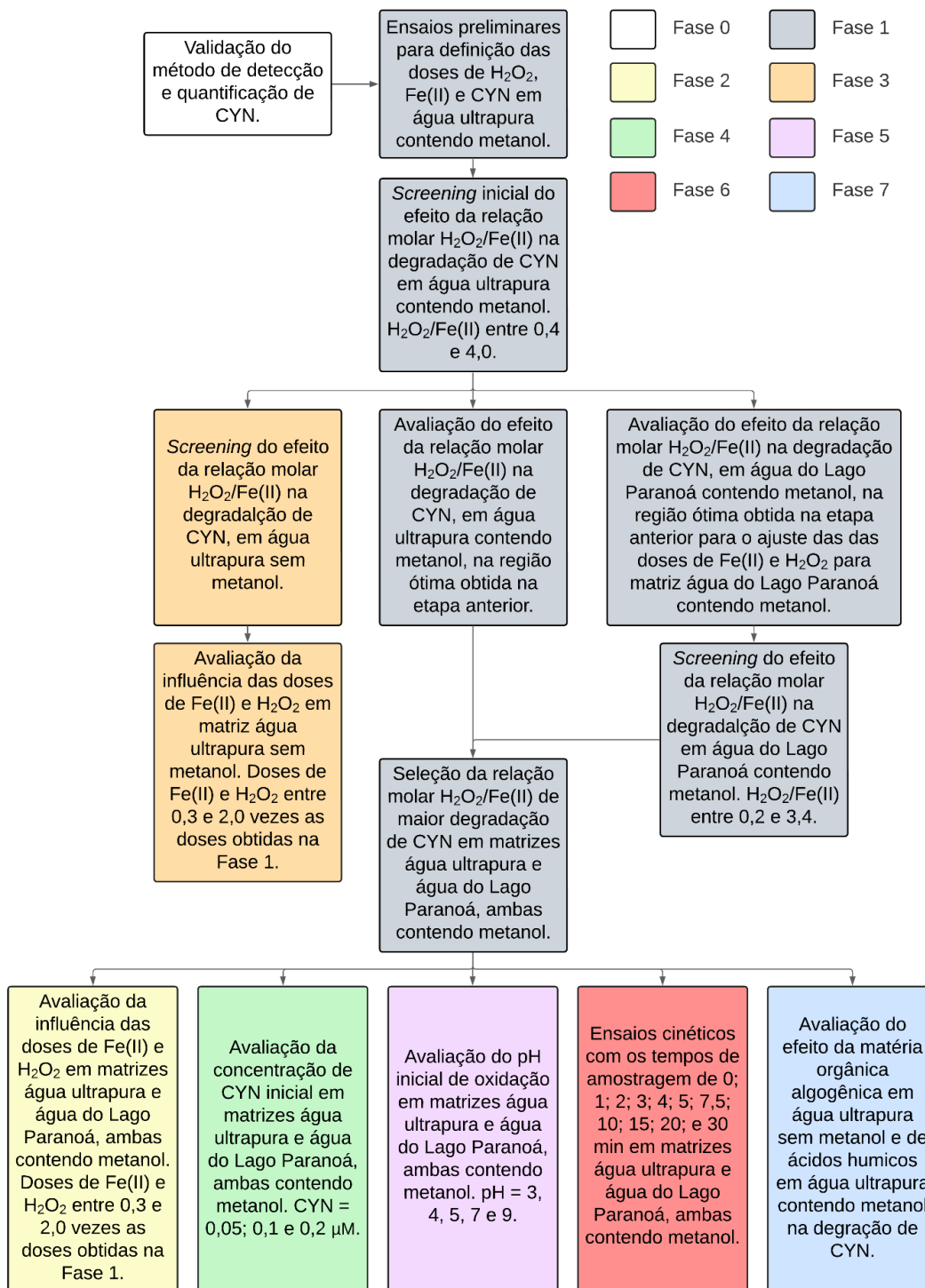


Figura 4.2 – Fluxograma geral da metodologia experimental para avaliação da degradação de CYN pelo processo Fenton.

Como apresentado na Figura 4.2, com exceção da Fase 3, todas as matrizes estudadas continham metanol, uma vez que foram utilizadas soluções produzidas a partir da dissolução do padrão de CYN em solução de água ultrapura e metanol para enriquecer as águas de estudo com CYN.

#### **4.5.1 Fase 0: Validação do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN**

Para a validação do método de detecção e quantificação de CYN foi utilizado o guia Eurachem de validação de métodos analíticos (Magnusson, 2014). As características de desempenho do método avaliadas foram linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), faixa de trabalho, seletividade, viés e robustez.

Para a validação do método de detecção e quantificação de CYN, o padrão de CYN, com 1203,6  $\mu\text{mol}$ , foi dissolvido em 1 mL de solução água ultrapura e metanol (1:1). A partir dessa dissolução primária, uma solução estoque de CYN com concentração de 2,41  $\mu\text{M}$  foi utilizada para preparação das soluções padrões de CYN utilizadas na validação do método. Essa solução estoque e os respectivos padrões de CYN foram preparados em água ultrapura ou em água do Lago Paranoá, em função da matriz analisada.

Para a análise da concentração de CYN por CLAE-EM/EM, as amostras foram previamente filtradas em filtro para seringa com tamanho de poro de 0,22  $\mu\text{m}$  (Millex, Millipore) e o valor da concentração resultante representa a média de três medições para cada amostra.

A linearidade do método foi verificada para cada matriz a partir da análise de 5 pontos com concentrações uniformemente distribuídas na faixa de 0,0024 a 0,1805  $\mu\text{M}$  de CYN. Para garantir a linearidade, foram ainda adicionados 2 pontos considerando-se uma variação de  $\pm 20\%$  dos valores limites esperados, ou seja, a linearidade foi verificada entre 0,0019 e 0,2167  $\mu\text{M}$  de CYN.

Quanto à determinação dos valores de LOD e LOQ para as matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá, 10 réplicas com concentração de CYN de cerca de 0,0012  $\mu\text{M}$  (valor esperado de LOQ, cerca de metade do limite de 0,0024  $\mu\text{M}$  de CYN estabelecido pelo MS (BRASIL, 2021)) foram independentemente preparadas e analisadas. Calculou-se então o

desvio padrão amostral ( $S_0$ ) entre as 10 réplicas e foi feita a correção do valor de  $S_0$  pelo número de medições feitas para cada amostra ( $n = 3$ ), resultando no valor  $S'_0$  (Equação 4.1). O LOD e LOQ foram calculados de acordo com as Equações 4.2 e 4.3, respectivamente.

$$S'_0 = \frac{S_0}{\sqrt{n}} \quad \text{Equação 4.1}$$

$$LOD = 3 \times S'_0 \quad \text{Equação 4.2}$$

$$LOQ = 10 \times S'_0 \quad \text{Equação 4.3}$$

A partir da obtenção do valor de LOQ para cada matriz, a respectiva faixa de trabalho do método foi estabelecida. A faixa de trabalho do método está compreendida entre o valor de LOQ e a maior concentração analisada na faixa de linearidade, ou seja, entre o valor de LOQ e 0,1805  $\mu\text{M}$  de CYN.

Em função dos compostos esperados nas matrizes estudadas e para a avaliação da seletividade do método foram analisados os seguintes possíveis interferentes:  $\text{H}_2\text{O}_2$  (20,9  $\mu\text{M}$ ), Fe(II) (55,9  $\mu\text{M}$ ),  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (23,3  $\mu\text{M}$ ), ácidos húmicos (5 mg/L) e matéria orgânica algogênica intracelular. Foi ainda utilizado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 N para corrigir o pH inicial para 5,0. O efeito da matéria orgânica algogênica foi avaliado a partir da adição de extrato de *Raphidiopsis raciborskii* nas amostras, resultando em concentração inicial de CYN de aproximadamente 0,0024  $\mu\text{M}$  de CYN.

Após a adição dos interferentes em cada matriz, as amostras foram enriquecidas com 0,012  $\mu\text{M}$  de padrão de CYN e submetidas a análise por CLAE-EM/EM. Na Tabela 4.3 são apresentadas as concentrações de CYN utilizadas para avaliação dos possíveis interferentes.

Já o viés do método foi determinado para as concentrações de CYN de 0,0022 e 0,0481  $\mu\text{M}$ , com 10 réplicas para cada concentração. Cada réplica foi preparada de forma independente e seguindo todo o processo de preparação das amostras. O viés foi expresso como recuperação (R) e calculado de acordo com a Equação 4.4.

Tabela 4.3 – Interferentes analisados para verificação da seletividade do método CLAE-EM/EM de detecção e quantificação de CYN.

Matriz	Interferência	CYN inicial (µM)	CYN esperada após enriquecimento (µM)
Água ultrapura	Nenhuma	-	0,0120
	Reagentes Fenton <sup>a</sup>	-	0,0120
	Extrato contendo CYN <sup>b</sup>	0,0024	0,0144
	Ácidos húmicos <sup>c</sup>	-	0,0120
	Extrato contendo CYN e Ácidos húmicos	0,0024	0,0144
Água natural	Nenhuma	-	0,0120
	Extrato	0,0024	0,0144

<sup>a</sup> Foram utilizadas as concentrações de 20,9 µM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 55,9 µM de Fe(II) e 23,3 µM de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (reagentes presentes nas amostras da água de estudo oxidada pelo processo Fenton). <sup>b</sup> A adição de extrato resultou em 0,0024 µM de CYN. <sup>c</sup> A concentração de ácido húmico utilizada foi de 5 mg/L.

$$R(\%) = \frac{CYN_{medida}}{CYN_{enriquecia}} \times 100 \quad \text{Equação 4.4}$$

Por fim, para a análise de robustez do método em cada matriz foram analisados os seguintes fatores: pH, analista, temperatura da amostra e modificador da fase móvel. As amostras foram enriquecidas com 0,012 µM de padrão de CYN e submetidas a análise por CLAE-EM/EM. Ressalta-se que a concentração do modificador da fase móvel, ácido acético, no método é de 0,15% (v/v). A Tabela 4.4 apresenta a matriz de planejamento experimental para verificação da robustez do método.

Após a validação do método analítico para detecção e quantificação de CYN, os experimentos de oxidação de CYN pelo processo Fenton foram iniciados.

#### 4.5.2 Fase 1: Efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na oxidação de CYN

A Fase 1 teve o objetivo de avaliar o efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá, as duas matrizes contendo metanol proveniente da utilização de soluções oriundas da dissolução do padrão de CYN em solução de água ultrapura e metanol para enriquecer as águas de estudo.

Tabela 4.4 – Matriz de planejamento experimental para verificação da robustez do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN. As amostras foram enriquecidas com 0,012  $\mu$ M de CYN.

Ensaio	Matriz	Ácido acético (%) (v/v)	Analista	Temperatura (°C)	pH
1	Água ultrapura	0,1	Analista 1	20	4
2	Água ultrapura	0,1	Analista 1	20	8
3	Água ultrapura	0,1	Analista 1	4	4
4	Água ultrapura	0,1	Analista 1	4	8
5	Água ultrapura	0,1	Analista 2	20	4
6	Água ultrapura	0,1	Analista 2	20	8
7	Água ultrapura	0,1	Analista 2	4	4
8	Água ultrapura	0,1	Analista 2	4	8
9	Água ultrapura	0,2	Analista 1	20	4
10	Água ultrapura	0,2	Analista 1	20	8
11	Água ultrapura	0,2	Analista 1	4	4
12	Água ultrapura	0,2	Analista 1	4	8
13	Água ultrapura	0,2	Analista 2	20	4
14	Água ultrapura	0,2	Analista 2	20	8
15	Água ultrapura	0,2	Analista 2	4	4
16	Água ultrapura	0,2	Analista 2	4	8
17	Água natural	0,1	Analista 1	20	4
18	Água natural	0,1	Analista 1	20	8
19	Água natural	0,1	Analista 1	4	4
20	Água natural	0,1	Analista 1	4	8
21	Água natural	0,1	Analista 2	20	4
22	Água natural	0,1	Analista 2	20	8
23	Água natural	0,1	Analista 2	4	4
24	Água natural	0,1	Analista 2	4	8
25	Água natural	0,2	Analista 1	20	4
26	Água natural	0,2	Analista 1	20	8
27	Água natural	0,2	Analista 1	4	4
28	Água natural	0,2	Analista 1	4	8
29	Água natural	0,2	Analista 2	20	4
30	Água natural	0,2	Analista 2	20	8
31	Água natural	0,2	Analista 2	4	4
32	Água natural	0,2	Analista 2	4	8

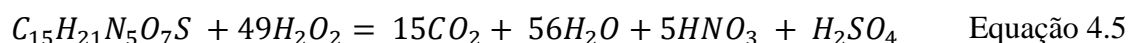
Como há poucas informações sobre a oxidação de CYN pelo processo Fenton, ensaios preliminares foram necessários para a determinação das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) para diferentes concentrações iniciais de CYN.

#### 4.5.2.1 Etapa 0 – Ensaio Preliminares

Os ensaios preliminares foram conduzidos em béqueres de vidro borosilicato de 250 mL com 100 mL da água de estudo, água ultrapura contendo CYN e metanol. O pH inicial da água de estudo foi ajustado para cerca de 5,0 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 mM e medido com pHmetro (Orion 3 Star, Thermo Fisher Scientific). Ressalta-se que o valor de pH 5,0 foi adotado por ser um valor mais próximo dos valores circunneutrais de pH das águas naturais.

Para evidenciar as diferenças entre as relações H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) testadas e para que os residuais de CYN fossem superiores ao LOQ do método analítico utilizado, as concentrações de 0,05 ou 0,1 µM de CYN foram adotadas. Ressalta-se ainda que as concentrações de 0,05 e 0,1 µM de CYN são superiores aos valores comumente encontrados em águas superficiais (geralmente variando entre <0,0024 a 0,0241 µM, mas ocasionalmente até 1,93 µM (Humpage and Fastner, 2021)), mas ainda na mesma ordem de grandeza.

A dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi inicialmente calculada a partir da estequiometria da reação de mineralização completa de CYN pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Munoz *et al.*, 2019), Equação 4.5.



Com o objetivo de avaliar a degradação de CYN pelo processo Fenton, cinco grupos de ensaios foram realizados variando-se o tempo de reação e as concentrações de CYN, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II). O primeiro grupo de ensaios foi conduzido com tempo de reação de 30 min, concentração inicial de 0,1 µM de CYN e dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 2,1 µM, que representa cerca de 40% do valor estequiométrico para degradação total de CYN (Equação 4.5), visando novamente garantir que os residuais de CYN fossem superiores ao LOD do método analítico de quantificação utilizado. Com a concentração de CYN e a dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> definidas, variou-se a dose de Fe(II) de modo a se obter valores de relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) entre 0,4 e 2,8.

As condições experimentais para os demais quatro grupos de ensaios restantes realizados, além do primeiro grupo, são apresentadas na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Condições experimentais dos ensaios preliminares. Em todos os experimentos o pH inicial foi de cerca de 5,0.

Grupo	CYN ( $\mu\text{M}$ )	Tempo de reação (min)	Relação molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ *	$\text{H}_2\text{O}_2$ ( $\mu\text{M}$ )	Fe (II) ( $\mu\text{M}$ )
1	0,1	30		2,1	0,8; 1,0; 1,3; 2,1; 5,3
2	0,1	30		10	3,6; 4,5; 6,3; 10; 25
3	0,05	30 e 60	0,4; 1,0; 1,6; 2,2; 2,8	10	3,6; 4,5; 6,3; 10; 25
4	0,05	30		10; 25; 40; 55; 70	25
5	0,05	5 e 30		20; 50; 80; 110; 140	50

\* Relações adotadas em todos os grupos de ensaios.

Ressalta-se que os tempos de reação, as concentrações de CYN e as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) apresentadas na Tabela 4.5 foram variadas a fim de se obter valores de degradação de CYN superiores a 50%. Após a definição da concentração adequada de CYN e das doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II), deu-se início a Etapa 1 da Fase 1.

#### 4.5.2.2 Etapa 1 – *Screening* do efeito da relação molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ na degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol

A partir dos resultados obtidos nos ensaios preliminares (tempo de reação, concentração de CYN e doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II)), dois grupos de ensaios foram realizados em triplicada para a avaliação do efeito da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  na degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol. Nesses dois grupos de ensaios, foi feito o *screening* em uma ampla faixa de relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  para avaliar o efeito deste parâmetro na degradação de CYN.

No primeiro grupo, fixou-se a dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no valor que proporcionou maior degradação de CYN nos ensaios preliminares e as doses de Fe(II) variaram de modo a se obter as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  entre 0,4 e 4,0. Já no segundo grupo de ensaios, fixou-se a dose de Fe(II) no valor no valor que proporcionou maior degradação de CYN nos ensaios preliminares e as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  variaram de modo a se obter igualmente as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  entre 0,4 e 4,0. Nos dois grupos de ensaios, conduzidos com 100 mL de matriz



água ultrapura contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 250 mL, o pH inicial da água de estudo foi ajustado para cerca de 5,0 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 mM.

A partir do *screening* do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN, a região de maior degradação (> 50%) desta cianotoxina foi identificada. Com a identificação da região de maior degradação de CYN, novos ensaios foram realizados na Etapa 2 para avaliar o efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN nessa faixa, com a avaliação de novos valores de relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II).

#### 4.5.2.3 Etapa 2 – Avaliação do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em matriz água ultrapura contendo metanol na região de maior degradação de CYN

Na Etapa 2, ensaios foram realizados para avaliar a degradação de CYN para novos valores de relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na faixa de maior degradação obtida na Etapa 1. Esses ensaios foram conduzidos com 100 mL da água de estudo de matriz água ultrapura contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 250 mL, pH inicial 5,0 e foram realizados com dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fixa no valor que proporcionou maior degradação de CYN nos ensaios preliminares, enquanto a dose de Fe(II) variou de modo a se obter valores de relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) dentro da região de maior degradação de CYN.

#### 4.5.2.4 Etapa 3 – *Screening* do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em matriz água do Lago Paranoá contendo metanol

Na Etapa 3, ensaios iniciais foram realizados em matriz água do Lago Paranoá contendo metanol com as mesmas doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) utilizadas para matriz água ultrapura contendo metanol na Etapa 2. Esses ensaios foram conduzidos para o reajuste das concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol.

Após as doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) terem sido reajustadas, ensaios foram conduzidos em triplicada e em béqueres de vidro borosilicato de 250 mL com 150 mL da água de estudo, água do Lago Paranoá contendo CYN e metanol, e com pH inicial ajustado para cerca de 5,0 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 mM. Nesses ensaios, foi avaliado o efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em água do Lago Paranoá contendo metanol, fixando-se a dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

para o valor reajustado nos ensaios iniciais da Etapa 3 e variando-se a dose de Fe(II) de modo a se obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 0,2 e 3,4.

Após a identificação dos valores de relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  que proporcionaram maiores degradações de CYN em matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá, as duas matrizes contendo metanol, deu-se início a Fase 2.

#### **4.5.3 Fase 2: Efeito das doses de $H_2O_2$ e Fe(II)**

Os ensaios da Fase 2 foram realizados com pH inicial de cerca de 5,0 e com 100 mL da água de estudo de matriz água ultrapura contendo metanol e 150 mL da água de estudo de matriz água do Lago Paranoá contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 250 mL.

De posse dos valores das doses de  $H_2O_2$  e Fe(II) e, conseqüentemente, da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  para as matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol que proporcionaram os maiores valores de degradação de CYN observados na Fase 1, as doses de  $H_2O_2$  e Fe(II) foram variadas, mantendo-se fixo o valor da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$ . As doses de  $H_2O_2$  e Fe(II) foram variadas entre 0,3 e 2,0 vezes as respectivas doses obtidas para a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima em cada matriz obtidas na Fase 1.

#### **4.5.4 Fase 3: Influência do metanol da degradação de CYN em água ultrapura**

Na Fase 3, ensaios foram realizados para avaliar a influência do metanol presente na solução estoque de CYN utilizada para enriquecer as águas de estudo analisadas nas demais fases experimentais deste trabalho na eficiência de oxidação do processo Fenton. Para esses ensaios, o padrão com 1203,6  $\mu\text{mol}$  de CYN foi dissolvido em 1 mL de água ultrapura, sem metanol.

Os ensaios da Fase 3 foram conduzidos com pH inicial de 5,0 e com 100 mL da água de estudo de matriz água ultrapura sem metanol em béqueres de vidro borosilicato de 250 mL.

De forma similar, foram realizados ensaios preliminares para a avaliação do efeito da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  na degradação de CYN em água ultrapura, sem metanol, com dose fixa

de 2,4  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , cerca de 98% do valor estequiométrico para a total mineralização de CYN, enquanto a dose de Fe(II) variou de modo a se obter valores de relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  entre 0,2 e 3,4. Em seguida, novos ensaios foram realizados, em duplicata, com valores de doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) adequados para a avaliação do efeito da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  na degradação de CYN, sem a interferência do metanol.

Após a obtenção do valor ótimo para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  em matriz água ultrapura, sem metanol, as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) foram variadas entre 0,4 e 2,0 vezes as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) utilizadas na relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima obtida.

#### **4.5.5 Fase 4: Efeito da concentração inicial de CYN na eficiência de oxidação**

Os ensaios da Fase 4 foram conduzidos com pH inicial em torno de 5,0 e com 100 mL da água de estudo de matriz água ultrapura contendo metanol e 150 mL da água de estudo de matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, ambas com concentrações iniciais de 0,05; 0,1 e 0,2  $\mu\text{M}$  de CYN em béqueres de vidro borossilicato de 250 mL.

Esses experimentos foram realizados com as concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) e a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótimas para as matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol obtidas na Fase 1.

#### **4.5.6 Fase 5: Efeito do pH inicial na degradação de CYN**

Para a avaliação do efeito do pH inicial na degradação de CYN, ensaios foram conduzidos em matriz água ultrapura contendo metanol e em matriz água do Lago Paranoá contendo metanol com, respectivamente, 100 e 150 mL de água de estudo em béqueres de vidro borossilicato de 250 mL. Foram avaliados os valores de pH inicial de 3, 4, 5, 7 e 9.

Esses ensaios foram realizados com as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) e a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótimas para as matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol obtida na Fase 1.

#### **4.5.7 Fase 6: Ensaios cinéticos de degradação de CYN**

Na Fase 6, a cinética de degradação de CYN pelo processo Fenton foi investigada em ensaios conduzidos com as doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) e as relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótimas obtidas na Fase 1 para as respectivas matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol.

Os ensaios foram realizados com valor inicial de pH de cerca de 5,0 e com 250 mL da água de estudo de matriz água ultrapura contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 500 mL e com 800 mL da água de estudo de matriz água do Lago Paranoá contendo metanol em béqueres de vidro borosilicato de 1000 mL.

As amostras foram coletadas nos tempos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7,5, 10, 15, 20 e 30 minutos. Após a obtenção dos dados, foram testados modelos cinéticos de ordem n = 0, 1, 2 e 3 usando o método de integração.

#### **4.5.8 Fase 7: Efeito dos ácidos húmicos e da matéria orgânica algogênica na degradação de CYN em água ultrapura**

Para a determinação do efeito da presença de matéria orgânica algogênica e dos ácidos húmicos na degradação de CYN pelo processo Fenton, 3 grupos de ensaios foram realizados, com valor de pH inicial em torno de 5,0.

O primeiro grupo de ensaios foi realizado para fins de controle (branco), e avaliou novamente a degradação de CYN em matriz água ultrapura contendo metanol. Para a avaliação do efeito dos ácidos húmicos na degradação de CYN no segundo grupo, ensaios foram conduzidos enriquecendo-se a matriz água ultrapura contendo metanol com 5 mg/L de ácidos húmicos. Por fim, no terceiro grupo de ensaios, o efeito da matéria orgânica algogênica foi avaliado enriquecendo-se a matriz água ultrapura (sem metanol) com material lisado de cultivo de células de *Raphidiopsis raciborskii* de modo que a concentração de CYN resultasse similar às concentrações utilizadas nos dois primeiros grupos de ensaios.

Ressalta-se que na água de estudo do terceiro grupo de ensaios não havia metanol, já que foi utilizado extrato e não padrão dissolvido em solução de água ultrapura e metanol para enriquecer esta matriz com CYN.

Como na Fase 7 foi avaliada apenas a matriz água ultrapura, os ensaios desta fase foram conduzidos com a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima para a matriz água ultrapura contendo metanol obtida na Fase 1. Para a avaliação do efeito das doses de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$ , as concentrações de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$  foram variadas entre 1,0 e 4,0 vezes as concentrações de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$  utilizadas para a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima para a matriz água ultrapura contendo metanol obtida na Fase 1.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 ETAPA 0: VALIDAÇÃO DO MÉTODO CLAE-EM/EM PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CYN

A validação intralaboratorial do método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM foi realizada de acordo com o guia Eurachem para validação de métodos analíticos (Magnusson, 2014). As características de desempenho do método avaliadas foram linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), faixa de trabalho, seletividade, viés e robustez.

Na Figura 5.1 é apresentada a relação de linearidade (com  $R^2$  superior a 0,95) entre a concentração de CYN, na faixa entre 0,002 e 0,217  $\mu\text{M}$ , e a correspondente área de pico (*counts*).

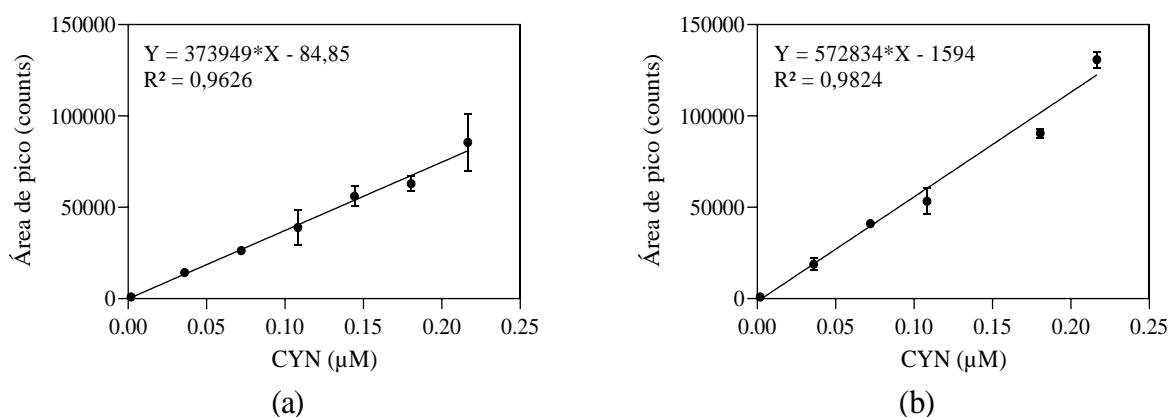


Figura 5.1 – Linearidade do método de detecção e quantificação de CYN (entre 0,002 e 0,217  $\mu\text{M}$ ) para (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá.

Comparando-se as matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá (Figura 5.1), nota-se que as áreas de pico para as mesmas concentrações de CYN foram maiores para a matriz água do Lago Paranoá. Além da própria diferença entre as matrizes, tal fato pode ser resultado também de variações na fase móvel ou no próprio sistema CLAE-EM/EM, uma vez que não foi utilizado padrão interno no método.

Em seguida, para a avaliação dos demais parâmetros em cada matriz analisada, curvas de calibração com concentrações de CYN entre 0,002 e 0,070  $\mu\text{M}$  foram utilizadas (Figura 5.2).

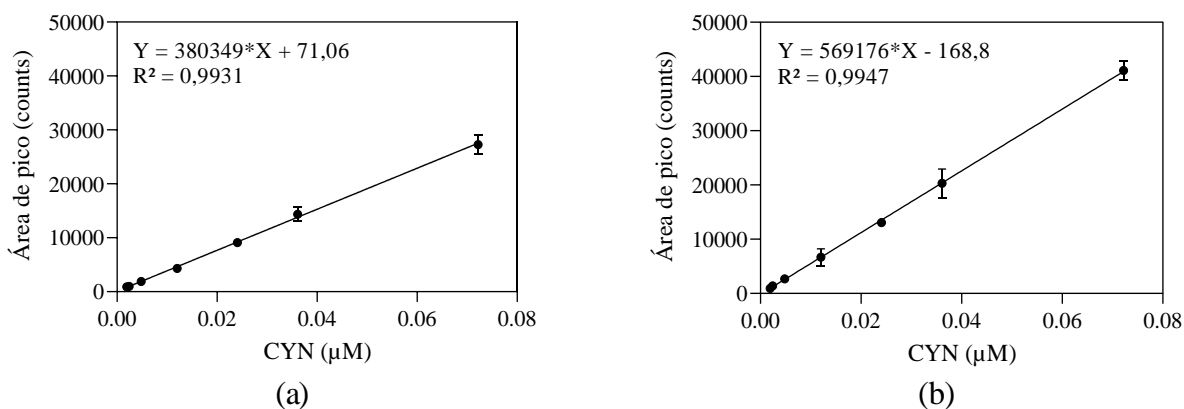


Figura 5.2 – Curvas de calibração para (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá.

Para a determinação dos valores de LOD e LOQ do método, 10 réplicas com concentração de CYN de cerca de 0,0012  $\mu\text{M}$  para cada matriz foram independentemente preparadas e analisadas. Na Figura 5.3 são apresentadas as concentrações de CYN obtidas para cada réplica em ambas as matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá.

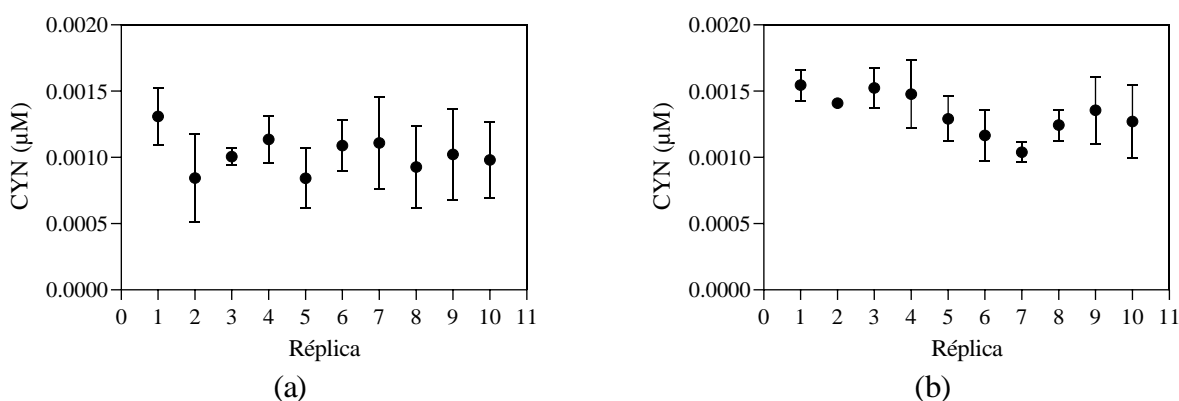


Figura 5.3 – Determinação dos valores de LOD e LOQ em (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá.

A partir dos dados apresentados na Figura 5.3 foram calculados os valores de LOD e LOQ de 0,25 e 0,82 nM para a matriz água ultrapura e de 0,28 e 0,94 nM para a matriz água do Lago Paranoá, respectivamente (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Valores de LOD e LOQ para o método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM em matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá.

Matriz	Significância ( $p < 0,05$ )	Valor $p$	$S_0$	$S'_0 = \frac{S_0}{\sqrt{n}}$	LOD (nM)	LOQ (nM)
Água ultrapura	ns	0,5668	1,4E-04	8,2E-05	0,25	0,82
Água natural (Lago Paranoá)	*	0,0496	1,6E-04	9,4E-05	0,28	0,94

$S_0$  é o valor do desvio padrão entre as médias das 10 réplicas analisadas;  $S'_0$  é a correção de  $S_0$  pelo número  $n$  de medições feita para cada amostra ( $n=3$ ); ns – sem diferença significativa; \* Diferença significativa na margem de não significância.

Com relação à variação das réplicas de cada matriz, uma análise de variância com  $\alpha$  de 0,05 apontou não haver diferenças significativas entre as réplicas da matriz água ultrapura, porém houve uma diferença significativa entre as réplicas da matriz água do Lago Paranoá (Tabela 5.1). A maior variação de concentrações na matriz água do Lago Paranoá justifica os maiores valores de LOD e LOQ obtidos para esta matriz.

Após a obtenção dos valores de LOQ para cada matriz analisada, foram definidas as respectivas faixas de trabalho do método. Como mostrado na Figura 5.4, a faixa de trabalho do método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM é de 0,82 nM a 0,22  $\mu$ M de CYN para matriz água ultrapura e de 0,94 nM a 0,22  $\mu$ M de CYN para matriz água do Lago Paranoá.

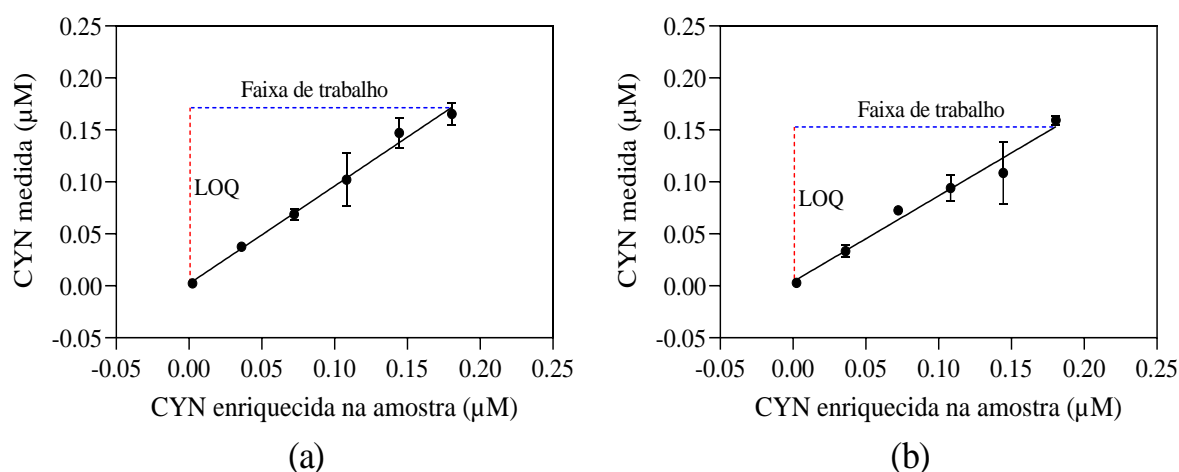


Figura 5.4 – Faixas de trabalho do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN em (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá.

Quanto à seletividade, que representa a habilidade do método analítico de responder somente ao composto alvo na presença de outras substâncias que possam estar contidas na matriz de



interesse, foram avaliadas as possíveis interferências dos compostos Fe(II), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, ácidos húmicos e matéria orgânica algogênica. Na Figura 5.5 são apresentados os valores de concentração medida de CYN, com concentração dosada de cerca de 0,012 μM, em diferentes matrizes e contendo diferentes combinações entre Fe(II), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, ácidos húmicos e matéria orgânica algogênica intracelular. As combinações e concentrações dos compostos interferentes estão apresentadas na Tabela 4.1.

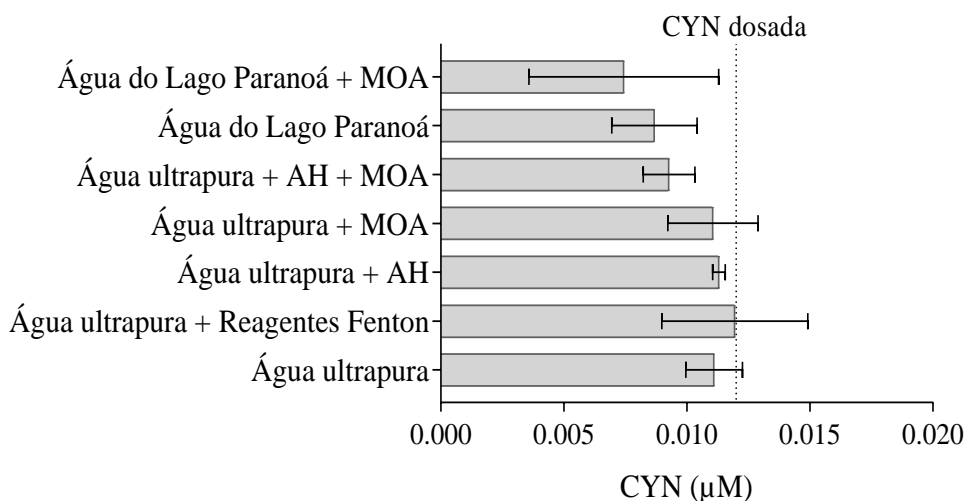


Figura 5.5 – Avaliação da seletividade do método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM. Concentrações de 0,012 μM de CYN, 5 mg/L de ácidos húmicos (AH), reagentes Fenton (20,9 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 55,9 μM de Fe(II) e 23,3 μM de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) e matéria orgânica algogênica (MOA) proveniente de extrato contendo CYN em concentração de 0,0024 μM, e pH inicial corrigido para 5,0 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 mM.

Pode-se observar na Figura 5.5 que a concentração de CYN medida não foi alterada de forma considerável pela presença de Fe(II), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, ácidos húmicos e matéria orgânica algogênica, apesar de a adição de extrato ter resultado em uma concentração de fundo de 0,0024 μM de CYN. A análise de variância com α de 0,05 foi feita e apontou não haver diferenças significativas entre os grupos analisados (P valor de 0,1745 e F valor de 1,784), caracterizando a seletividade do método.

O viés do método, que consiste na diferença entre um valor medido e um valor de referência, foi determinado a partir da análise de réplicas enriquecidas com concentrações de CYN de 0,0022 e 0,0481 μM, como apresentado na Figura 5.6.

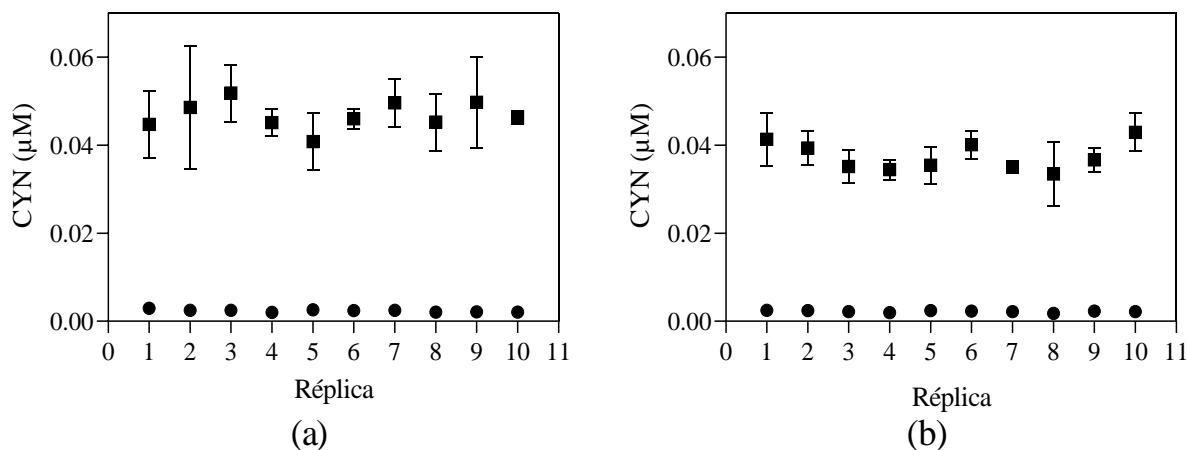


Figura 5.6 – Determinação do viés do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN expresso como recuperação para as concentrações de CYN de 0,0022 e 0,0481  $\mu\text{M}$  em (a) matriz água ultrapura e (b) matriz água do Lago Paranoá.

A partir dos dados apresentados na Figura 5.6, quando a concentração de CYN foi de 0,0022 e 0,0481  $\mu\text{M}$  foram calculados os valores de recuperação de 99 e 97% para matriz água ultrapura e de 93 e 78% para matriz água do Lago Paranoá, respectivamente (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Viés do método para detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM expresso como recuperação para as concentrações de CYN de 0,0022 e 0,0481  $\mu\text{M}$  em matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá.

Matriz	Significância ( $p < 0,05$ )	Valor $p$	CYN enriquecida ( $\mu\text{M}$ )	CYN medida ( $\mu\text{M}$ )	Recuperação (%)
Água ultrapura	ns	0,0967	0,0024	0,0024	99
Água ultrapura	ns	0,8029	0,0481	0,0468	97
Água do Lago Paranoá	ns	0,0775	0,0024	0,0022	93
Água do Lago Paranoá	ns	0,1417	0,0481	0,0374	78

ns – sem diferença significativa.

Como apresentado na Tabela 5.2, sobre variação das réplicas de cada matriz, uma análise de variância com  $\alpha$  de 0,05 apontou não haver diferenças significativas entre as réplicas de cada matriz para ambas as concentrações de CYN de 0,0024 e 0,0481  $\mu\text{M}$ .

Outra característica de performance importante é a robustez, que representa a capacidade do método de não ser afetado por variação nas condições de operação. Para a análise de robustez do método foram analisados os seguintes fatores: pH, analista, temperatura da amostra e modificador da fase móvel.

O teste Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade entre as três medições de cada amostra e o resultado deste teste é apresentado na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Teste de normalidade Shapiro-Wilk com  $\alpha$  de 5% para cada amostra analisada nos ensaios de robustez.

Ensaio	Matriz	Ácido acético (%) (v/v)	Analista	Temperatura (°C)	pH	Significância ( $p < 0,05$ )	Valor $p$
1	Água ultrapura	0,1	Analista 1	20	4	ns	0,07
2	Água ultrapura	0,1	Analista 1	20	8	ns	0,59
3	Água ultrapura	0,1	Analista 1	4	4	ns	0,98
4	Água ultrapura	0,1	Analista 1	4	8	ns	0,94
5	Água ultrapura	0,1	Analista 2	20	4	ns	0,77
6	Água ultrapura	0,1	Analista 2	20	8	ns	0,62
7	Água ultrapura	0,1	Analista 2	4	4	ns	0,18
8	Água ultrapura	0,1	Analista 2	4	8	ns	0,06
9	Água ultrapura	0,2	Analista 1	20	4	ns	0,10
10	Água ultrapura	0,2	Analista 1	20	8	ns	0,07
11	Água ultrapura	0,2	Analista 1	4	4	ns	0,62
12	Água ultrapura	0,2	Analista 1	4	8	ns	1,00
13	Água ultrapura	0,2	Analista 2	20	4	ns	0,74
14	Água ultrapura	0,2	Analista 2	20	8	ns	0,95
15	Água ultrapura	0,2	Analista 2	4	4	ns	0,73
16	Água ultrapura	0,2	Analista 2	4	8	ns	0,62
17	Água natural	0,1	Analista 1	20	4	ns	0,90
18	Água natural	0,1	Analista 1	20	8	ns	0,15
19	Água natural	0,1	Analista 1	4	4	ns	0,96
20	Água natural	0,1	Analista 1	4	8	ns	0,68
21	Água natural	0,1	Analista 2	20	4	ns	0,70
22	Água natural	0,1	Analista 2	20	8	ns	0,70
23	Água natural	0,1	Analista 2	4	4	ns	0,92
24	Água natural	0,1	Analista 2	4	8	ns	0,73
25	Água natural	0,2	Analista 1	20	4	ns	0,57
26	Água natural	0,2	Analista 1	20	8	ns	0,67
27	Água natural	0,2	Analista 1	4	4	ns	0,95
28	Água natural	0,2	Analista 1	4	8	ns	0,67
29	Água natural	0,2	Analista 2	20	4	ns	0,84
30	Água natural	0,2	Analista 2	20	8	ns	0,82
31	Água natural	0,2	Analista 2	4	4	ns	0,65
32	Água natural	0,2	Analista 2	4	8	ns	0,07

ns – sem diferença significativa.

Após a verificação da normalidade dos dados (Tabela 5.3), a análise de variância com 4 fatores foi conduzida para identificar o efeito de cada fator, bem como o efeito das interações entre os fatores analisados (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Resultados da análise de variância com quatro fatores e  $\alpha$  de 5% para avaliação da robustez do método CLAE-EM/EM para detecção e quantificação de CYN.

Matriz	Efeito	Valor $p$	Significância ( $p < 0,05$ )	Varição (%)
Água ultrapura	pH	0,39	ns	3,18
Água ultrapura	Temperatura	0,73	ns	0,53
Água ultrapura	Analista	0,27	ns	5,35
Água ultrapura	Modificador	0,01	*	31,09
Água ultrapura	pH:Temperatura	0,42	ns	2,79
Água ultrapura	pH:Analista	0,49	ns	2,06
Água ultrapura	Temperatura:Analista	0,11	ns	11,40
Água ultrapura	pH:Modificador	0,48	ns	2,14
Água ultrapura	Temperatura:Modificador	0,13	ns	10,49
Água ultrapura	Analista:Modificador	0,66	ns	0,82
Água ultrapura	pH:Temperatura:Analista	0,34	ns	3,94
Água ultrapura	pH:Temperatura:Modificador	0,09	ns	12,58
Água ultrapura	pH:Analista:Modificador	0,38	ns	3,32
Água ultrapura	Temperatura:Analista:Modificador	0,24	ns	6,12
Água ultrapura	pH:Temperatura:Analista:Modificador	0,33	ns	4,17
Água natural	pH	0,46	ns	2,58
Água natural	Temperatura	0,18	ns	8,76
Água natural	Analista	0,03	*	24,04
Água natural	Modificador	0,23	ns	6,99
Água natural	pH:Temperatura	0,16	ns	9,46
Água natural	pH:Analista	0,34	ns	4,44
Água natural	Temperatura:Analista	0,95	ns	0,02
Água natural	pH:Modificador	0,44	ns	2,89
Água natural	Temperatura:Modificador	0,06	ns	17,83
Água natural	Analista:Modificador	0,85	ns	0,18
Água natural	pH:Temperatura:Analista	0,59	ns	1,37
Água natural	pH:Temperatura:Modificador	0,64	ns	1,02
Água natural	pH:Analista:Modificador	0,11	ns	12,74
Água natural	Temperatura:Analista:Modificador	0,21	ns	7,65
Água natural	pH:Temperatura:Analista:Modificador	0,94	ns	0,02

\* Diferença significativa na margem de não significância; ns – sem diferença significativa.

Na Tabela 5.4 é mostrado que para a matriz água ultrapura, as diferentes concentrações do modificador da fase móvel foram responsáveis por cerca de 31% das variações de concentração de CYN observadas (valor  $p$  de 0,01). Já para matriz água do Lago Paranoá, o analista foi responsável por cerca de 24% das variações de concentração de CYN observadas (valor  $p$  de 0,03). Os demais fatores e interações entre fatores não apresentaram diferença significativa na margem de não significância definida. Ressalta-se que o valor  $p$  foi relativamente próximo do valor limite para os fatores com diferença significativa na margem de não significância e que para a análise de variância com 4 fatores só são considerados o valores médio de amostra. Além disso, desconsiderando-se os grupos, uma análise de variância de um fator e considerando as três medição de cada uma das 32 amostra (Tabela 3.2) apontou não haver diferenças significativas entre as amostras (valor  $p$  de 0,0705 e valor  $F$  de 1,548). Dessa forma, o método de detecção e quantificação de CYN por CLAE-EM/EM pode ser considerado robusto.

## **5.2 FASE 1: EFEITO DA RELAÇÃO MOLAR $H_2O_2/Fe(II)$ NA DEGRADAÇÃO DE CYN**

Embora o processo Fenton tenha sido amplamente utilizado para a degradação de diversos micropoluentes orgânicos em diferentes matrizes, até a data de realização dos experimentos deste trabalho, estudos abordando a oxidação de CYN por meio do processo Fenton não foram encontrados na literatura. Dessa forma, uma etapa inicial de testes preliminares para determinação do tempo de reação e das concentrações de CYN,  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$  se fez necessária.

### **5.2.1 Etapa 0 – Ensaio preliminares**

Inicialmente os experimentos preliminares foram conduzidos com concentração inicial de  $0,1 \mu M$  de CYN (aproximadamente  $41,5 \mu g/L$ ), valor superior aos valores comumente encontrados em águas superficiais ( $0,0024$  a  $0,0241 \mu M$  ou  $1$  a  $10 \mu g/L$ ), dose de  $H_2O_2$  fixa em  $2,1 \mu M$  (cerca de 40% do valor estequiométrico para degradação total de CYN, para que os residuais ainda fossem detectados) e doses de  $Fe(II)$  variando de modo a se obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 0,4 e 2,8. Na Figura 5.7 são apresentadas as concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de CYN,  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$  após 30 minutos de reação para as diferentes relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  testadas.

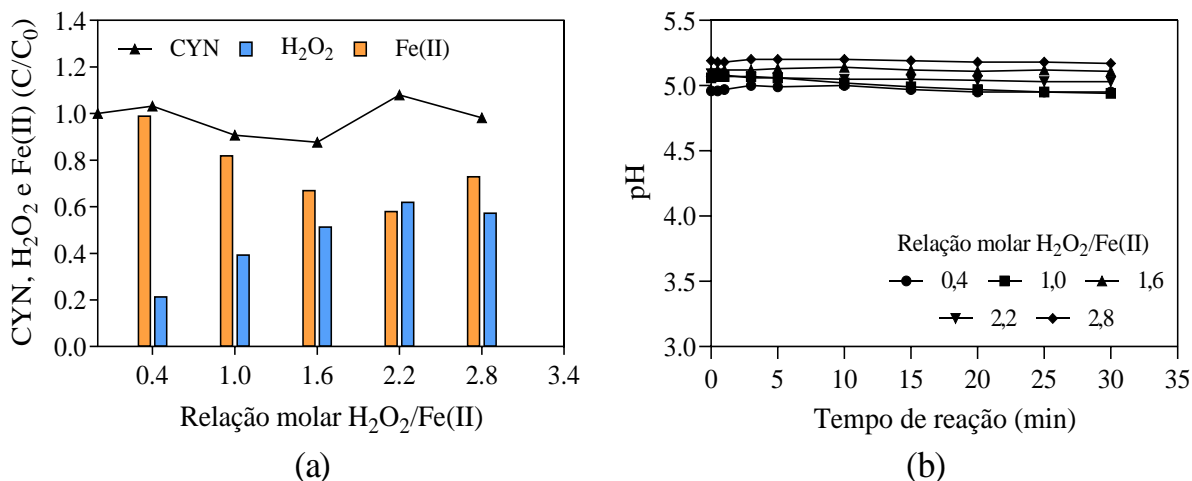


Figura 5.7 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de (a) CYN,  $H_2O_2$  e Fe(II), e (b) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de  $1.026,6 \mu M$  de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , concentração inicial de  $0,1 \mu M$  de CYN e doses iniciais de,  $2,1 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $0,75$  a  $5,25 \mu M$  de Fe(II).

Observa-se na Figura 5.7(a) que, para a dose fixa de  $H_2O_2$  de  $2,1 \mu M$ , as maiores degradações de CYN foram de 12 e 9% para as relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  1,6 e 1, respectivamente. Apesar das diferentes doses de Fe(II) utilizadas, o pH de oxidação se manteve estável durante o tempo de reação, Figura 5.7(b). Devido às baixas eficiências de degradação de CYN obtidas se utilizando  $2,1 \mu M$  de  $H_2O_2$ , a dose de  $H_2O_2$  foi aumentada para  $10 \mu M$  e o resultados destes ensaios são apresentados na Figura 5.8.

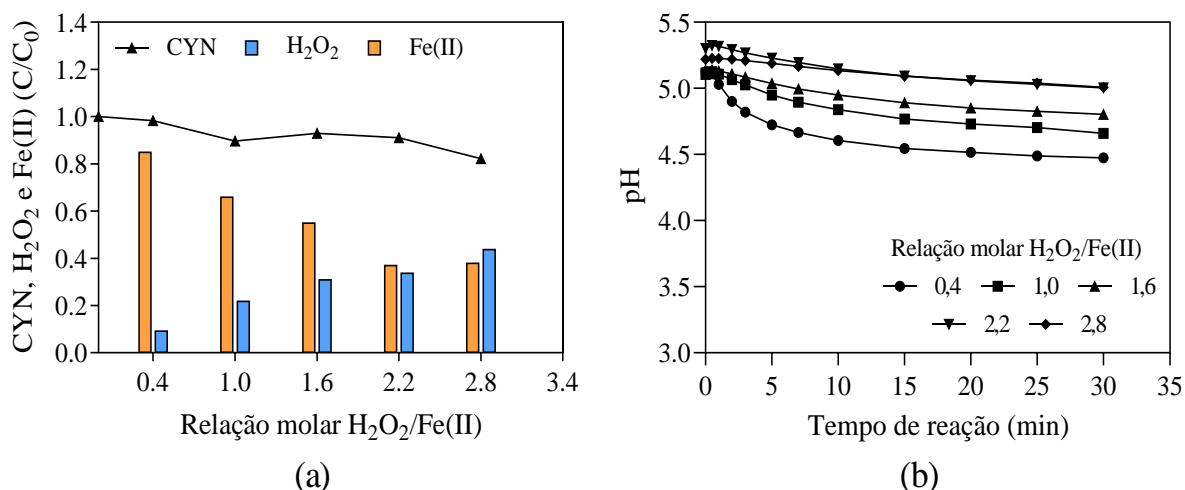


Figura 5.8 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de (a) CYN,  $H_2O_2$  e Fe(II), e (b) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de  $1.026,6 \mu M$  de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , concentração inicial de  $0,1 \mu M$  de CYN e doses de  $10 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $3,6$  a  $25 \mu M$  de Fe(II).

Como pode ser observado na Figura 5.8(a), apesar do aumento de quase 5 vezes da dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a degradação máxima de CYN obtida foi de 18% para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 2,8. Nota-se ainda que o aumento das doses de Fe(II) e, por conseguinte, a redução da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ , promoveu a redução do pH final de oxidação, Figura 5.8(b). Ressalta-se ainda que a dose de  $10\ \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  é cerca de 2 vezes a concentração necessária para completa mineralização de CYN pelo  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Equação 4.5). Nessas condições, a competição entre CYN e os próprios reagentes  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) pelo radical  $\cdot\text{OH}$  produzido no processo Fenton parece ter um papel importante na degradação de CYN, uma vez que há excesso de reagentes Fenton em relação a CYN.

Dando continuidade aos ensaios preliminares, foi adotada a concentração inicial de CYN de  $0,05\ \mu\text{M}$ , mantendo a dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de  $10\ \mu\text{M}$  e avaliando, além do tempo de 30 min, o tempo de 60 min. Os resultados desses ensaios são apresentados na Figura 5.9.

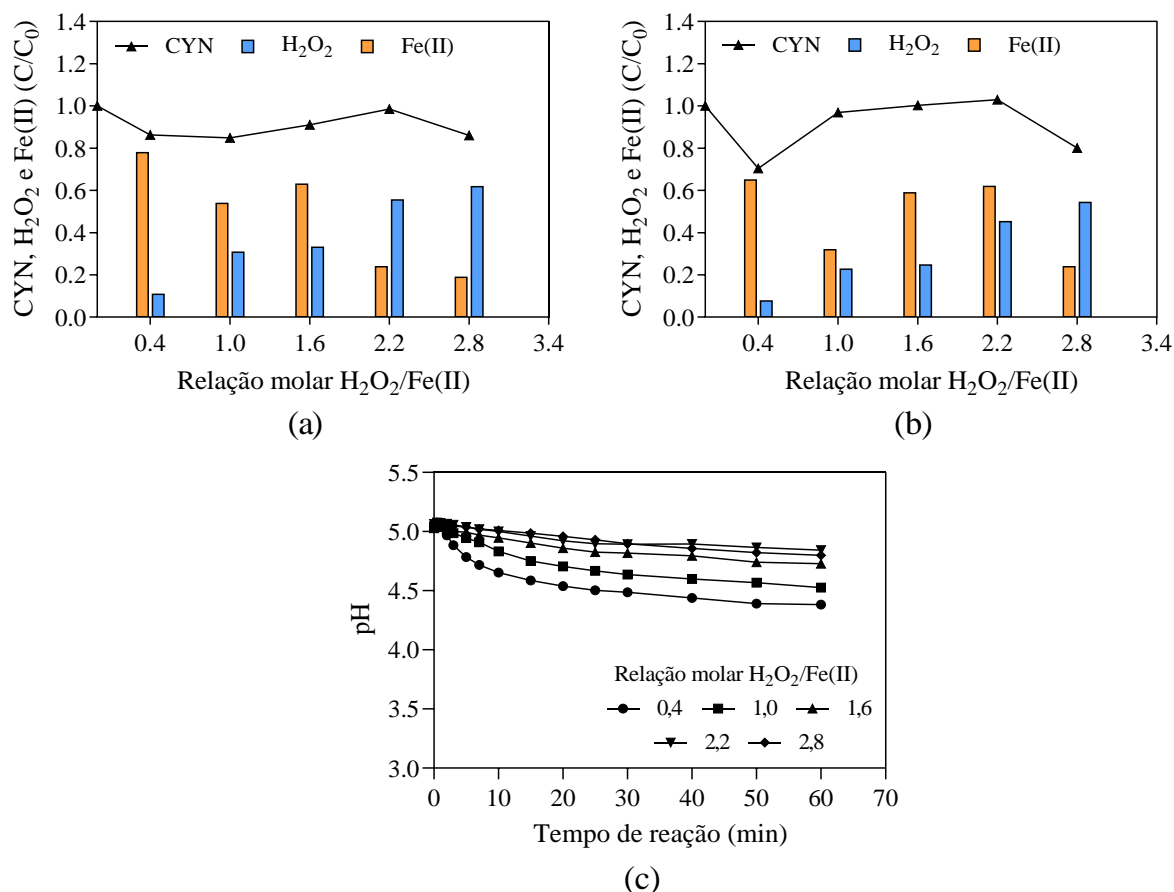


Figura 5.9 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de CYN,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) em (a) 30 min, (b) 60 min, e (c) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de  $513,3\ \mu\text{M}$  de metanol, pH inicial  $\approx 5$ , concentração inicial de  $0,05\ \mu\text{M}$  de CYN e doses de  $10\ \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $3,6$  a  $25\ \mu\text{M}$  de Fe(II).

Ao se comparar as Figuras 5.9(a) e 5.8(a), nota-se que a redução da dose de CYN de 0,1 para 0,05  $\mu\text{M}$  não resultou em diferenças consideráveis de degradação após 30 min de reação. Para a concentração inicial de 0,05  $\mu\text{M}$  de CYN, a máxima eficiência de degradação foi de 15% (relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 1), enquanto para a concentração inicial de 0,1  $\mu\text{M}$  de CYN, a máxima eficiência de degradação foi de 18% (relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 2,8).

Com relação ao efeito do tempo de reação, observou-se que a degradação de CYN, para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4, aumentou de 14% em 30 min (Figura 5.9(a)) para o valor máximo de 30% em 60 min (Figura 9.(b)).

A partir da obtenção do valor máximo de 30% de degradação de CYN para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 (10  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ ) após 60 min de reação (Figura 5.9(b)), um outro conjunto de ensaios foi realizado com dose fixa de  $\text{Fe(II)}$  de 25  $\mu\text{M}$ . Os resultados desses experimentos são apresentados na Figura 5.10.

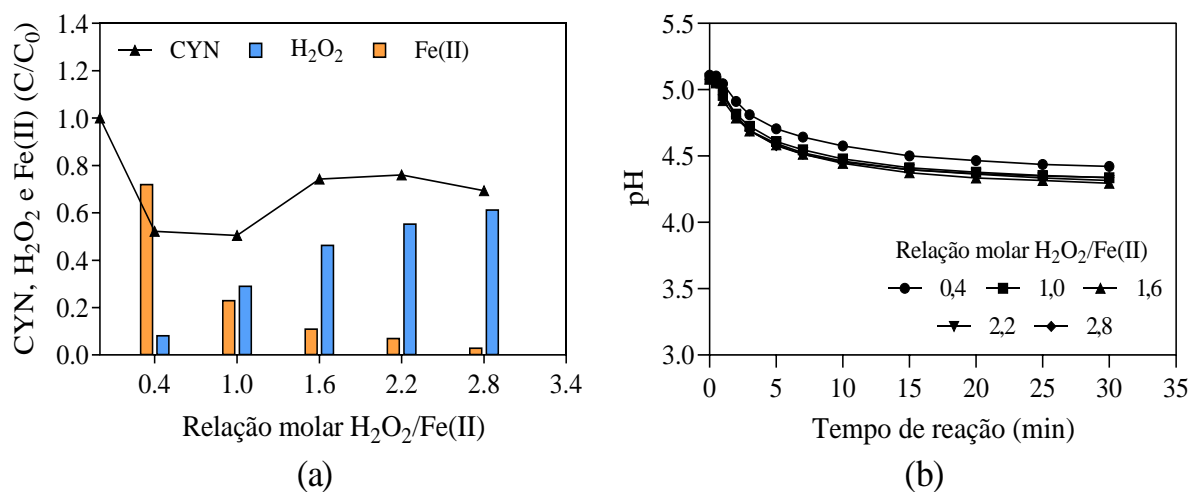


Figura 5.10 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de (a) CYN,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$ , e (b) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3  $\mu\text{M}$  de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , concentração inicial de 0,05  $\mu\text{M}$  de CYN e doses de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$  e 10 a 70  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Fixando-se a dose de  $\text{Fe(II)}$  em 25  $\mu\text{M}$ , foram obtidas degradações de cerca de 50% para as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 e 1,0 (Figura 5.10(a)). Como a dose de  $\text{Fe(II)}$  foi mantida fixa, o pH de oxidação para as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  analisadas não apresentou variação notável (Figura 5.10 (b)).



Por fim, um último grupo de ensaios foi realizado com dose de Fe(II) fixada em 50  $\mu\text{M}$ , avaliando-se além do tempo de reação de 30 min o tempo de 5 min (Figura 5.11).

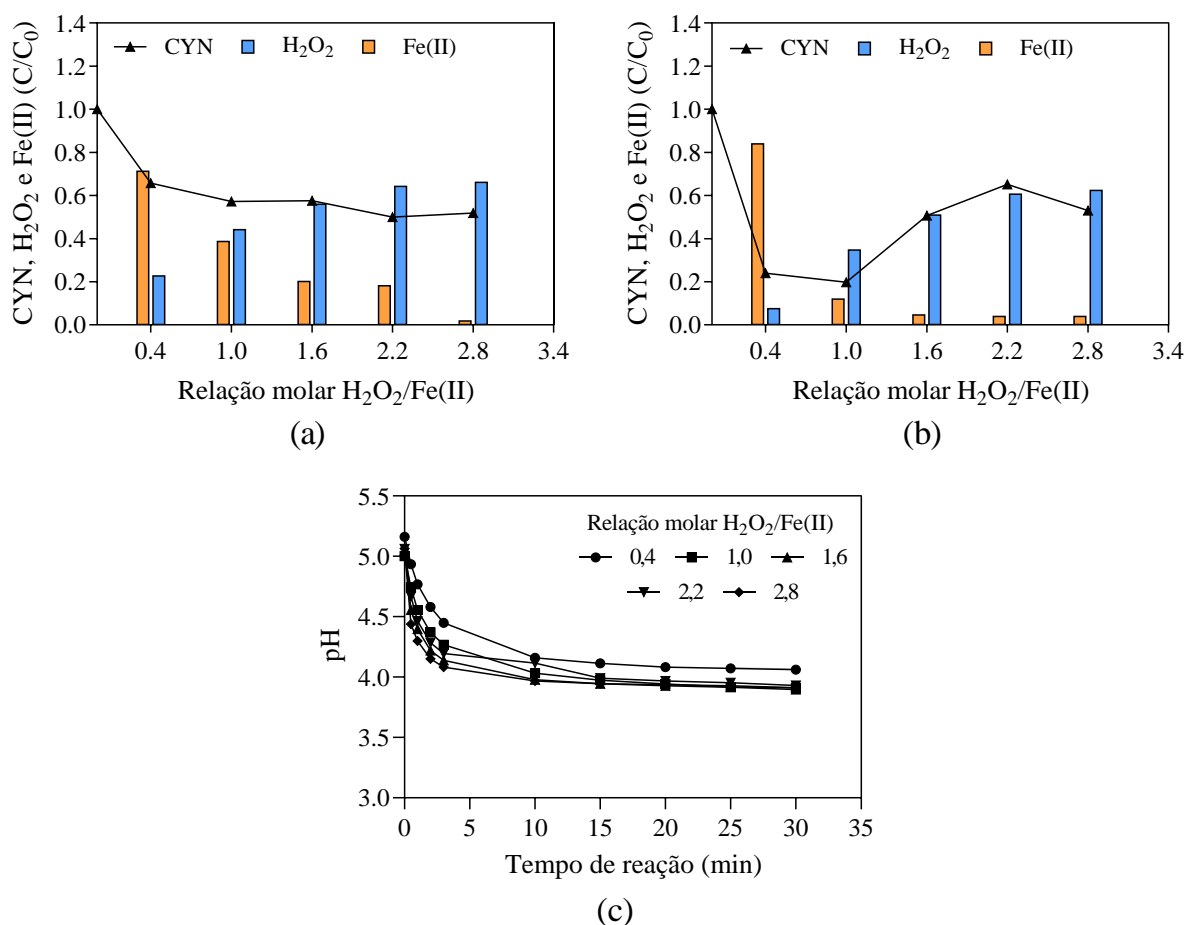


Figura 5.11 – Concentrações relativas ( $C/C_0$ ) de CYN, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) em (a) 5 min, (b) 30 min, e (c) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II). Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3  $\mu\text{M}$  de metanol, pH inicial  $\approx 5$ , concentração inicial de 0,05  $\mu\text{M}$  de CYN e doses de 50  $\mu\text{M}$  de Fe(II) e 20 a 140  $\mu\text{M}$  de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

O aumento da dose de Fe(II) de 25 para 50  $\mu\text{M}$ , após 30 min de reação, resultou no aumento de 50% para cerca 80% de degradação de CYN para as relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 0,4 e 1,0 (Figuras 5.10(a) e 5.11(b)). Nota-se ainda que o comportamento da degradação de CYN se manteve com o aumento da dose de Fe(II) de 25 para 50  $\mu\text{M}$  (Figuras 5.10(a) e 5.11(b)).

Ao se comparar as Figuras 5.11(a) e 5.11(b), nota-se que o tempo de reação apresentou interferência considerável para as relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 0,4 e 1,0. Sob essas condições, as eficiências de degradação aumentaram de 34 e 42% em 5 min para 76 e 80% para 30 min de reação, respectivamente.

O aumento da dose de Fe(II) resultou em menores valores de pH final de oxidação (Figuras 5.10(b) e 5.11(c)), o que pode favorecer a degradação de CYN, já que o processo Fenton possui melhor desempenho em meio ácido, com valores de pH entre 3 e 4.

Ressalta-se que a dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 25 µM, com degradações de cerca de 80% de CYN, é cerca de 10 vezes a dose calculada pela Equação 4.5 para completa mineralização de CYN e que esse comportamento pode ter sido causado pela presença de metanol na água de estudo. A avaliação da influência do metanol na degradação de CYN é apresentada no item 5.4.

A partir da análise dos resultados preliminares obtidos, os ensaios da Etapa 1 para avaliação do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá, ambas contendo metanol, pelo processo Fenton foram conduzidos com as seguintes condições: concentração inicial de CYN de 0,05 µM; pH inicial em torno de 5,0; tempo de reação de 30 min; e doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou Fe(II) fixa em 25 µM.

### 5.2.2 Etapa 1 – *Screening* do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol

Como detalhado no item 4.5 do capítulo Materiais e Métodos, dois grupos de ensaios, conduzidos em triplicata, foram realizados para avaliar o efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol (Figura 5.12).

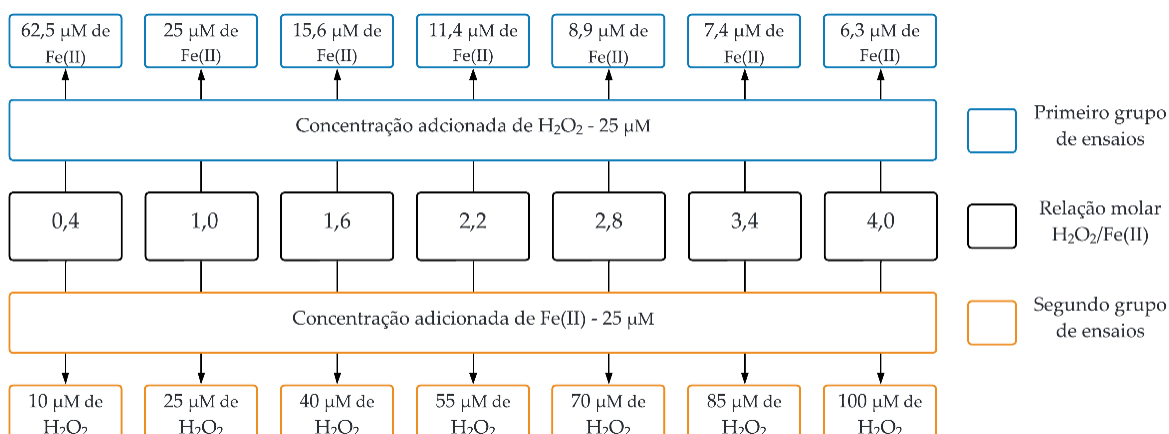


Figura 5.12 – Concentrações dos reagentes Fenton em cada grupo de ensaios para determinação do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 µM de metanol.

No primeiro grupo de ensaios (quadros em azul na Figura 5.12), a dose de  $H_2O_2$  foi fixada em  $25 \mu M$ , enquanto a dose de  $Fe(II)$  variou de modo a se obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 0,4 e 4,0. Já no segundo grupo de experimentos (quadros em laranja na Figura 5.12), a dose de  $Fe(II)$  foi fixada em  $25 \mu M$ , enquanto a dose de  $H_2O_2$  variou de modo a se obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 0,4 e 4,0.

As Figuras 5.13 e 5.14 apresentam os valores residuais médios ( $n = 3$ ) e o desvio padrão dos parâmetros CYN,  $H_2O_2$ ,  $Fe(II)$ ,  $Fe(III)$ , ferro total e desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares no primeiro e no segundo grupo de ensaios, respectivamente.

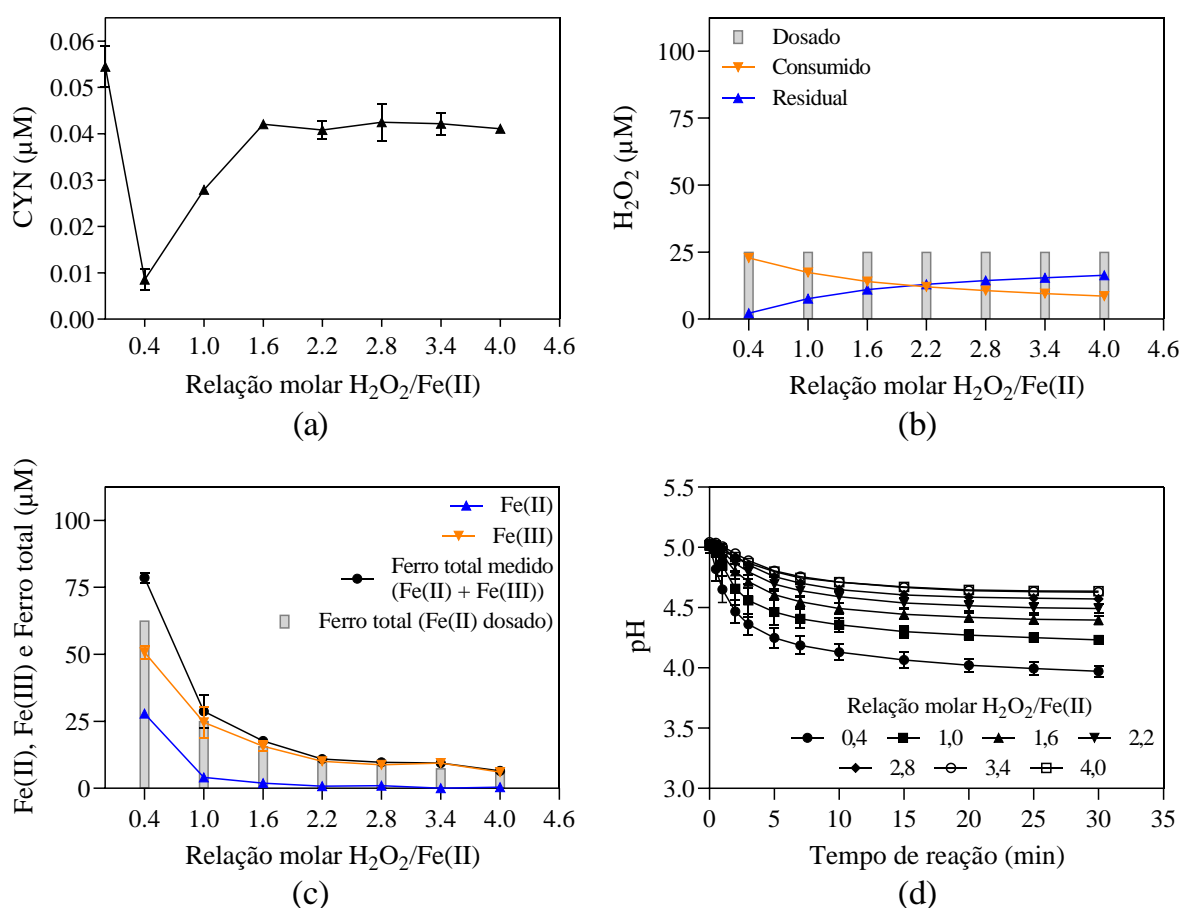


Figura 5.13 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b)  $H_2O_2$ , (c)  $Fe(II)$ ,  $Fe(III)$  e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de  $513,3 \mu M$  de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , dose de  $H_2O_2$  fixa em  $25 \mu M$  e doses de  $Fe(II)$  variando de  $6,3$  a  $62,5 \mu M$ .

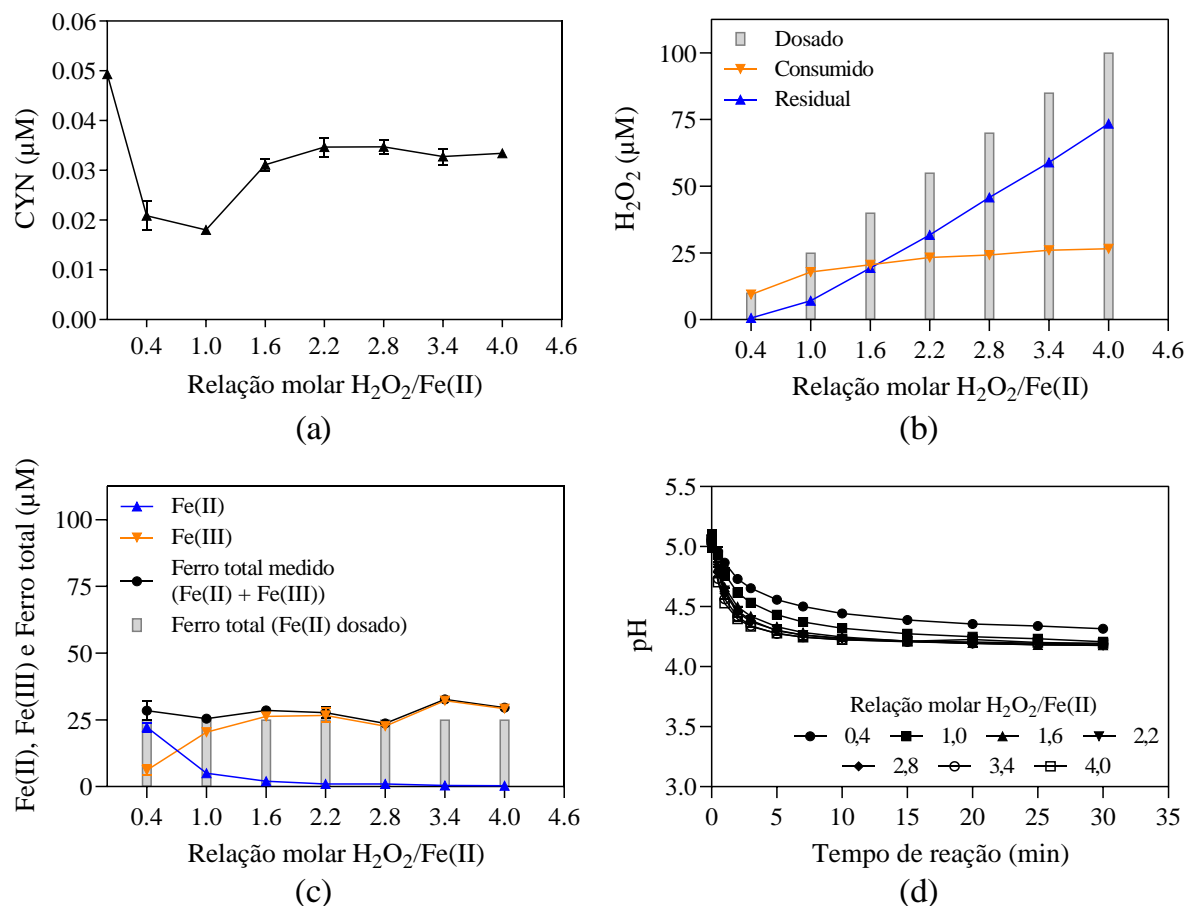


Figura 5.14 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b)  $H_2O_2$ , (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo cerca de  $513,3 \mu M$  de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , dose de Fe(II) fixa em  $25 \mu M$  e doses de  $H_2O_2$  variando de 10 a  $100 \mu M$ .

No primeiro grupo de ensaios, a maior degradação de CYN, 84%, foi obtida com a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  de 0,4 (Figura 5.13(a)). Já no segundo grupo de ensaios, a maior degradação de CYN, 64%, foi alcançada com a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  de 1,0 (Figura 5.14(a)).

Ressalta-se que as relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  que proporcionaram maiores valores de degradação de CYN (que serão genericamente chamadas de “ótimas”) observadas neste estudo estão de acordo com as relações molares para a reação principal de Fenton (Equação 3.4) e para a reação global do processo Fenton (Equação 3.11). Isso sugere que as relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  menores ou iguais a 1,0 podem de fato favorecer a geração de radicais hidroxila ( $\cdot OH$ ).

Apesar de cada grupo de ensaio ter apresentado um valor distinto de relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima, o efeito da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  na oxidação de CYN apresentou comportamento semelhante nos grupos de ensaios. Como pode ser visto nas Figuras 5.13 e 5.14, a eficiência de degradação de CYN diminuiu quando a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  aumentou de 0,4 para 1,6 e permaneceu aproximadamente constante para relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  maiores que 1,6. A redução observada na eficiência de degradação do CYN pode ser atribuída ao sequestro dos radicais hidroxila pelo excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Equação 3.6), uma vez que as frações residuais ou concentração relativa ( $C/C_0$ ) de CYN apresentaram tendência semelhante às frações residuais de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ressalta-se ainda que o sequestro de radicais  $\cdot\text{OH}$  pelo excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  leva à geração de radical hidroperoxila ( $\text{HO}_2\cdot$ ) que apresenta menor potencial de redução (1,7 V) do que o radical hidroxila (2,8 V) (Lawton e Robertson, 1999).

Como esperado, durante o tempo de reação e na ausência dos reagentes Fenton, menos de 5% de degradação de CYN foi observada, uma vez que a CYN é bastante estável em água ultrapura (Chiswell *et al.*, 1999).

Ao se comparar a eficiência de degradação de CYN para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 nos dois grupos de ensaios, o menor valor de degradação observado no segundo grupo, 58% (Figura 5.14a), pode ser explicado pelas doses de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que foram 2,5 vezes menores no segundo grupo que no primeiro grupo de ensaios. Além disso, analisando-se as concentrações residuais relativas dos reagentes Fenton para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4, nota-se que, enquanto o residual relativo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi aproximadamente semelhante nos dois grupos de ensaios (entre 6 e 9%, Figura 5.13(b) e Figura 5.14(b)) o residual relativo de Fe(II) foi pelo menos duas vezes maior no segundo grupo (78% Figura 5.14(c)) do que no primeiro grupo de experimentos (35%, Figura 5.13(c)), indicando que o aumento nas doses dos reagentes Fenton, especialmente Fe(II), pode ter aumentado o sequestro do radical  $\cdot\text{OH}$  (Equação 3.7) e, conseqüentemente, o consumo de Fe(II).

Ainda com relação a análise dos residuais relativos dos reagentes Fenton, a alta porcentagem de  $\text{H}_2\text{O}_2$  residual (de 44 a 73%) e a baixa porcentagem de Fe(II) residual (de 1 a 11%) observados nas relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  maiores de 1,0 indicam que maiores eficiências de degradação poderiam ser alcançadas caso o tempo de reação fosse maior que 30 min, uma vez que a regeneração do Fe(II) pode ser realizada pelo residual de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por meio da reação

conhecida como Fenton-*like* (Equação 3.5). Entretanto, a reação Fenton-*like* é muito lenta (0,001 a 0,01 M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> (Walling e Goosen, 1973)) em comparação com a reação principal do processo Fenton (Equação 3.4), que possui constante de taxa de segunda ordem de 70M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> (Rigg *et al.*, 1954).

Como pode ser observado na Figura 5.13(d), o aumento da dose de Fe(II) pode justificar a redução no pH final de oxidação observada, já que a hidrólise de Fe(III) produzida na reação de Fenton (Equação 3.4) contribui para a acidificação da água (Hurowitz *et al.*, 2009).

O pH final para a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 0,4 foi menor no primeiro grupo de ensaios (Figura 5.13(d)) do que no segundo grupo (Figura 5.14(d)). Como maiores eficiências de degradação no processo Fenton foram relatadas em condições ácidas (valores de pH entre 3 e 4) (Pignatello *et al.*, 2006; Tekin *et al.*, 2006; Zhong *et al.*, 2009), os menores valores de pH final observados no primeiro grupo de ensaios pode ter contribuído para o aumento da produção de radicais <sup>•</sup>OH e, conseqüentemente, da degradação de CYN.

Uma vez que, em ambos os grupos de ensaios, a degradação de CYN foi maior para valores de relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) menores que 1, ensaios foram conduzidos na Etapa 2 com o objetivo de analisar novos valores de relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) em torno dos valores ótimos obtidos.

### **5.2.3 Etapa 2 – Efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN na faixa de maior degradação obtida**

Os resultados obtidos na Etapa 2 são apresentados na Figura 5.15, na qual nota-se que a degradação de CYN é maior, entre 95 e 99%, para valores de relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 0,4 e 0,6, ou seja, valores em torno de 0,5, que é o valor da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) para a reação global do processo Fenton (Equação 3.11). Similarmente, avaliando a oxidação de CYN em água ultrapura pelo processo Fenton, mas adotando-se pH inicial 3 e concentrações iniciais de 0,72 μM de CYN, 10 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 20 μM de Fe(II) e 60 min de reação, Schneider *et al.* (2022) reportaram relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima de 0,5 com 31% de degradação de CYN nas condições avaliadas.

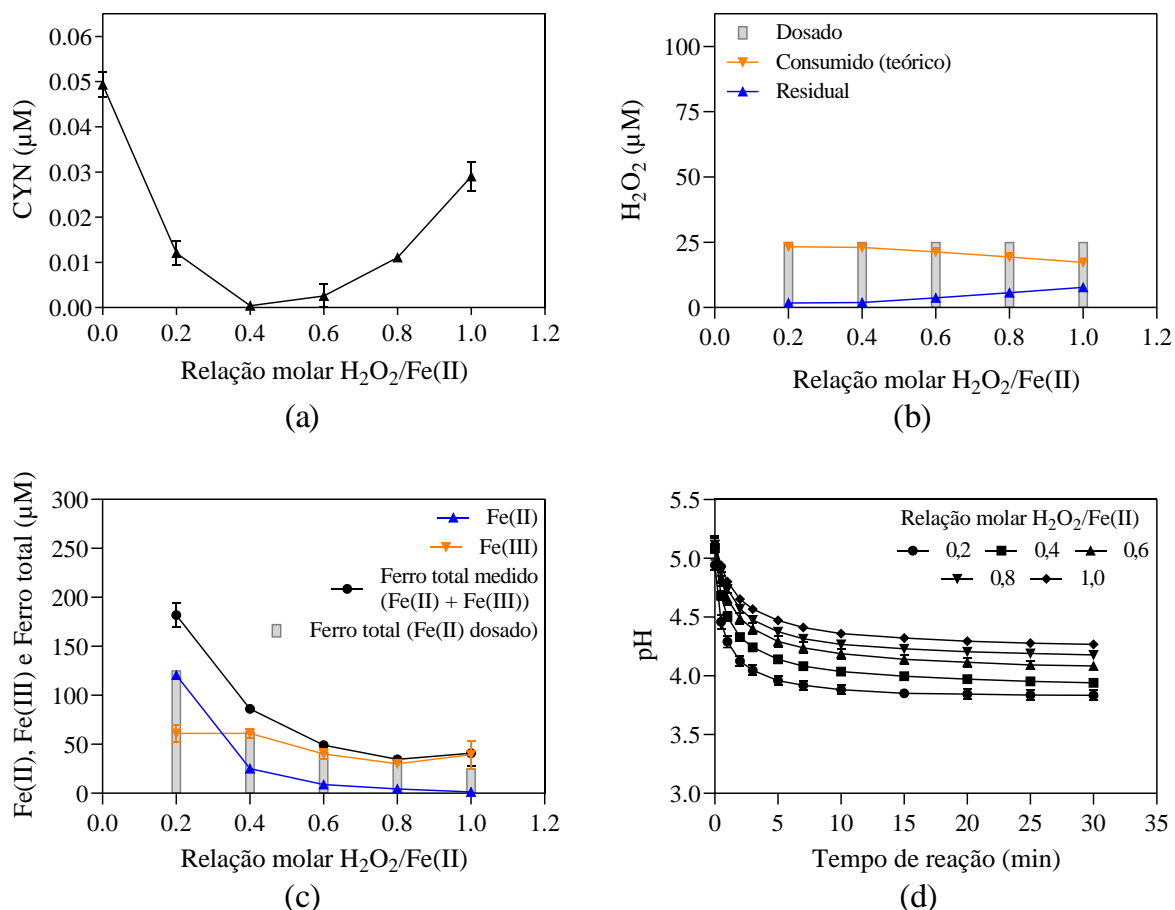


Figura 5.15 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II). Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 µM de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fixa em 25 µM e doses de Fe(II) variando de 25 a 125 µM.

Como a taxa de reação entre o radical  $\cdot\text{OH}$  e o Fe(II) é maior que a taxa de reação entre o radical  $\cdot\text{OH}$  e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( $3,2 \times 10^8$  e  $3,3 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Buxton *et al.*, 1988)), esperava-se que as relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) menores que o valor estequiométrico de 0,5 para a reação global de Fenton apresentassem menores eficiências de degradação. Isso era esperado já que, para uma mesma concentração de o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II), o Fe(II) consumiria mais radicais  $\cdot\text{OH}$ , uma vez que a taxa de reação entre o Fe(II) e o radical  $\cdot\text{OH}$  é maior que a taxa de reação entre o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o radical  $\cdot\text{OH}$ . Entretanto, neste trabalho o oposto foi observado, ou seja, menores relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) apresentam maiores eficiências de degradação de CYN. Deve-se ainda enfatizar que não há consenso quanto à relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima, pois ela também depende de condições específicas como pH, tipo e concentração de poluente. Para a degradação de MCs pelo processo Fenton, a relação molar

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima relatada está na faixa de 0,7 a 15 (Bandala *et al.*, 2004; Al Momani *et al.*, 2008; Zhong *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2017).

Para a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima de 0,4, nota-se que, nas mesmas condições, a degradação de CYN aumentou de 84% (com remoção de concentração de 0,045 μM) nos ensaios apresentados na Figura 5.13 para 99% (com remoção de concentração de 0,049 μM) nos ensaios apresentados na Figura 5.15. Como a remoção em massa foi similar nos ensaios apresentados nas Figuras 5.13 e 5.16, a diferença de eficiência de degradação de CYN observada pode ser atribuída às variações nas concentrações de CYN, que foi 10% menor nos ensaios apresentados na Figura 5.15.

Dessa forma, com base na eficiência de oxidação de CYN em água ultrapura contendo metanol por meio do processo Fenton nas condições avaliadas neste estudo, o valor de 0,4 foi adotado como a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima (25 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 62,5 μM de Fe(II)).

#### **5.2.4 Etapa 3 – *Screening* do efeito da relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) na degradação de CYN em água do Lago Paranoá contendo metanol**

Com o objetivo de reajustar as doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) para a matriz água do Lago Paranoá, ensaios foram conduzidos de forma preliminar com dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fixada em 25 μM e doses de Fe(II) variando entre 25 e 125 μM de modo a se obter relações molares H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) entre 0,2 e 1,0. Na Figura 5.16 são apresentadas as concentrações residuais de CYN em matriz água do Lago Paranoá após 30 min de reação.

A partir da Figura 5.16, nota-se que houve a redução das eficiências de degradação de CYN ao se utilizar água do Lago Paranoá como matriz, na qual a maior degradação, 21%, foi atingida quando se utilizou a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) de 0,4. Sob condições semelhantes (pH inicial ≈ 5,0; CYN ≈ 0,05 μM; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 25 μM; Fe(II) = 62,5 μM; 30 min de reação), a degradação de CYN em matriz água ultrapura foi de 84 a 99%. A menor degradação em matriz água do Lago Paranoá observada decorre da presença da matéria orgânica natural na água superficial utilizada (CONP médio de 133,6 μM C, Tabela 5.5), que compete com a CYN pelas ligações com os agentes oxidantes. Comportamento similar foi relatado por Park *et al.* (2017), que reportaram eficiência de degradação de MC-LR de 77% em água ultrapura



e de 30% em água natural com COD de 338  $\mu\text{M C}$ , em ensaios conduzidos com 0,2  $\mu\text{M}$  de MC-LR, 147  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 98,5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

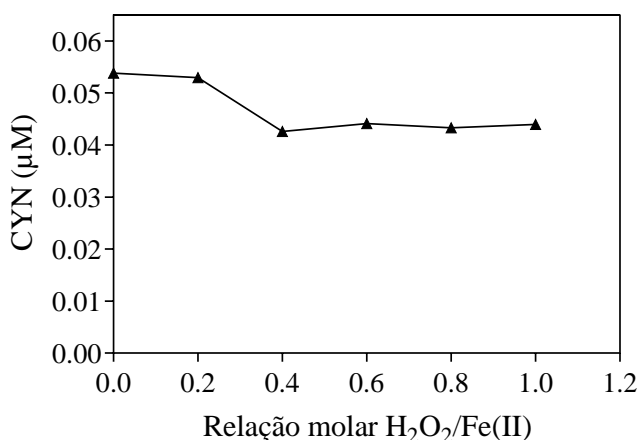


Figura 5.16 – Concentração residual de CYN para diferentes relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água do Lago Paranoá contendo cerca de 513,3  $\mu\text{M}$  de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, dose de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e doses de 25 a 125  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

Para os experimentos de oxidação de CYN em água natural, foram realizadas 4 coletas de água proveniente do Lago Paranoá. A água foi coletada após pré-filtração na Estação de Tratamento de Água Lago Norte. Os parâmetros físico-químicos da água são apresentados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 – Características da água natural coletada após pré-filtração na Estação de Tratamento de Água Lago Norte.

Parâmetro	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4	Média	Desvio Padrão
pH	7,4	7,4	7,5	7,6	7,5	0,1
CE ( $\mu\text{S/cm}$ )	91,2	93,7	91,7	91,4	92,0	1,2
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	28,3	27,8	26,8	26,3	27,3	0,9
Alcalinidade (mg/L $\text{CaCO}_3$ )	29	29	28	29	28,8	0,5
Cor	4	4	4	4	4	0
Turbidez (NTU)	1,69	1,66	1,82	2,21	1,85	0,25
$\text{UV}_{254}$	0,027	0,027	0,030	0,028	0,028	0,001
$\text{Fe(II)}$ ( $\mu\text{M}$ )	ND	ND	ND	ND	ND	ND
$\text{Fe(III)}$ ( $\mu\text{M}$ )	1,43	2,50	3,10	1,89	2,23	0,73
$\text{H}_2\text{O}_2$ ( $\mu\text{M}$ )	0,09	0,13	0,06	0,04	0,08	0,04
CONP ( $\mu\text{M C}$ )	112,4	88,3	84,9	248,9	133,6	77,8

ND: Não detectado.

Visando potencializar o efeito da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  na oxidação de CYN em matriz água do Lago Paranoá, a dose de  $H_2O_2$  foi aumentada de 25 para 75  $\mu M$ . Para a dose 75  $\mu M$  de  $H_2O_2$ , a dose de  $Fe(II)$  variou entre 22 e 375  $\mu M$  de modo a se obter relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  entre 0,2 e 3,4 (Figura 5.17).

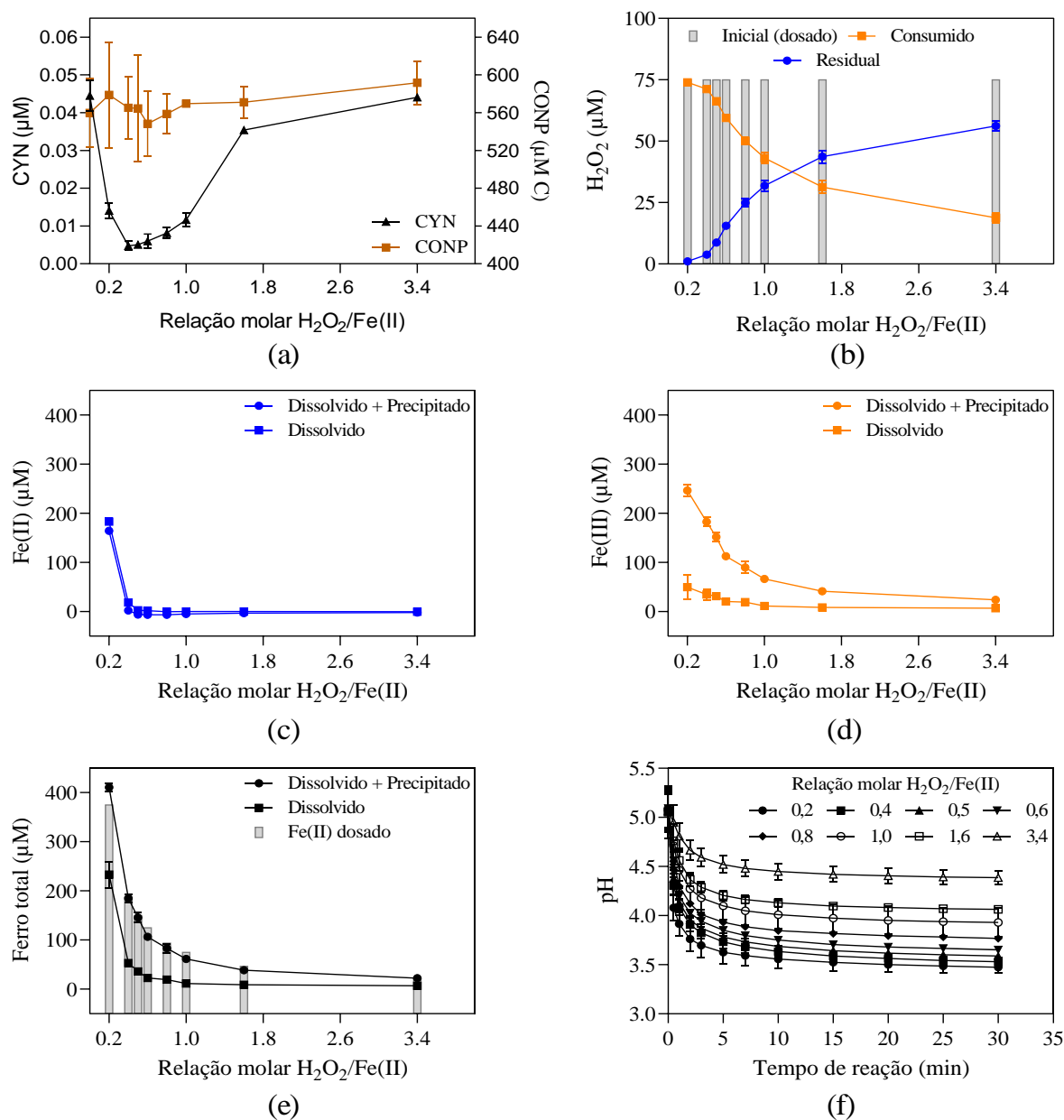


Figura 5.17 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b)  $H_2O_2$ , (c)  $Fe(II)$ , (d)  $Fe(III)$ , (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água do Lago Paranoá contendo cerca de 513,3  $\mu M$  de metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , dose de  $H_2O_2$  fixa em 75  $\mu M$  e doses de  $Fe(II)$  variando de 22 a 375  $\mu M$ .

Como apresentado na Figura 5.17 e para melhor compreensão do processo Fenton em matriz água do Lago Paranoá, foi monitorado também o CONP das amostras e, em virtude da presença de turbidez e do aumento das doses de Fe(II) na matriz água do Lago Paranoá, foram monitoradas, além das as frações totais (dissolvido + precipitado), as frações dissolvidas (após filtração em 0,22  $\mu\text{m}$ ) de Fe(II), Fe(III) e ferro total, com o objetivo de avaliar algum efeito de coagulação/floculação.

Os maiores valores de degradação de CYN de cerca de 89% foram obtidos com as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 e 0,5 (Figura 5.17(a)). Ao se comparar as Figuras 5.16 e 5.17, nota-se que o aumento da dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 25 para 75  $\mu\text{M}$  resultou no aumento da eficiência de degradação de 21 para 89% para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4.

Independentemente da matriz analisada, água ultrapura ou água do Lago Paranoá, o efeito da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  na degradação de CYN é semelhante. Em ambas as matrizes, a máxima degradação foi observada para o valor de relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4, seguido da redução sistemática da eficiência de oxidação até o valor de relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 1,6, a partir da qual se observa uma tendência de estabilização da remoção de CYN.

Ressalta-se ainda que as baixas remoções observadas nas relações molares maiores  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  que 1,0 podem ser decorrentes das baixas doses de Fe(II) e do baixo tempo de contato utilizado, uma vez que se observa elevados residuais de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Sobre a mineralização da matéria orgânica presente na matriz água do Lago Paranoá, não foi observada redução de CONP. Tal fato pode ser decorrente da presença de metanol na solução estoque de CYN utilizada. A interferência do metanol presente na solução estoque e, conseqüentemente, nas matrizes enriquecidas com CYN, na eficiência de oxidação será discutida no item 5.4.

Como esperado, não houve diferenças notáveis entre as concentrações de Fe(II) totais e dissolvidas (Figura 5.17(c)). Já com relação ao Fe(III), as concentrações totais foram cerca de 5 vezes superiores as concentrações dissolvidas (Figura 5.17(d)). Apesar do aumento da dose inicial de Fe(II), causado pela diminuição da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ , favorecer a precipitação de Fe(III), este aumento também proporciona menores valores de pH final, o

que pode diminuir a precipitação de Fe(III). Enquanto as concentrações totais de Fe(III) variaram de 24,1 a 246,3  $\mu\text{M}$ , as concentrações dissolvidas variaram apenas de 7,0 a 49,8  $\mu\text{M}$  (Figura 5.17(e)).

Em águas naturais, a presença de turbidez pode favorecer a formação de flocos, reduzindo a regeneração de Fe(II), uma vez que o Fe(III) estaria indisponível nos flocos formados. Esse efeito é mais intenso para as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  menores e, conseqüentemente, com maiores doses de Fe(II). Apesar do efeito negativo na diminuição da regeneração de Fe(II), a coagulação e floculação podem ajudar na eficiência global do processo, já que também ocorre a redução da quantidade de matéria orgânica dissolvida. Umar *et al.* (2016) reportaram cerca de 30% de remoção de carbono orgânico dissolvido por coagulação com 500  $\mu\text{M}$  de sulfato de Fe(III) em pH 5. A remoção de matéria orgânica pode aumentar a eficiência de degradação do composto alvo, uma vez que reduz a competição pelos agentes oxidantes. Além disso, o composto alvo pode ainda adsorver e precipitar nos flocos formados.

Após a obtenção da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima de 0,4 para ambas as matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá, deu-se início a Fase 2, que teve o objetivo de avaliar o efeito das doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ .

### **5.3 FASE 2: EFEITO DAS DOSES DE $\text{H}_2\text{O}_2$ E Fe (II)**

#### **5.3.1 Matriz água ultrapura contendo metanol**

O efeito das doses dos reagentes Fenton na degradação de CYN foi avaliado para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima de 0,4 obtida nos experimentos da Fase 1. Para matriz água ultrapura contendo metanol, as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) foram de 0,4; 1,0 e 2,0 vezes as doses ótimas de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 62,5  $\mu\text{M}$  de Fe(II).

Os resultados dos ensaios para a avaliação do efeito das doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) são apresentados na Figura 5.18.

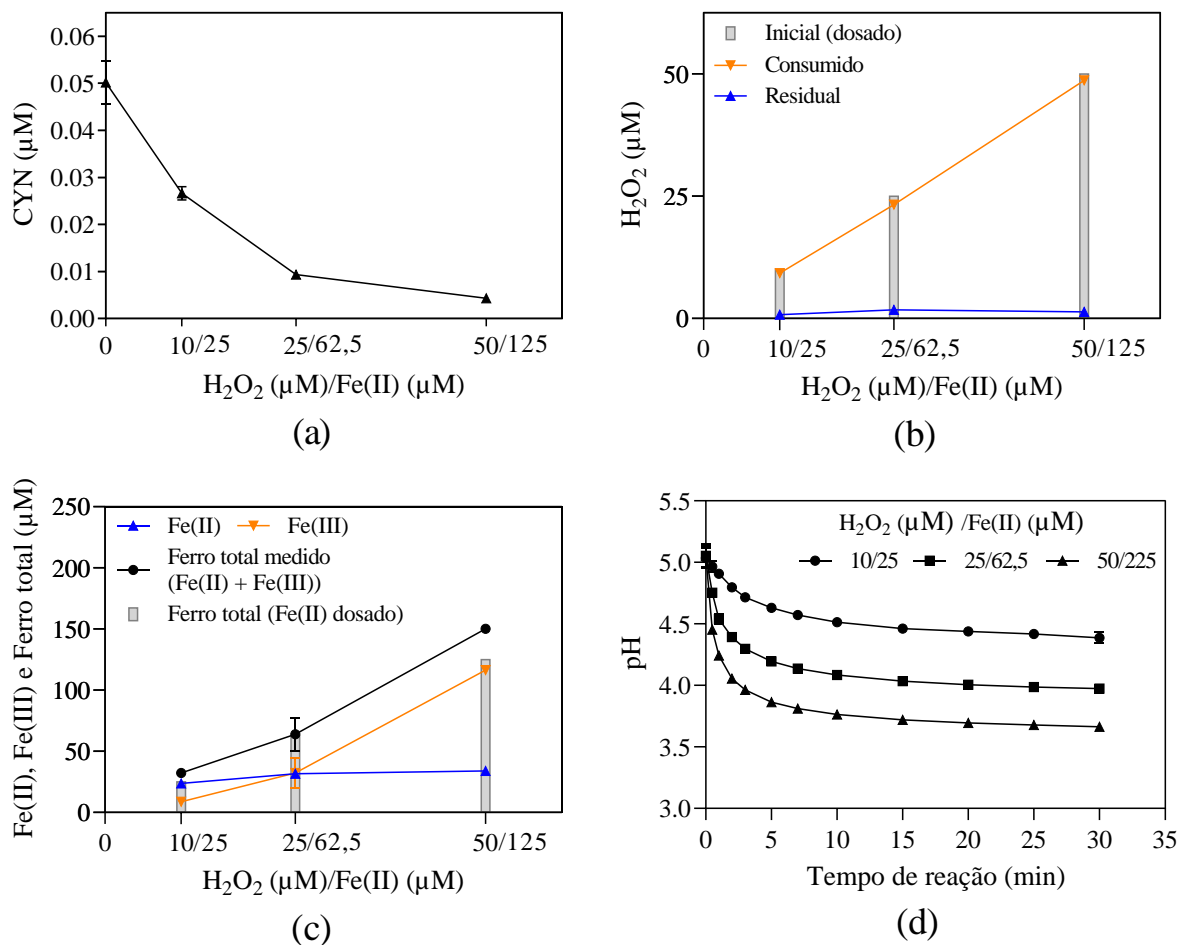


Figura 5.18 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II). Matriz água ultrapura contendo cerca de 513,3 μM de metanol, tempo de reação de 30 min e pH inicial ≈ 5.

As doses adequadas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) são um fator chave para o aumento da eficiência do processo Fenton. Nos testes controle (branco) realizados dosando-se separadamente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou Fe(II) em concentrações elevadas, 100 μM e 125 μM, respectivamente, a degradação de CYN foi inferior a 10%, comportamento similar ao reportado por Munoz *et al.* (2019) e Schneider *et al.* (2022). Por outro lado, quando usados conjuntamente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II), garantindo a reação Fenton, maior degradação de CYN pode ser obtida, mesmo em baixas doses. Como pode ser visto na Figura 5.18(a), a degradação de CYN foi de 47% com 10 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 25 μM de Fe(II), 81% com 25 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 62,5 μM de Fe(II), e 91% com 50 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 125 μM de Fe(II).

Esse comportamento sugere que, mesmo para uma relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) fixa, o aumento das doses dos reagentes Fenton acarretou aumento da atividade de sequestro de

radicais  $\cdot\text{OH}$ . Enquanto o residual relativo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  permaneceu aproximadamente constante, entre 3 e 8% (Figura 5.18 (b)), o residual relativo de Fe(II) diminuiu, em função da oxidação do Fe(II) a Fe(III) pelo radical  $\cdot\text{OH}$  (Equação 3.7), de 73% para 22% quando a dose de Fe(II) aumentou de 25 para 125  $\mu\text{M}$  (Figura 5.18(c)).

A diminuição da taxa de crescimento de degradação de CYN com o aumento das doses dos reagentes Fenton explica por que o aumento de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 62,5  $\mu\text{M}$  de Fe(II) para 50  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 125  $\mu\text{M}$  de Fe(II) resultou em um aumento de apenas 10% na degradação de CYN, sugerindo uma tendência assintótica. Essa tendência não linear entre a degradação de CYN e a dose dos reagentes Fenton indica que a degradação do CYN pelo processo Fenton segue uma reação de ordem maior que zero, já que as diferentes doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) resultaram em diferentes valores residuais de CYN após 30 minutos de reação (Figura 18(a)).

Resultados similares foram relatados por Schneider *et al.* (2022), que avaliaram a oxidação de CYN em água ultrapura com pH inicial 4,3 pelo processo Fenton (0,72  $\mu\text{M}$  de CYN, relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,5 e 60 min de reação). Os autores obtiveram 50% de degradação de CYN com 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 20  $\mu\text{M}$  de Fe(II), 82% com 20  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 40  $\mu\text{M}$  de Fe(II) e 97% com 40  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 80  $\mu\text{M}$  de Fe(II).

Comportamento similar também foi reportado por Park *et al.* (2017), que analisaram a degradação de MC-LR pelo Processo Fenton. Os autores observaram que o aumento das concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II), mantendo-se fixa a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ , resultou no aumento da eficiência de degradação até um determinado valor a partir do qual qualquer aumento na eficiência de degradação pareceu ser insignificante.

Como já mencionado, o aumento da dose de Fe(II) resultou na redução do valor do pH final da solução (Figura 5.18(d)) e, apesar do efeito positivo das altas doses de Fe(II) na diminuição do pH final de oxidação, o efeito negativo de sequestro dos radicais  $\cdot\text{OH}$  parece ser mais significativo.

### 5.3.2 Matriz água do Lago Paranoá contendo metanol

Já com relação a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, o efeito das doses dos reagentes Fenton na degradação de CYN foi avaliado com doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) de 0,3;

0,7; 1,0 e 1,3 vez as doses ótimas de 75  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  e 187,5  $\mu\text{M}$   $\text{Fe(II)}$ , obtidas com a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 nos experimentos descritos no item 5.2.4. Os resultados desses ensaios são apresentados na Figura 5.19.

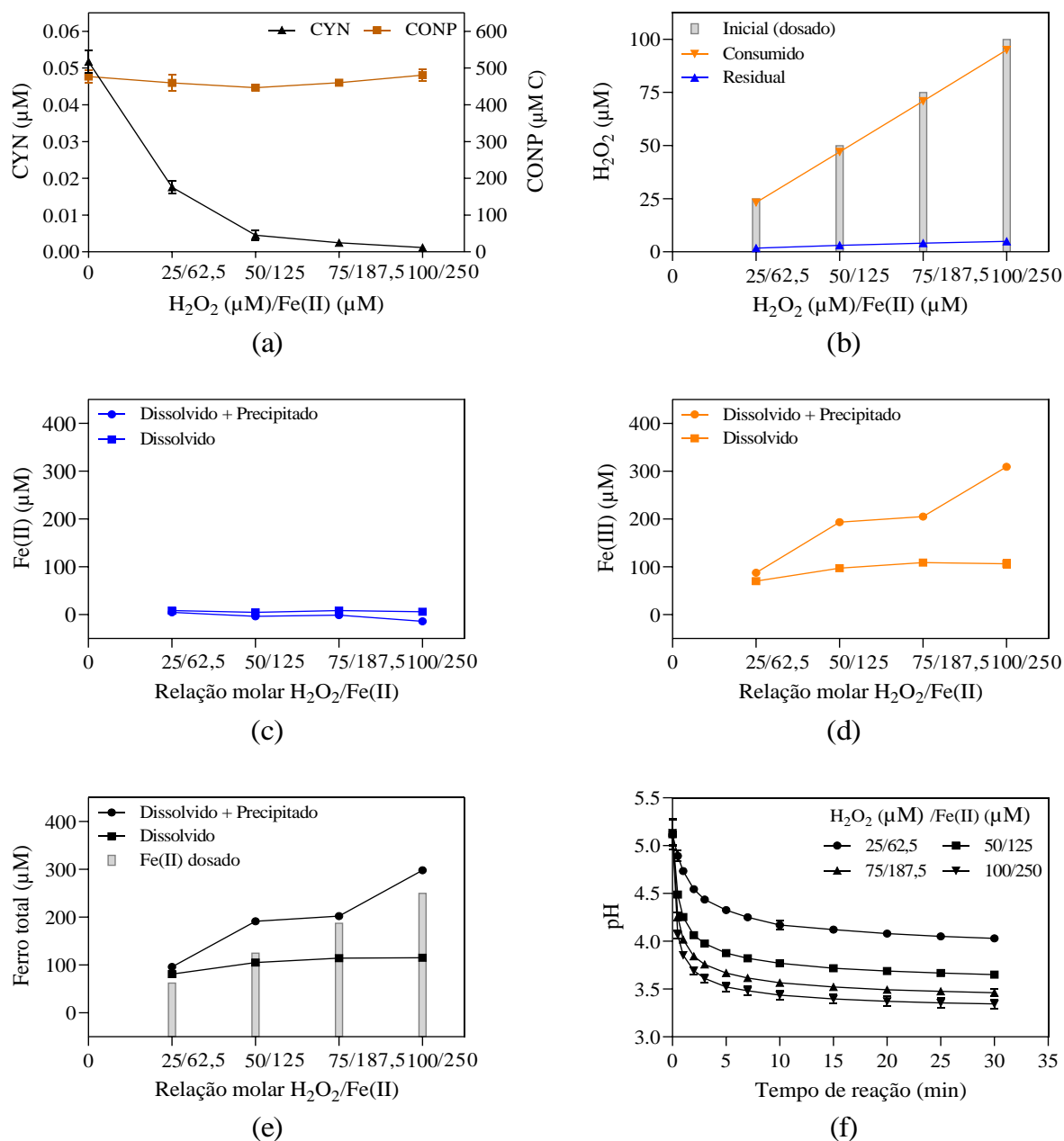


Figura 5.19 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , (c)  $\text{Fe(II)}$ , (d)  $\text{Fe(III)}$ , (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$ , mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água do Lago Paranoá contendo cerca de 513,3  $\mu\text{M}$  de metanol, Tempo de reação de 30 min e pH inicial  $\approx 5$ .

Observa-se na Figura 5.19(a) que a degradação do CYN em matriz água do Lago Paranoá foi de 66 % com 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 62,5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ , 91% com 50  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 125  $\mu\text{M}$

de Fe(II), 95% com 75  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 187,5  $\mu\text{M}$  de Fe(II) e 98% com 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 250  $\mu\text{M}$  de Fe(II).

Nota-se nos experimentos realizados em matriz água do Lago Paranoá, assim como nos experimentos realizados em matriz água ultrapura, que o aumento das concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II), mantendo-se fixa a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ , resulta no aumento da eficiência de degradação até um determinado valor a partir do qual o acréscimo de eficiência de degradação é muito pequeno, independentemente das doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) utilizadas. Como pode ser visto na Figura 5.19(a), o aumento das concentrações de 50  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 125  $\mu\text{M}$  de Fe(II) para 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 250  $\mu\text{M}$  de Fe(II) resultou no acréscimo de apenas 7 pontos percentuais na degradação de CYN.

Comparando-se as Figuras 5.18 e 5.19, observa-se que os valores de eficiência de degradação de CYN nas matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá foram respectivamente 81 % e 66 % para as concentrações de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 62,5  $\mu\text{M}$  de Fe(II), o que indica que a interferência da matéria orgânica natural presente na água do Lago Paranoá (CONP médio de 1,6 mg C/L ou 133,63  $\mu\text{M}$  C, Tabela 5.5) foi pouco significativa nestas condições.

Já para as doses de 50  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 125  $\mu\text{M}$  de Fe(II), as eficiências de degradação de CYN nas matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá foram ambas de cerca 91%. Como pode ser visto na Figura 5.19(e), o ferro total medido foi notavelmente superior ao Fe(II) dosado para as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 50  $\mu\text{M}$  e de Fe(II) de 125  $\mu\text{M}$ , o que pode ter aumentado o efeito de sequestro dos radicais  $\cdot\text{OH}$ , reduzindo a eficiência de degradação na matriz água do Lago Paranoá.

Apesar de o aumento sistemático da degradação de CYN com o aumento das doses dos reagentes Fenton, a redução da concentração de CONP não foi notável (Figura 5.19(a)). Como a solução estoque de CYN continha metanol, o CONP das matrizes enriquecidas era significativamente influenciado pelo metanol, mascarando as remoções de carbono orgânico na matriz água do Lago Paranoá. Dessa forma, novos experimentos foram conduzidos para avaliar a influência do metanol presente na solução estoque de CYN na eficiência de oxidação de CYN pelo processo Fenton.



#### 5.4 FASE 3: INFLUÊNCIA DO METANOL NA EFICIÊNCIA DE OXIDAÇÃO DE CYN

A solução estoque utilizada para enriquecer as matrizes no presente trabalho foi preparado a partir da dissolução de 0,5 mg de padrão de CYN em 1 mL de solução de água ultrapura e metanol (1:1). Dessa forma, ao se preparar uma água de estudo com concentração de 0,05  $\mu\text{M}$  de CYN a concentração de metanol nesta mesma água de estudo era de aproximadamente 513,3  $\mu\text{M}$ .

Como a concentração de metanol era de mais de 10.000 vezes a concentração de CYN na água de estudo, fez-se necessário investigar a hipótese de que a degradação de CYN sofreu interferência da presença de metanol.

Nesses ensaios, cujos resultados estão apresentados na Figura 5.20, duas doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foram testadas, 2,4 e 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , com valores de relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  variando de 0,2 a 3,4 a partir da variação da dose de Fe(II). A dose de 2,4  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  representa cerca de 98% do valor estequiométrico para a total mineralização de CYN, enquanto a dose de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi selecionada para permitir a comparação com os ensaios da Fase 1.

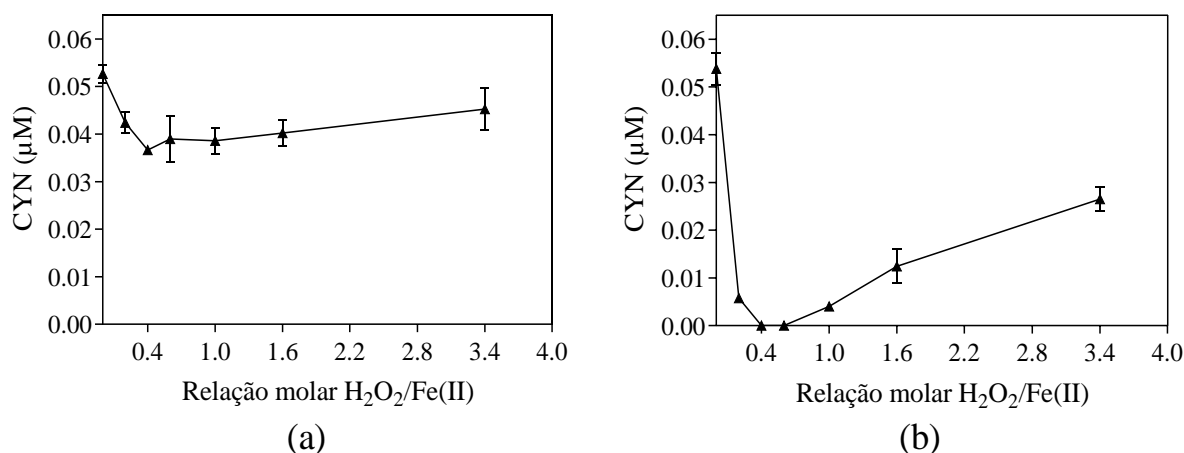


Figura 5.20 – Valores médios ( $n=2$ ) e desvio padrão da concentração residual de CYN em matriz água ultrapura sem metanol para as dose fixas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de (a) 2,4  $\mu\text{M}$  e (b) 25  $\mu\text{M}$ . Tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$  e doses de 0,7 a 125  $\mu\text{M}$  de Fe(II).

Nota-se na Figura 5.20 que, apesar de a dose de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ter promovido maior degradação, o efeito da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  na degradação de CYN foi semelhante nos dois grupos de ensaios conduzidos com doses de 2,4 e 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Nesses ensaios,

a eficiência de degradação de CYN foi maior para valores de relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  entre 0,4 e 0,6 e diminuiu sistematicamente quando a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  aumentou.

Como observado na Figura 5.20(a), mesmo na ausência de metanol na água de estudo, a maior degradação de CYN nos ensaios conduzidos com dose de  $2,4 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (cerca de 98% do valor estequiométrico para mineralização completa de CYN) foi de apenas 30% para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4. Quando a dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$  aumentou para  $25 \mu\text{M}$ , Figura 5.20(b), maiores eficiências de degradação de CYN, cerca de 100%, foram obtidas para as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 e 0,6. Esse comportamento confirma a região ótima de degradação de CYN observada nos ensaios da Fase 1 (contendo metanol) em torno da relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,5 – que é o valor estequiométrico para reação global de Fenton (Equação 3.11).

Em ensaios conduzidos em matriz água ultrapura contendo  $1.026,6 \mu\text{M}$  de metanol com valor de pH inicial 5, concentração inicial de  $0,1 \mu\text{M}$  de CYN e dose de  $2,1 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Figura 5.7), as degradações de CYN foram de 9% e 12 % para as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 1,0 e 1,6, respectivamente. Já nos experimentos apresentados na Figura 5.20(a) e conduzidos em matriz água ultrapura sem metanol com valor de pH inicial 5, concentração inicial de  $0,05 \mu\text{M}$  de CYN e dose de  $2,4 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , as degradações de CYN foram respectivamente de 27 e 24% para as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 1,0 e 1,6. Isso mostra que a presença de metanol, em concentração de  $1026,6 \mu\text{M}$ , apresentou pouca interferência na degradação de CYN nas condições avaliadas.

Para fins de comparação, na Figura 5.21 são apresentadas as concentrações relativas de CYN nos ensaios já apresentados e conduzidos em condições semelhantes de pH inicial, doses de CYN,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  com e sem metanol.

A partir da Figura 5.21, nota-se que, para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima de 0,4, a presença de  $513,3 \mu\text{M}$  de metanol resultou na redução da eficiência de degradação de CYN de cerca de 100% na água de estudo sem metanol para 84 e 99% na água de estudo com metanol.

A diminuição da eficiência de oxidação de CYN causada pela presença de  $513,3 \mu\text{M}$  de metanol foi maior para as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  mais elevadas ( $\geq 1,0$ ), com redução

máxima de eficiência de degradação de CYN de 77% para 23% para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 1,6. Isso sugere que o efeito do metanol na degradação de CYN parece ser mais intenso para relações molares maiores devido à menor produção de radicais  $\cdot\text{OH}$  em função das menores doses de  $\text{Fe(II)}$ .

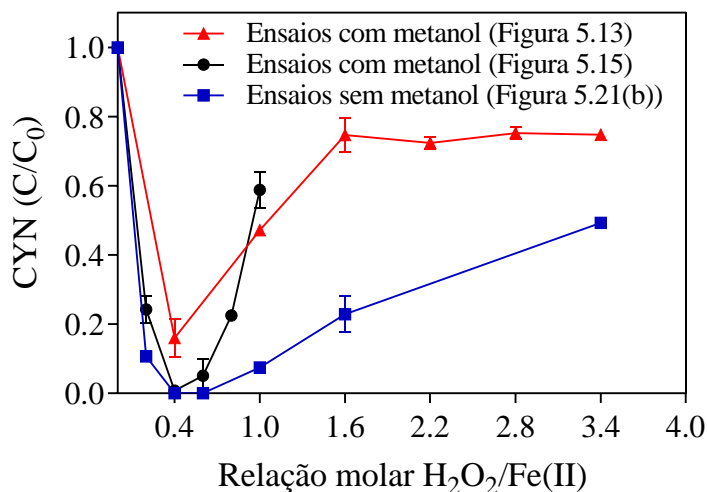


Figura 5.21 – Valores médios ( $n \geq 2$ ) e desvio padrão da concentração relativa ( $C/C_0$ ) de CYN em matrizes água ultrapura sem e com metanol. Tempo de reação 30 min, pH 5, concentração de  $0,05 \mu\text{M}$  de CYN e doses de  $25 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $7,4$  a  $125 \mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

A CYN possui maior reatividade com o radical  $\cdot\text{OH}$  ( $5,1$  a  $5,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Onstad *et al.*, 2007; Song *et al.*, 2012)) do que o radical  $\cdot\text{OH}$  com o metanol ( $5,7$  a  $6,4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Overend e Paraskevopoulo, 1978; Hess e Tully, 1989)) e essa diferença de reatividade pode explicar, até certo ponto, porque apesar da grande diferença das concentrações o efeito do metanol pode ser considerado baixo.

Apesar de ambas as relações molares  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de  $0,4$  e  $0,6$  terem promovido cerca de 100% de degradação de CYN (Figura 5.20(b)), a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de  $0,4$  foi adotada como ótima para permitir comparação e foi utilizada nos ensaios conduzidos para avaliar o efeito das doses dos reagentes Fenton na degradação de CYN, sem metanol.

Na Figura 5.22 é apresentado o efeito das doses dos reagentes Fenton na degradação de CYN em matriz água ultrapura sem metanol, com as concentrações iniciais de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  de  $0,4$ ;  $1,0$  e  $2,0$  vezes as concentrações ótimas de  $25 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $62,5 \mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

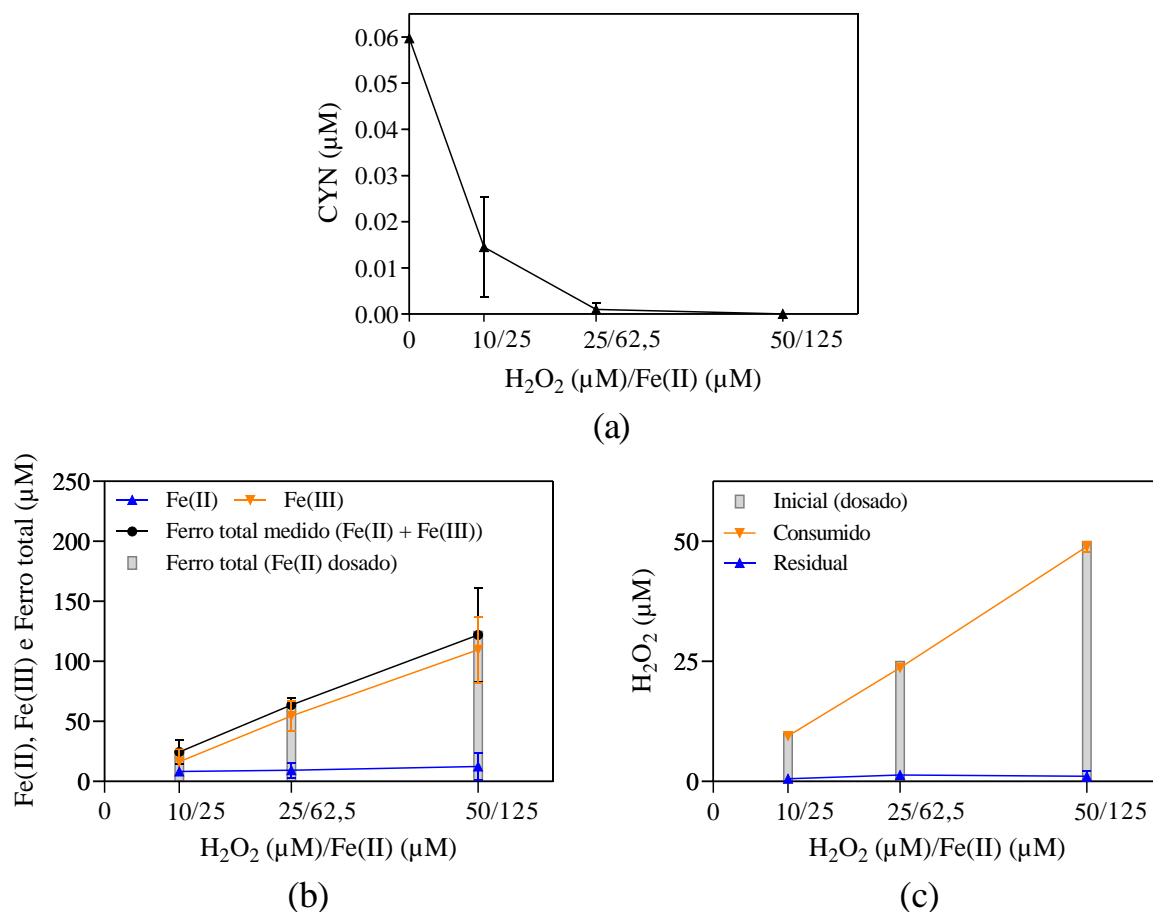


Figura 5.22 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b)  $H_2O_2$ , e (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total para diferentes doses de  $H_2O_2$  e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura sem metanol, tempo de reação de 30 min e pH inicial  $\approx 5$ .

Como pode ser observado na Figura 5.22(a), a degradação do CYN foi de 76% com 10  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 25  $\mu M$  de Fe(II), 98% com 25  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 62,5  $\mu M$  de Fe(II), e aproximadamente 100% com 50  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 125  $\mu M$  de Fe(II). Ao se comparar os resultados apresentados na Figura 5.22 com aqueles apresentados na Figura 5.18, com relação à degradação de CYN, nota-se que a presença de 513,3  $\mu M$  de metanol na água de estudo resultou na redução da eficiência de degradação de CYN entre 9% e 29%, sendo a maior diferença observada na menor dose de 10  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 25  $\mu M$  de Fe(II).

Ainda comparando-se as Figuras 5.22 e 5.18, porém já com relação às concentrações residuais de reagentes Fenton, observa-se que o residual de  $H_2O_2$  em ambos os grupos de experimentos (com e sem metanol) foi aproximadamente constante e em torno de 1  $\mu M$ , enquanto o residual de Fe(II) foi menor nos experimentos conduzidos na presença de

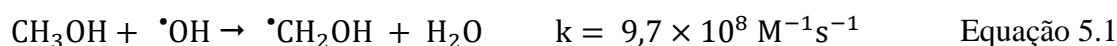
metanol (entre 8 e 12  $\mu\text{M}$  de Fe(II)) quando comparado com os experimentos conduzidos sem a interferência do metanol (entre 24 e 34  $\mu\text{M}$  de Fe(II)).

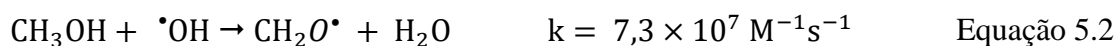
Esse comportamento pode ser atribuído às interações entre o radical  $\cdot\text{OH}$ , o metanol e os reagentes Fenton. O radical  $\cdot\text{OH}$  possui maior reatividade com o metanol ( $5,7$  a  $6,4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Overend e Paraskevopoulo, 1978; Hess e Tully, 1989)) em comparação com o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o Fe(II),  $3,3 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  e  $3,2 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Buxton *et al.*, 1988), respectivamente. Dessa forma, o excesso de metanol, além de competir com a CYN, pode competir também com os reagentes Fenton pelo radical  $\cdot\text{OH}$ , evitando o consumo de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o que pode promover o aumento da geração de radicais  $\cdot\text{OH}$ . Além disso, o menor consumo de Fe(II) pelo radical  $\cdot\text{OH}$  (Equação 3.7) gera menos  $\text{OH}^-$ , promovendo menor precipitação de Fe(III) e menor impacto no valor do pH de oxidação, que apresenta valores ótimos entre 3 e 4.

Dessa forma, apesar da competição entre o metanol e CYN nas reações com o radical  $\cdot\text{OH}$ , a redução da eficiência de remoção de CYN causada pela presença de metanol na água de estudo não foi expressiva. Nas condições analisadas, o metanol pode ter evitado o consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II) pelo radical  $\cdot\text{OH}$  e, conseqüentemente, contribuído para o aumento a produção deste radical. Além disso, pode ter minimizado o efeito negativo da elevação do valor do pH da solução devido à redução da geração de  $\text{OH}^-$  na oxidação de Fe(II) pelo radical  $\cdot\text{OH}$ .

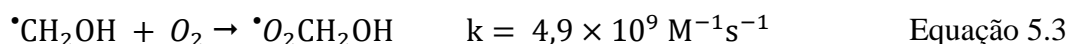
Como já comentado, o metanol interferiu também nas análises de carbono orgânico. Apesar da degradação de CYN e do consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que indica a produção de agentes oxidantes, não foram detectadas degradações consideráveis de carbono orgânico, medido como CONP (Figuras 5.17 e 5.19).

Segundo Gonzalez *et al.* (2004), a degradação de metanol pelo radical  $\cdot\text{OH}$  se dá inicialmente pela abstração de hidrogênio, podendo gerar dois produtos distintos (Equações 5.1 e 5.2).

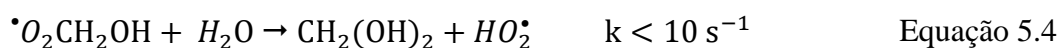




Em comparação com a Equação 5.2, a Equação 5.1 é predominante, uma vez que apresenta maior constante da taxa de reação. Na presença de oxigênio, o radical  $\cdot\text{CH}_2\text{OH}$  produzido na Equação 5.1 rapidamente reage com o oxigênio dissolvido na água de estudo (Equação 5.3).



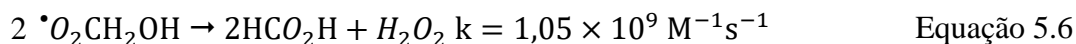
Posteriormente, a partir do radical  $\cdot\text{O}_2\text{CH}_2\text{OH}$  formado na Equação 5.3, ocorre a produção de formaldeído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) ou de formaldeído monohidratado ( $\text{CH}_2(\text{OH})_2$ ), Equação 5.4.



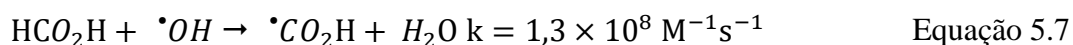
O formaldeído monohidratado ( $\text{CH}_2(\text{OH})_2$ ) pode atuar no sequestro dos radicais  $\cdot\text{OH}$  (Equação 5.5), produzindo o radical  $\cdot\text{CH}(\text{OH})_2$ .



Além disso, como apresentado na Equação 5.6, o radical  $\cdot\text{O}_2\text{CH}_2\text{OH}$  formado (Equação 5.3) pode produzir o ácido fórmico ( $\text{HCO}_2\text{H}$ ).



O  $\text{HCO}_2\text{H}$  pode ser mineralizado a partir da abstração de hidrogênio pelo radical  $\cdot\text{OH}$  (Equação 5.7) seguido pela oxidação por oxigênio dissolvido (Equação 5.8).



Analisando-se as Equações 5.1 a 5.8, nota-se que a mineralização do metanol é um processo complexo, que depende também da presença de oxigênio dissolvido na água de estudo. Ressalta-se que, apesar de a água de estudo estar sob agitação magnética e ocorrer a aeração por trocas atmosféricas, a água de estudo não está saturada e o oxigênio dissolvido pode ser um limitante para a mineralização do metanol. É importante ressaltar também que os radicais formados na degradação do metanol podem reagir com o radical  $\cdot\text{OH}$ , acelerando o processo de mineralização do metanol.

Além disso, vale ressaltar que para a degradação completa de 513,3  $\mu\text{M}$  de metanol presente na água de estudo seriam necessários cerca de 3080  $\mu\text{M}$  do radical  $\cdot\text{OH}$ , sendo que a concentração máxima teórica do radical  $\cdot\text{OH}$ , assumindo completa conversão de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para o radical  $\cdot\text{OH}$ , ou seja, 1 mol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  produzindo 1 mol radical  $\cdot\text{OH}$  (Equação 3.4), era de 100  $\mu\text{M}$  (maior dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$  utilizada). Desta forma, as próprias concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e metanol podem explicar o fato de que reduções notáveis de CONP não foram observadas, já que a concentração máxima teórica do radical  $\cdot\text{OH}$  é pelo menos 30 vezes menor que a concentração necessária para mineralização completa do metanol na água de estudo.

#### **5.5 FASE 4: EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE CYN**

O efeito das concentrações iniciais de 0,05, 0,1 e 0,2  $\mu\text{M}$  de CYN (cerca de 20,8, 41,5 e 83,1  $\mu\text{g/L}$  de CYN, respectivamente) sob a eficiência de degradação foi avaliado para a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  ótima de 0,4, com as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  para cada matriz obtidas na Fase 1.

Para a matriz água ultrapura contendo metanol, as doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  foram respectivamente de 25  $\mu\text{M}$  e 62,5  $\mu\text{M}$ . Já para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, foram utilizadas as doses de 75  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 187,5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

Nas Figuras 5.23 e 5.24 são apresentadas, para diferentes concentrações iniciais de CYN, a concentração relativa ( $C/C_0$ ) de CYN, as concentrações residuais de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Fe(II)}$ ,  $\text{Fe(III)}$  e ferro total, e o desenvolvimento do pH de oxidação em matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol, respectivamente.

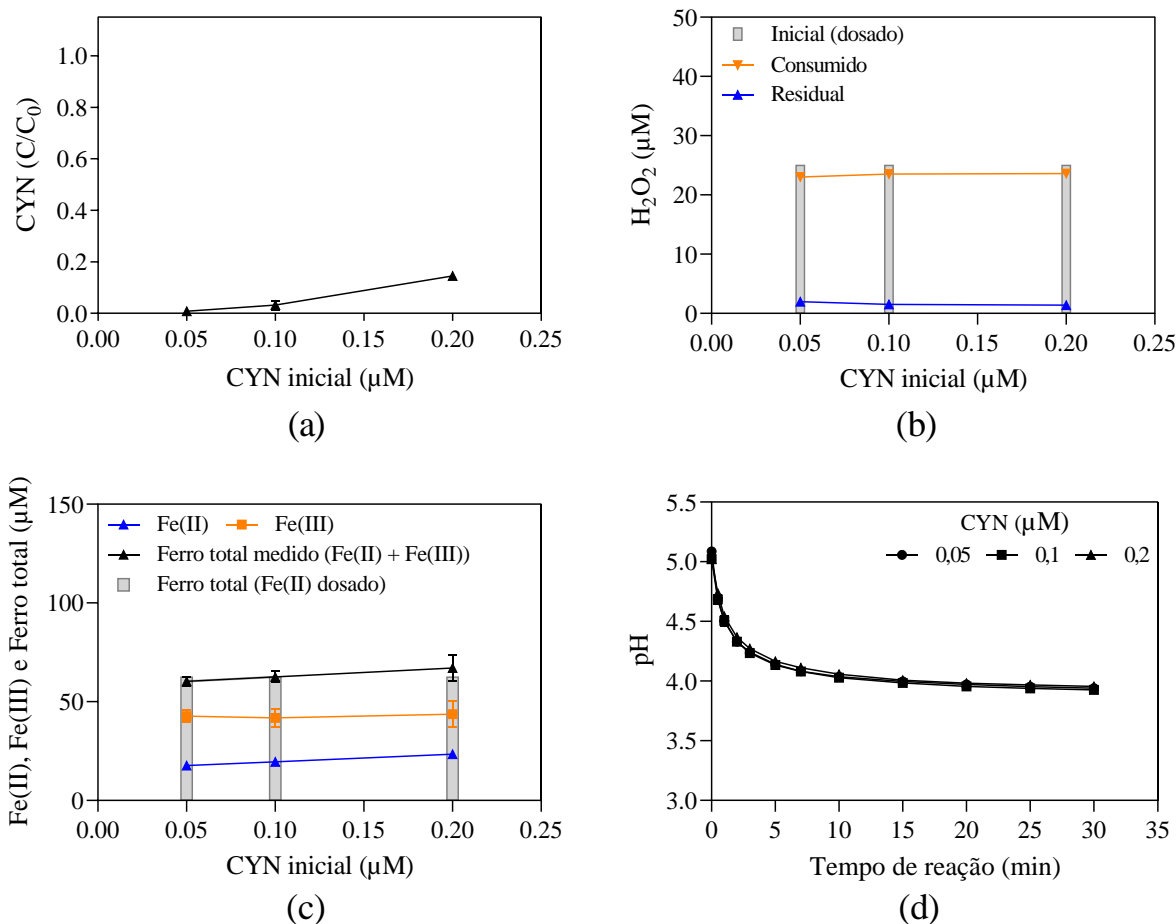


Figura 5.23 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, e (c) Fe(II), Fe(III) e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes concentrações iniciais de CYN, mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II). Matriz água ultrapura contendo metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial ≈ 5, dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 25 µM e dose de Fe(II) de 62,5 µM.

A partir das Figuras 5.23(a) e 5.24(a), nota-se que o efeito da concentração inicial de CYN na eficiência de oxidação foi similar nas duas matrizes água ultrapura e água do Lago Paranoá, as duas matrizes contendo metanol. Para as duas matrizes avaliadas, a eficiência de degradação diminuiu à medida que a concentração inicial de CYN aumentou.

Quando as concentrações iniciais de CYN foram 0,05, 0,1 e 0,2 µM, as eficiências de degradação de CYN foram 99%, 97% e 86% para matriz água do ultrapura contendo metanol e 94%, 91% e 85% para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, respectivamente. Entretanto, deve-se ressaltar que apesar do aumento da concentração inicial de CYN de 0,05 para 0,2 µM, houve pouca redução da eficiência de degradação de CYN (entre 9 e 13 pontos percentuais), o que pode estar relacionado ao excesso dos reagentes Fenton.



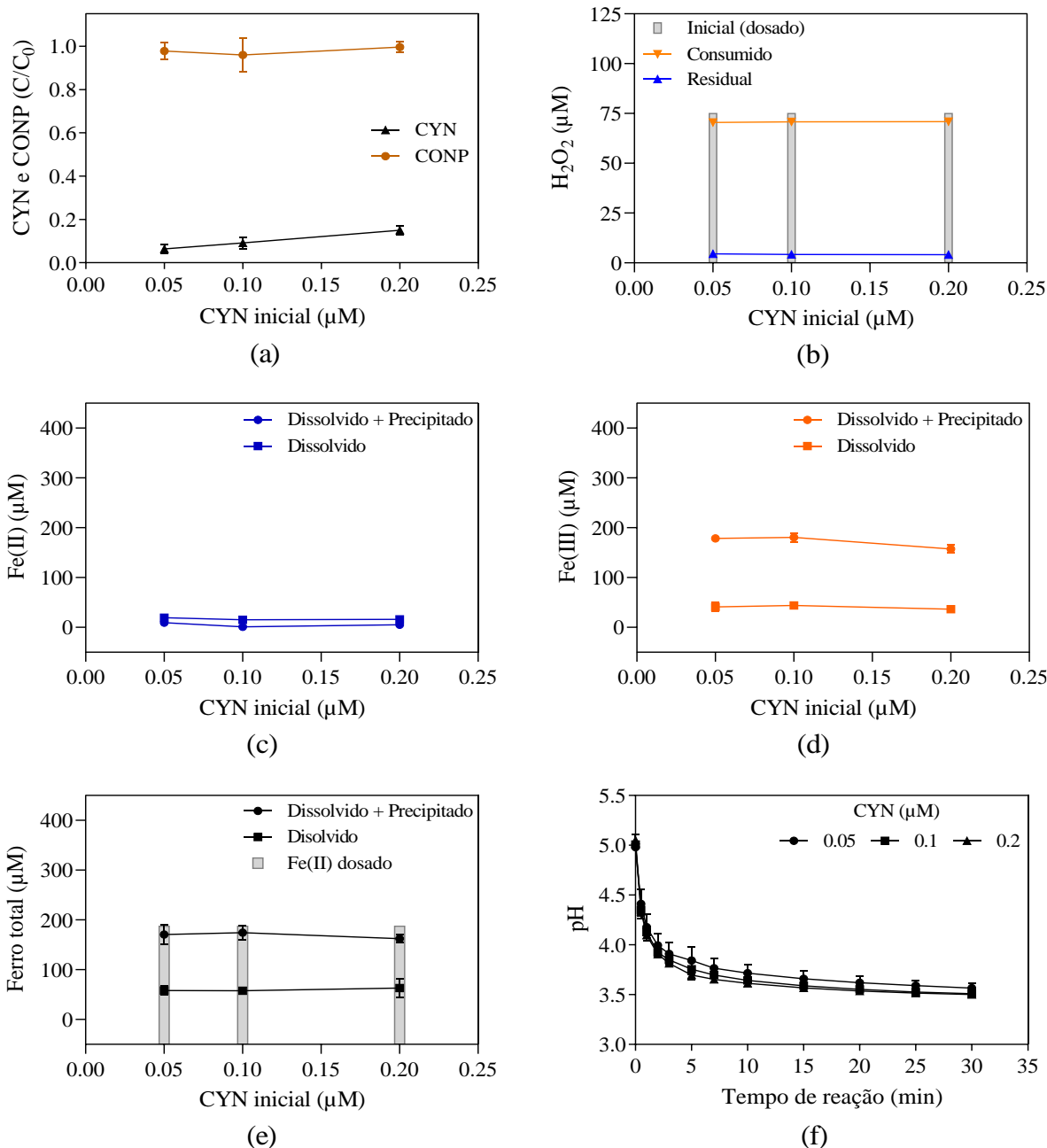


Figura 5.24 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , e (c) Fe(II), (d) Fe(III), (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes concentrações iniciais de CYN, mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ . Matriz água do Lago Paranoá metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , dose de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 75  $\mu\text{M}$  e dose de Fe(II) de 187,5  $\mu\text{M}$ .

Comportamento similar foi reportado por Park et al. (2017), que aplicaram o processo Fenton para degradação de MC-LR em água ultrapura com pH inicial de 5,2 e utilizando 147  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 90  $\mu\text{M}$  de Fe(II). Nessas condições, os autores obtiveram remoções de 92%, 80% e 77% quando as concentrações iniciais de MC-LR foram respectivamente de 0,002, 0,020  $\mu\text{M}$  e 0,200  $\mu\text{M}$  de MC-LR. Al Momani *et al.* (2008) também obtiveram resultados análogos

quanto à degradação de MC-LR pelo processo Fenton (0,15  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 0,90  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ ), com cerca de 75% de degradação de MC-LR quando em concentração inicial de 1  $\mu\text{M}$  e de 97% quando em concentração inicial de 0,5  $\mu\text{M}$ .

Para uma mesma matriz, água ultrapura contendo metanol ou água do Lago Paranoá contendo metanol, a mudança na concentração inicial de CYN não resultou em variações consideráveis nos residuais de  $\text{H}_2\text{O}_2$  quando de  $\text{Fe(II)}$ , como observado nas Figuras 5.23 e 5.24. Tal fato já era esperado, uma vez que não houve mudanças na relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  e principalmente no valor de pH inicial da solução, que desempenha um papel importante na eficiência do processo Fenton, seja pela precipitação de  $\text{Fe(III)}$  ou pela decomposição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Entretendo, comparando-se as matrizes avaliadas, nota-se que o residual de  $\text{Fe(II)}$  foi inferior na matriz água do Lago Paranoá contendo metanol e tal fato pode estar associado com o aumento do sequestro de radicais  $\cdot\text{OH}$  pelo  $\text{Fe(II)}$  causado pelo aumento das doses dos reagentes Fenton nesta matriz.

É importante ressaltar ainda que o aumento da concentração inicial de CYN resultou no aumento da concentração de metanol presente na água de estudo. Quando as concentrações iniciais de CYN foram 0,05, 0,1 e 0,2  $\mu\text{M}$ , as concentrações resultantes de metanol na água de estudo foram respectivamente 513,3, 1026,6 e 2053,2  $\mu\text{M}$ . O fato de a eficiência de degradação de CYN ter apresentado redução máxima de 13 pontos percentuais quando a concentração de metanol na água de estudo aumentou de 513,3 para 2053,2  $\mu\text{M}$  mostra que a interferência do metanol na degradação de CYN foi baixa, como já discutido no item 5.4. A baixa interferência do metanol na degradação de CYN fica evidente ao se comparar ensaios conduzidos nas mesmas condições (0,05  $\mu\text{M}$  de CYN, 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 62,5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ , pH inicial 5 e 30 min de reação) em matrizes água ultrapura sem metanol (Figura 5.22(a)) e água ultrapura contendo metanol (Figura 5.23(a)), nos quais observa-se que não houve diferença considerável na degradação de CYN, que foi entre 98 e 99% para as duas matrizes.

Já com relação à possível aplicação em escala real do processo Fenton para degradação de CYN, o fato de o aumento da concentração inicial da toxina não impactar de forma notável a degradação é importante, já que indica um efeito de amortecimento de variações na concentração de CYN na água a ser tratada.

## 5.6 FASE 5: EFEITO DO pH INICIAL

Outro fator importante no processo Fenton é o pH de oxidação. Como o pH variou durante o processo de oxidação (não foram usadas soluções tampão), a eficiência de oxidação de CYN foi avaliada para os valores de pH inicial 3, 4, 5, 7 e 9, com relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima de 0,4 obtida na Fase 1. Para a matriz água ultrapura contendo metanol, as doses de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$  foram respectivamente de 25  $\mu M$  e 62,5  $\mu M$ . Já para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, foram utilizadas as doses de 75  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 187,5  $\mu M$  de  $Fe(II)$ .

Nas Figuras 5.25 e 5.26 são apresentadas para cada valor de pH inicial as concentrações residuais de CYN, CONP,  $H_2O_2$ ,  $Fe(II)$ ,  $Fe(III)$  e ferro total, e o desenvolvimento do pH de oxidação em matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol, respectivamente.

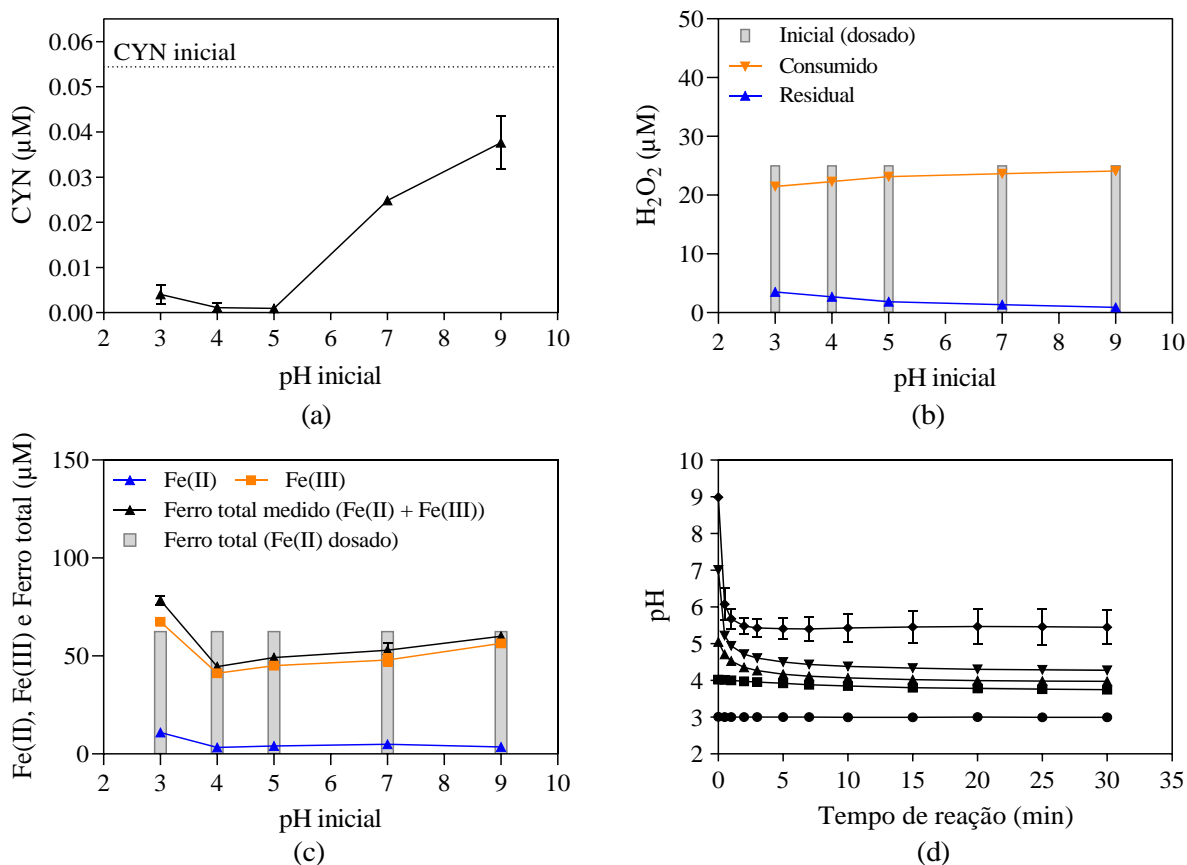


Figura 5.25 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN, (b)  $H_2O_2$ , e (c)  $Fe(II)$ ,  $Fe(III)$  e ferro total, e (d) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes valores de pH inicial, mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$ . Matriz água ultrapura contendo metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , dose de  $H_2O_2$  de 25  $\mu M$  e dose de  $Fe(II)$  de 62,5  $\mu M$ .

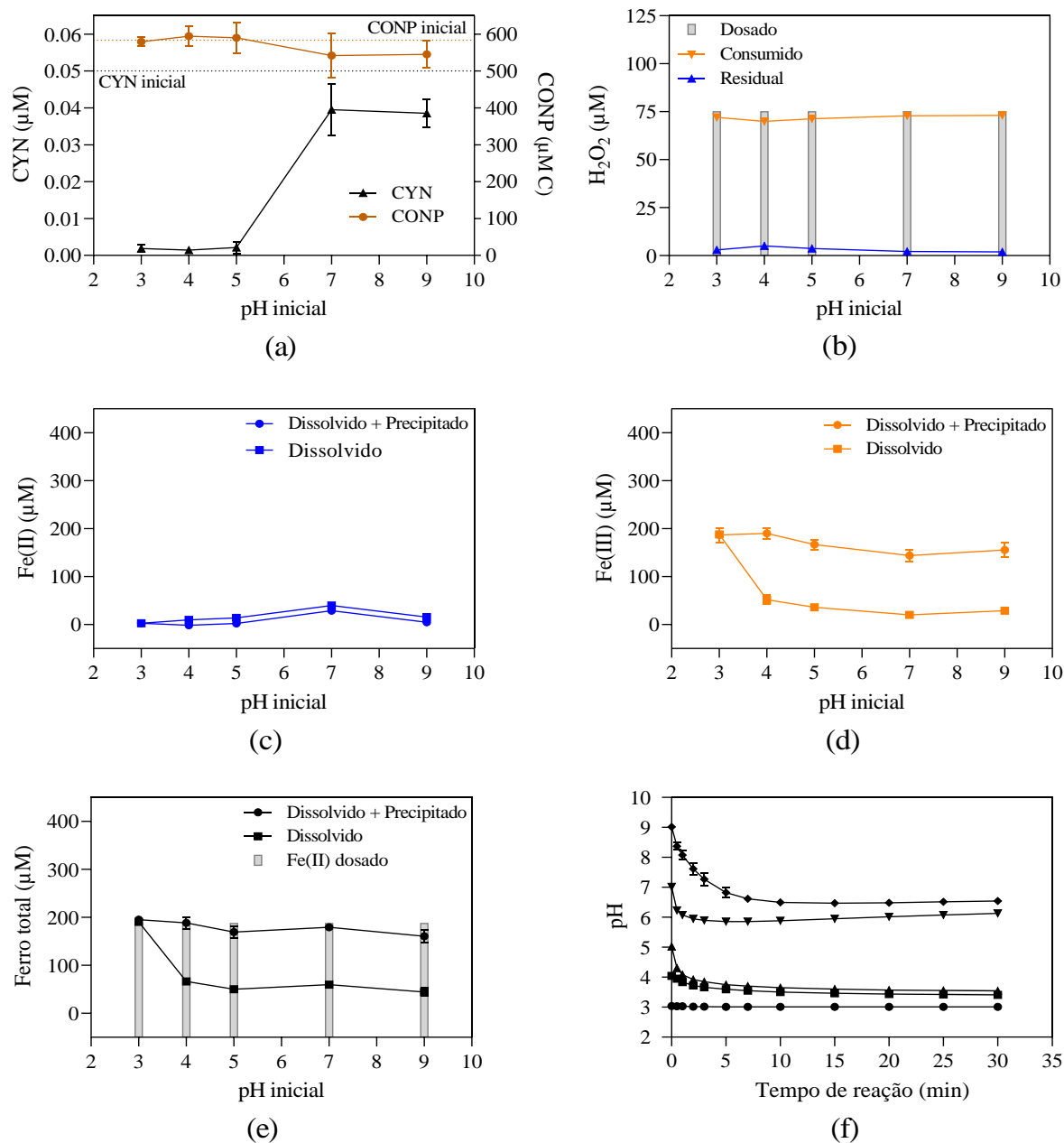


Figura 5.26 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, e (c) Fe(II), (d) Fe(III), (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes valores iniciais de pH, mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II). Matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, tempo de reação de 30 min, pH inicial  $\approx 5$ , dose de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 75  $\mu\text{M}$  e dose de Fe(II) de 187,5  $\mu\text{M}$ .

Ao se comparar as Figuras 5.25 e 5.26, nota-se que o efeito do pH inicial na degradação de CYN foi semelhante nas matrizes água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá contendo metanol. A partir da Figura 5.25(a), observa-se que as eficiências de degradação de CYN em matriz água ultrapura contendo metanol foram de 93%, 98%, 98%, 54% e 31%, quando o valor de pH inicial foi de 3, 4, 5, 7 e 9, respectivamente. Já para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, as eficiências de degradação de CYN foram de 96%, 97%,

96%, 21% e 21%, quando o valor de pH inicial foi respectivamente de 3, 4, 5, 7 e 9 (Figura 5.26(a)). Para as duas matrizes avaliadas, as maiores eficiências de degradação de CYN, entre 97 e 98%, foram obtidas para o valor de pH inicial 4.

Entretanto, apesar de haver o consenso de que valores de pH entre 3 e 4 são ótimos para o processo Fenton (Pignatello *et al.*, 2006; Tekin *et al.*, 2006; Zhong *et al.*, 2009), a degradação de CYN obtida para o valor de pH inicial 3 foi ligeiramente inferior às degradações obtidas para os valores de pH 4 e 5 em matriz água ultrapura contendo metanol (Figura 5.25(a)). Tal fato pode ter sido causado pelo excesso de Fe(II), uma vez que o ferro total medido foi notavelmente superior ao Fe(II) dosado, o que pode ter aumentado o sequestro do radical  $\cdot\text{OH}$ , reduzindo a eficiência de oxidação de CYN.

Após o início das reações de Fenton, o valor de pH da solução caiu de forma rápida, se estabilizando após cerca de 5 min de reação. Como não há capacidade de tamponamento na matriz água ultrapura contendo metanol e não foram utilizadas soluções tampões, após 30 min de reação, o valor de pH caiu de 9 para 5,4, de 7,0 para 4,3, de 5,1 para 4,0, de 4,0 para 3,7 e não houve variação quando o valor de pH inicial foi 3. Como a presença de alcalinidade na matriz água do Lago Paranoá contendo metanol (28,8 mg/L de  $\text{CaCO}_3$ ) pode atuar como tampão, observa-se na Figura 5.26(f), que os valores de pH final foram maiores, em comparação com a matriz água ultrapura contendo metanol, quando o pH inicial foi 7 e 9. Após 30 min de reação, o pH caiu de 9 para 6,5, de 7,0 para 6,1, de 5,0 para 3,5, de 4,0 para 3,4 e não houve variação quando o pH inicial foi 3.

Para as duas matrizes avaliadas, o fato de o pH final da solução ter se mantido na faixa ótima de pH entre 3 e 4 quando o pH inicial foi 3, 4, e 5, justifica a proximidade das eficiências de degradações de CYN observadas. Já para os valores de pH inicial de 7 e de 9, as menores degradações de CYN podem ser atribuídas ao aumento da precipitação de Fe(III), que segundo Laat e Gallard (1999) ocorre em valores de pH maiores que 3,2. A decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  em condições alcalinas também pode ter contribuído para a redução da eficiência de degradação de CYN obtidas para valores de pH inicial de 7 e de 9 (Rivas *et al.*, 2003; Jung *et al.*, 2009).

Comparando-se as diferenças de degradação de CYN para valores de pH inicial de 7 e de 9 em matrizes água ultrapura contendo metanol (entre 31% e 54%) e água do Lago Paranoá

contendo metanol (21%), a menor oxidação de CYN em matriz água do Lago Paranoá pode ser resultado não somente da decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  na presença de alcalinidade associada ao menor desempenho do processo Fenton em pH acima de 4, mas também pela presença na água natural de carbonato e bicarbonato, que podem atuar no sequestro do radical  $\cdot\text{OH}$  (Brezonik e Fulkerson-Brekken, 1998; Mehrvar *et al.*, 2002; Kang *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2018).

Efeito similar foi reportado por Schneider *et al.* (2022), que avaliaram a degradação de CYN em água ultrapura pelo processo Fenton (concentrações de  $0,72\ \mu\text{M}$  de CYN,  $10\ \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $20\ \mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$  e 60 min de reação) e relataram degradações de CYN de cerca de 12%, 58%, 50% e 2% para os respectivos valores de pH inicial 3,0; 4,3; 5,6; e 11,0. Com relação à degradação de MC-LR em água ultrapura pelo processo Fenton ( $0,2\ \mu\text{M}$  de MC-LR,  $147\ \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $90\ \mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$  e 5 min de reação), Park *et al.* (2017) obtiveram eficiências de degradação de MC-LR de cerca de 77%, 68%, 54% e 10%, quando o pH inicial foi 3, 5, 7 e 9, respectivamente. Zhong *et al.* (2009) também obtiveram resultados semelhantes para o efeito do pH inicial (2,02 a 6,84) na degradação de MC-RR em água ultrapura no processo Fenton com concentrações iniciais de MC-RR de  $1,45\ \text{mg/L}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  de  $1,5\ \text{mM}$  e  $\text{Fe(II)}$  de  $0,1\ \text{mM}$ . Os autores obtiveram a máxima degradação de 97% para o pH 3,01, porém ressalta-se ainda que o aumento do pH de 3,01 para 5,12 resultou na redução da eficiência de oxidação de 97 para 94%.

A partir da Figura 5.26(d) pode-se afirmar que a precipitação de  $\text{Fe(III)}$  possui pouco impacto na eficiência de degradação de CYN em matriz água do Lago Paranoá contendo metanol. Para o pH inicial 3 não foi detectada precipitação de  $\text{Fe(III)}$ , como esperado. Entretanto, observa-se ainda na Figura 5.26(d) que a precipitação de  $\text{Fe(III)}$  se manteve aproximadamente constante (entre  $124$  e  $139\ \mu\text{M}$  de  $\text{Fe(III)}$  precipitado) para os valores de pH entre 4 e 9.

Ao se comparar a eficiência de oxidação de CYN em matriz água do Lago Paranoá contendo metanol (Figura 5.26(a)) para o pH inicial 3 com as eficiências de degradação para os valores de pH inicial 4 e 5, nota-se que a precipitação de  $\text{Fe(III)}$  não teve influência significativa no processo, já que a degradação de CYN foi similar (entre 96% e 97%) para os valores de pH inicial 3, 4 e 5.

A precipitação de Fe(III) não prejudicou de forma significativa o processo Fenton nas condições analisadas possivelmente em função da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima de 0,4 utilizada, já que o excesso de Fe(II) em relação ao  $H_2O_2$  dispensa a necessidade de Fe(III) dissolvido para regeneração de Fe(II).

Por outro lado, ressalta-se ainda que precipitação de Fe(III) em matriz água natural contendo turbidez pode favorecer a remoção por coagulação/floculação de matéria orgânica natural dissolvida, aumentando a disponibilidade de radicais  $\cdot OH$  para reagirem com a CYN.

## **5.7 FASE 6: CINÉTICA**

Como já descrito na revisão bibliográfica, durante o processo Fenton, o  $H_2O_2$  reage com Fe(II) para produzir, principalmente, radicais  $\cdot OH$ , radicais  $HO_2\cdot$ , radicais  $(SO_4^{\cdot-})$  e complexos de ferro de alta valência, que podem oxidar compostos orgânicos e inorgânicos (Lee *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2017). A cinética de degradação dos compostos orgânicos depende das características da molécula.

### **5.7.1 Matriz água ultrapura contendo metanol**

Neste estudo, os experimentos cinéticos foram realizados com o excesso de reagentes Fenton e com relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima de 0,4 obtida na Fase 1. Para a matriz água ultrapura contendo metanol, foram utilizadas as doses de 25  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 62,5  $\mu M$  de Fe(II), o que representa, respectivamente, 500 e 1250 vezes a concentração inicial de CYN.

Devido ao excesso dos reagentes  $H_2O_2$  e Fe(II) em relação a CYN, considerou-se que a oxidação de CYN pelo processo Fenton se dá por meio de uma pseudocinética, a qual foi utilizada para o cálculo dos parâmetros cinéticos (ordem e a constante da taxa de reação).

O ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos, usando o método da integração, para as réplicas da matriz água ultrapura contendo metanol é mostrado na Figura 5.27, enquanto os parâmetros cinéticos da oxidação de CYN em água ultrapura contendo metanol para cada réplica são mostrados na Tabela 5.6.

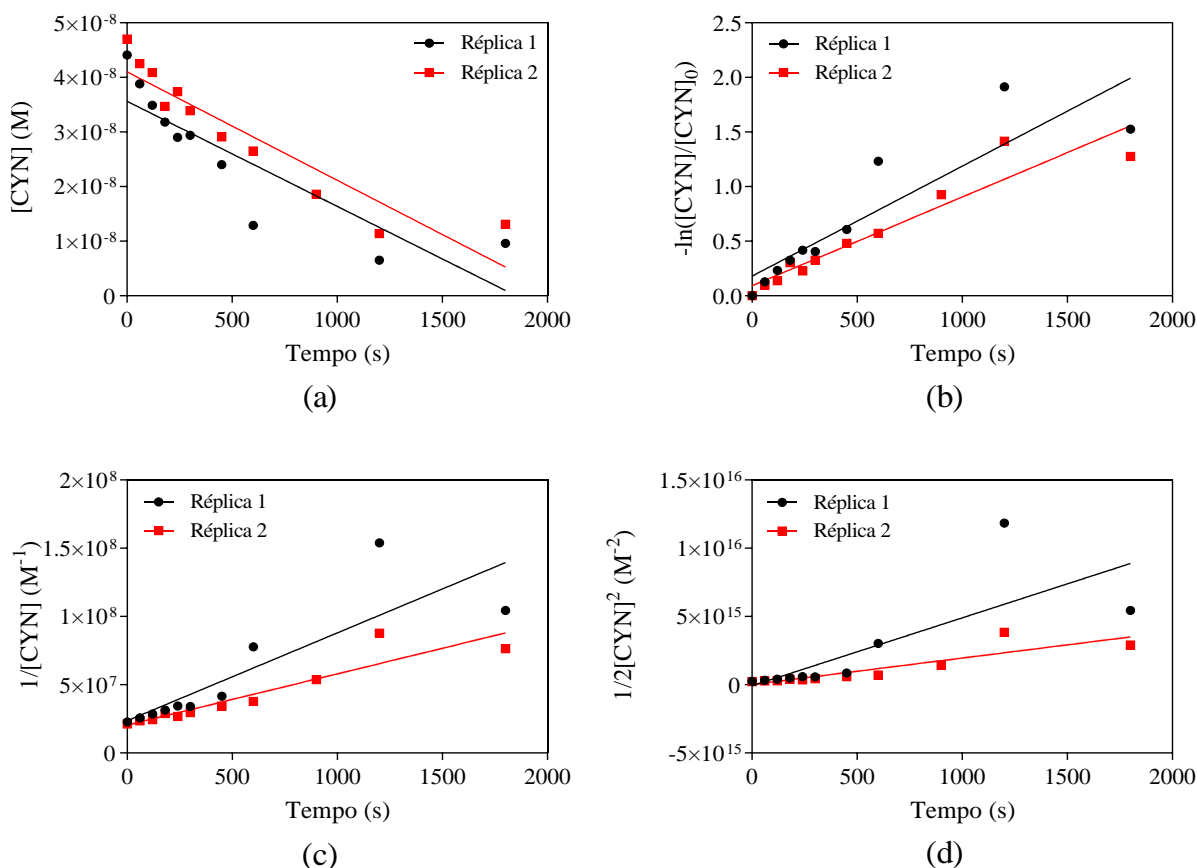


Figura 5.27 – Ajuste dos dados experimentais de degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol pelo processo Fenton aos modelos cinéticos de (a) pseudo-zero-ordem, (b) pseudo-primeira-ordem, (c) pseudo-segunda-ordem e (d) pseudo-terceira-ordem. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de 0,05  $\mu\text{M}$  de CYN e doses de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 62,5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

Tabela 5.6- Parâmetros cinéticos da oxidação de CYN em água ultrapura contendo metanol pelo processo Fenton. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de 0,05  $\mu\text{M}$  de CYN e doses de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 62,5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

Modelo cinético (Pseudo-ordem)	Réplica 1		Réplica 2		Média	
	$k^a$	$R^2$	$k^a$	$R^2$	$k^a$	$R^2$
Zero	1,925E-11	0,76	1,987E-11	0,87	1,956E-11	0,82
Primeira	1,007E-03	0,80	0,813E-03	0,90	0,910E-03	0,85
Segunda	6,435E+04	0,73	3,748E+04	0,87	5,092E+04	0,80
Terceira	4,978E+12	0,60	1,934×10+12	0,79	4,978E+12	0,70

<sup>a</sup>  $k$  é a constante da taxa aparente de pseudo-zero-ordem ( $\text{M s}^{-1}$ ), constante da taxa aparente de pseudo-primeira-ordem ( $\text{s}^{-1}$ ), constante da taxa aparente de pseudo-segunda-ordem ( $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), constante da taxa aparente de pseudo-terceira-ordem ( $\text{M}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

Como apresentado na Figura 5.27 e baseado no valor de  $R^2$  (Tabela 5.6), a oxidação de CYN pelo processo Fenton foi melhor descrita pelo modelo cinético de pseudo-primeira-ordem. Os resultados obtidos em todas as três réplicas mostraram uma tendência similar em relação à adequação dos dados experimentais obtidos a esse modelo cinético.



Como já mencionado, poucos estudos avaliando a oxidação do CYN pelo processo Fenton foram publicados até o presente momento. Schneider *et al.* (2022) reportaram que a degradação de CYN pelo processo Fenton segue uma cinética de segunda ordem, entretanto os autores não apresentaram nenhum parâmetro cinético ou de ajuste ao modelo cinético. A oxidação de CYN e também de MC-RR pelo processo Fenton-like heterogêneo ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-R400}$ ) foi relatada por Munoz *et al.* (2019). Os autores estudaram a oxidação de  $1,2 \mu\text{M}$  de CYN e de  $0,5 \mu\text{M}$  de MC-RR em água ultrapura, pH inicial 5, dosando os reagentes Fenton em excesso ( $58,8 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para CYN,  $75,0 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para MC-RR e concentração fixa de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-R400}$  de  $863,8 \mu\text{M}$ ). Sob essas condições, foram obtidas as constantes da taxa aparente de pseudo-primeira-ordem de  $7,4167 \text{ s}^{-1}$  para CYN e  $10,0167 \text{ s}^{-1}$  para MC-RR.

A constante da taxa de reação para CYN obtida por Munoz *et al.* (2019) é significativamente maior do que a obtida neste trabalho ( $0,910 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , Tabela 5.6). Da mesma forma, a constante de taxa de reação para MC-RR reportada por Munoz *et al.* (2019) também é consideravelmente maior do que o valor de  $2,165 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  relatado por Zhong *et al.* (2009), que avaliaram a degradação de  $0,7 \mu\text{M}$  de MC-RR em água ultrapura, pH inicial 3 e com excesso de reagentes Fenton ( $1500 \mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $100 \mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ ).

As taxas de reação obtidas por Munoz *et al.* (2019) podem ser atribuídas ao próprio nanocatalisador utilizado ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-R400}$ ), que foi especialmente projetado e otimizado para a oxidação no processo Fenton-like heterogêneo (Álvarez-Torrellas *et al.*, 2020). Como os nanocatalisadores possuem elevada área superficial e baixa resistência à difusão, eles são mais eficientes que os catalisadores heterogêneos convencionais (Garrido-Ramírez *et al.*, 2010).

As diferenças observadas nos valores de constante da taxa aparente de pseudo-primeira-ordem refletem as diferentes produções de radicais  $\cdot\text{OH}$  em cada processo. Deve-se ressaltar ainda que as constantes de taxa de reação maiores podem indicar maior concentração de radicais  $\cdot\text{OH}$ , uma vez que a concentração dos radicais  $\cdot\text{OH}$  é incorporada à constante de taxa aparente e/ou a maior suscetibilidade da molécula à oxidação pelos radicais  $\cdot\text{OH}$ .

Ressalta-se que, apesar dessas diferenças, a constante de taxa de reação para a degradação de CYN obtida no presente trabalho está na mesma ordem de grandeza da constante de taxa aparente de  $4 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  reportada por Chen *et al.* (2015), ao empregar o processo UV-TiO<sub>2</sub> sob as seguintes condições: 2,4 μM de CYN inicial, 313 μM de TiO<sub>2</sub>, saturação de O<sub>2</sub> e 350 nm de irradiação com intensidade de cerca de  $1,12 \times 10^{16}$  fótons/s cm.

### 5.7.2 Matriz água do Lago Paranoá contendo metanol

Experimentos cinéticos também foram realizados para avaliar o efeito da matriz água do Lago Paranoá contendo metanol na degradação de CYN. Esses experimentos foram conduzidos com excesso de reagentes Fenton, 75 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 187,5 μM de Fe(II), e com a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II) ótima de 0,4 obtida na Fase 1. O ajuste dos dados obtidos nesses experimentos aos modelos cinéticos é mostrado na Figura 5.28.

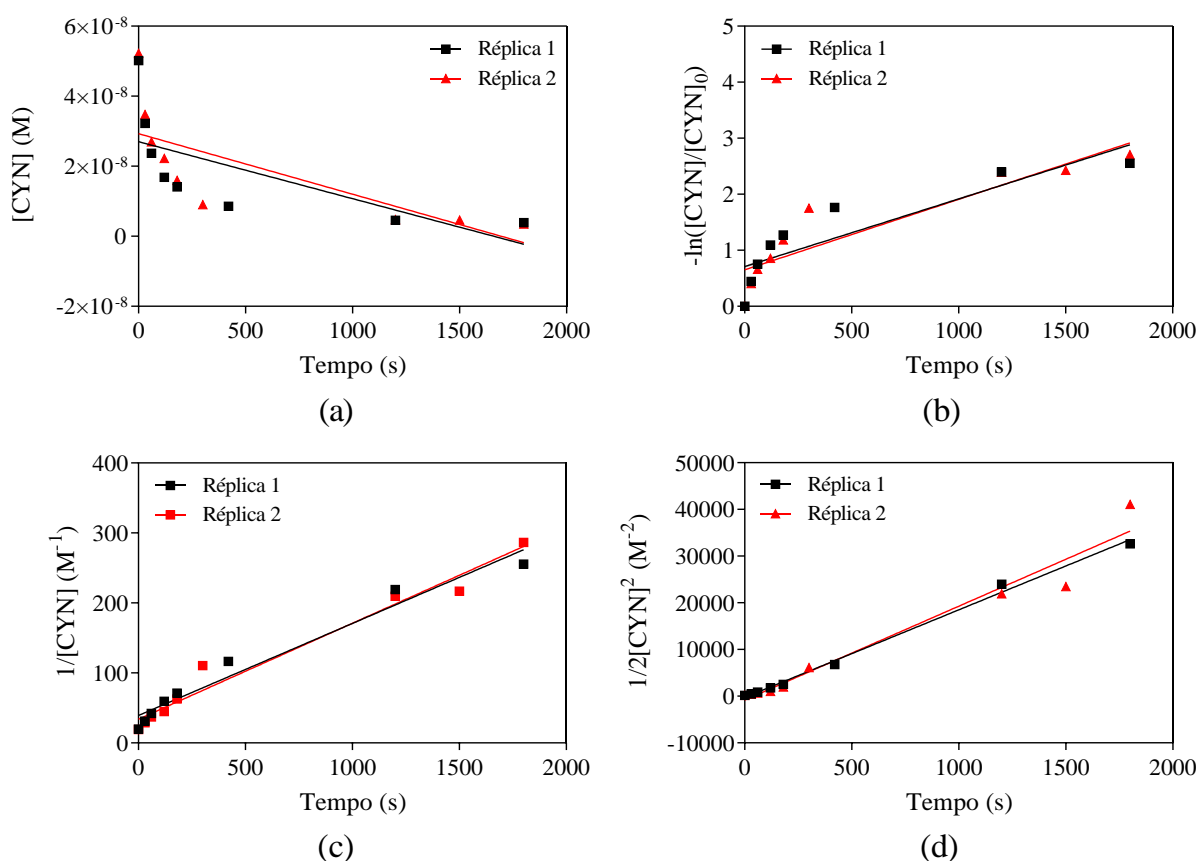


Figura 5.28 – Ajuste dos dados experimentais de degradação de CYN em água do Lago Paranoá contendo metanol pelo processo Fenton aos modelos cinéticos de (a) pseudo-zero-ordem, (b) pseudo-primeira-ordem, (c) pseudo-segunda-ordem e (d) pseudo-terceira-ordem. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de 0,05 μM de CYN e doses de 75 μM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 187,5 μM de Fe(II).

Os parâmetros cinéticos da oxidação de CYN em matriz água do Lago Paranoá contendo metanol para cada réplica são mostrados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7- Parâmetros cinéticos da oxidação de CYN em água do Lago Paranoá contendo metanol pelo processo Fenton. Tempo de reação de 30 min, pH inicial 5, concentração de 0,05  $\mu\text{M}$  de CYN e doses de 75  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 187,5  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe(II)}$ .

Modelo cinético (Pseudo-ordem)	Réplica 1		Réplica 2		Média	
	$k^a$	$R^2$	$k^a$	$R^2$	$k^a$	$R^2$
Zero	1,627E-11	0,470	1,729E-11	0,559	1,678E-11	0,51
Primeira	1,208E-03	0,784	1,208E-03	0,839	1,208E-03	0,81
Segunda	1,314E+05	0,963	1,314E+05	0,972	1,314E+05	0,97
Terceira	1,878E+13	0,995	1,878E+13	0,958	1,878E+13	0,98

<sup>a</sup>  $k$  é a constante da taxa aparente de pseudo-zero-ordem ( $\text{M s}^{-1}$ ), constante da taxa aparente de pseudo-primeira-ordem ( $\text{s}^{-1}$ ), constante da taxa aparente de pseudo-segunda-ordem ( $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), constante da taxa aparente de pseudo-terceira-ordem ( $\text{M}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

Como mostrado na Figura 5.29 e baseado no valor de  $R^2$  (Tabela 5.7), a oxidação de CYN pelo processo Fenton nesta matriz foi melhor descrita pelos modelos cinéticos de pseudo-segunda-ordem e pseudo-terceira-ordem.

O aumento da ordem da reação de degradação de CYN pelo processo Fenton em água natural, em comparação com a matriz água ultrapura, pode ter sido resultado da associação entre o próprio aumento das concentrações de reagentes Fenton e o efeito causado pela adição de matéria orgânica natural presente na água de estudo.

A concentração média de matéria orgânica natural na água de estudo (133,628  $\mu\text{M C}$ , Tabela 5.5) pode ser considerada constante, já que é pelo menos 2.500 vezes a concentração inicial de CYN, e à medida que a oxidação de CYN ocorre, a competição pelo radical  $\cdot\text{OH}$  aumenta. Dessa forma, quando a concentração de CYN é máxima, ocorre uma rápida queda seguida pela estabilização da concentração de CYN devido ao aumento da competição com a matéria orgânica natural, simulando um comportamento de reação de ordens maiores.

## 5.8 FASE 7: EFEITO DA PRESENÇA DE ÁCIDOS HÚMICOS E MATÉRIA ORGÂNICA ALGOGÊNICA NA OXIDAÇÃO DE CYN

Diversos compostos presentes em águas naturais podem atuar no sequestro dos radicais  $\cdot\text{OH}$ , como os ácidos húmicos (AH) e, em casos de florações de cianobactérias, a matéria orgânica algogênica (MOA). Nesse sentido, para avaliar a interferência dos AH e da MAO

da degradação de CYN três grupos de ensaios foram realizados. Como em ensaios anteriores, o tempo de reação foi de 30 min, a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  ótima de 0,4 (com diferentes doses de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$ ) e pH inicial em torno de 5.

O primeiro grupo de ensaios foi realizado para fins de comparação (branco) e avaliou mais uma vez a degradação de  $0,05 \mu M$  de CYN em matriz água ultrapura contendo metanol. No segundo grupo, ensaios foram conduzidos enriquecendo-se a matriz água ultrapura contendo metanol com  $0,05 \mu M$  de CYN e  $5 \text{ mg/L}$  de AH. Por fim, no terceiro grupo de ensaios, a matriz água ultrapura sem metanol foi enriquecida com material lisado de cultivo de células de *Raphidiopsis raciborskii* ( $CONP = 125 \mu M C$ ) de modo a se obter a concentração de cerca  $0,05 \mu M$  de CYN.

Nas Figuras 5.29, 5.30 e 5.31 são apresentadas as degradações de CYN em matrizes água ultrapura e água ultrapura contendo metanol sem e com adição de AH e MOA pelo processo Fenton, bem como os residuais de  $Fe(II)$ ,  $Fe(III)$ , ferro total,  $H_2O_2$  e o desenvolvimento do pH durante o processo de oxidação em cada situação analisada.

A partir da Figura 5.29, observa-se que a degradação de CYN em água ultrapura contendo metanol pelo processo Fenton foi de 99% com  $25 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $62,5 \mu M$  de  $Fe(II)$  e de aproximadamente 100% para as demais concentrações de  $50$ ,  $75$  e  $100 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $125$ ,  $187,5$  e  $250 \mu M$  de  $Fe(II)$ , respectivamente. Como mencionado anteriormente, nenhuma mineralização significativa, com redução de  $CONP > 10\%$ , foi observada, possivelmente devido à presença de metanol na água de estudo, como já discutido no item 5.4.

Já na Figura 5.30, observa-se que a degradação do CYN em água ultrapura contendo metanol e contendo  $5 \text{ mg/L}$  de AH foi de 97% com  $25 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $62,5 \mu M$  de  $Fe(II)$ , 99% com  $50 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $125 \mu M$  de  $Fe(II)$ , e cerca de 100% com  $75$  e  $100 \mu M$  de  $H_2O_2$  e  $187,5$  e  $250 \mu M$  de  $Fe(II)$ . Com relação às concentrações de  $CONP$ , observou-se redução de cerca de 21%, independentemente das concentrações de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$  utilizadas.

Comparando-se as Figuras 5.29 e 5.30, nota-se que a adição de cerca de  $5 \text{ mg/L}$  de AH ( $586 \mu M C$ ) não afetou de forma considerável a eficiência de degradação de CYN. Nos experimentos contendo ácidos húmicos (Figura 5.30), a redução de 21% de  $CONP$  observada ocorreu provavelmente devido à coagulação e floculação, uma vez que a alta concentração

de AH associada a precipitação de Fe(III) no processo Fenton podem favorecer a formação de flocos. Li *et al.* (2020) avaliaram a coagulação de AH por sais férricos e reportaram a formação de flocos tanto com Fe(II) quanto com Fe(III). De fato, nos experimentos com AH foi observada a formação de flocos, que foram retidos na membrana em microfibras de vidro com tamanho de poro de cerca 0,7  $\mu\text{m}$  utilizada para preparação das amostras para análise de CONP.

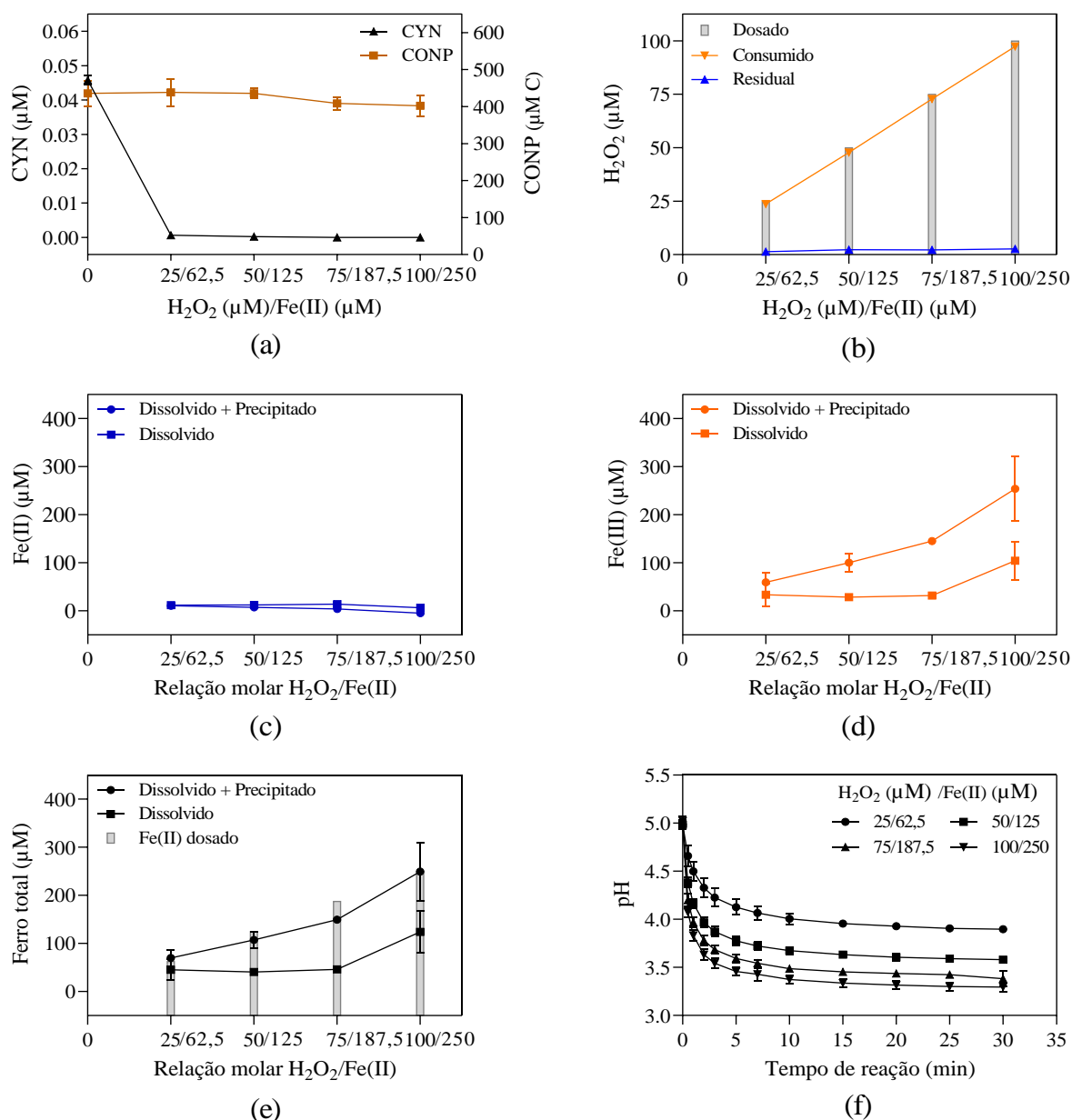


Figura 5.29 – Valores médios ( $n=3$ ) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , (c) Fe(II), (d) Fe(III), (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2$ /Fe(II). Matriz água ultrapura contendo metanol, tempo de reação de 30 min e pH inicial  $\approx 5$ .

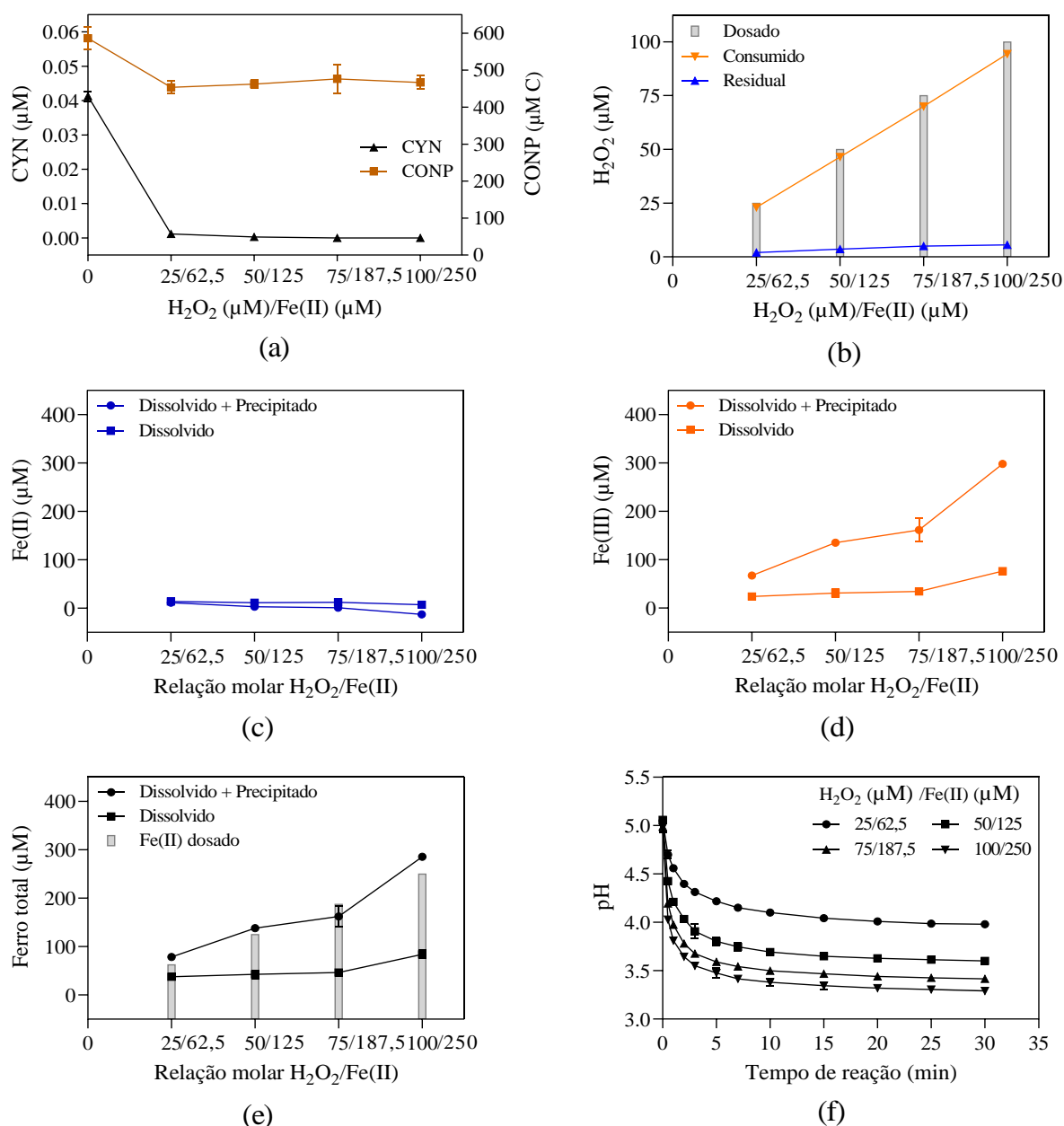


Figura 5.30 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (c) Fe(II), (d) Fe(III), (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II). Matriz água ultrapura contendo metanol e 5 mg/L de AH, tempo de reação de 30 min e pH inicial ≈ 5.

A Figura 5.31 mostra que a degradação pelo processo Fenton de CYN em água ultrapura sem metanol contendo MOA foi de aproximadamente 100% independentemente das doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II) avaliadas. Observa-se ainda na Figura 5.31 que, apesar da variação, não houve redução da concentração média de CONP, sugerindo que a mineralização da MOA e de CYN não foram consideráveis. Ressalta-se que a variação dos valores de CONP observada entre as réplicas do ensaio pode estar associada a degradação do material lizado

de cultivo de células de *Raphidiopsis raciborskii* utilizado para enriquecer a matriz, uma vez que a concentração de CONP no material lisado diminuiu em cada réplica.

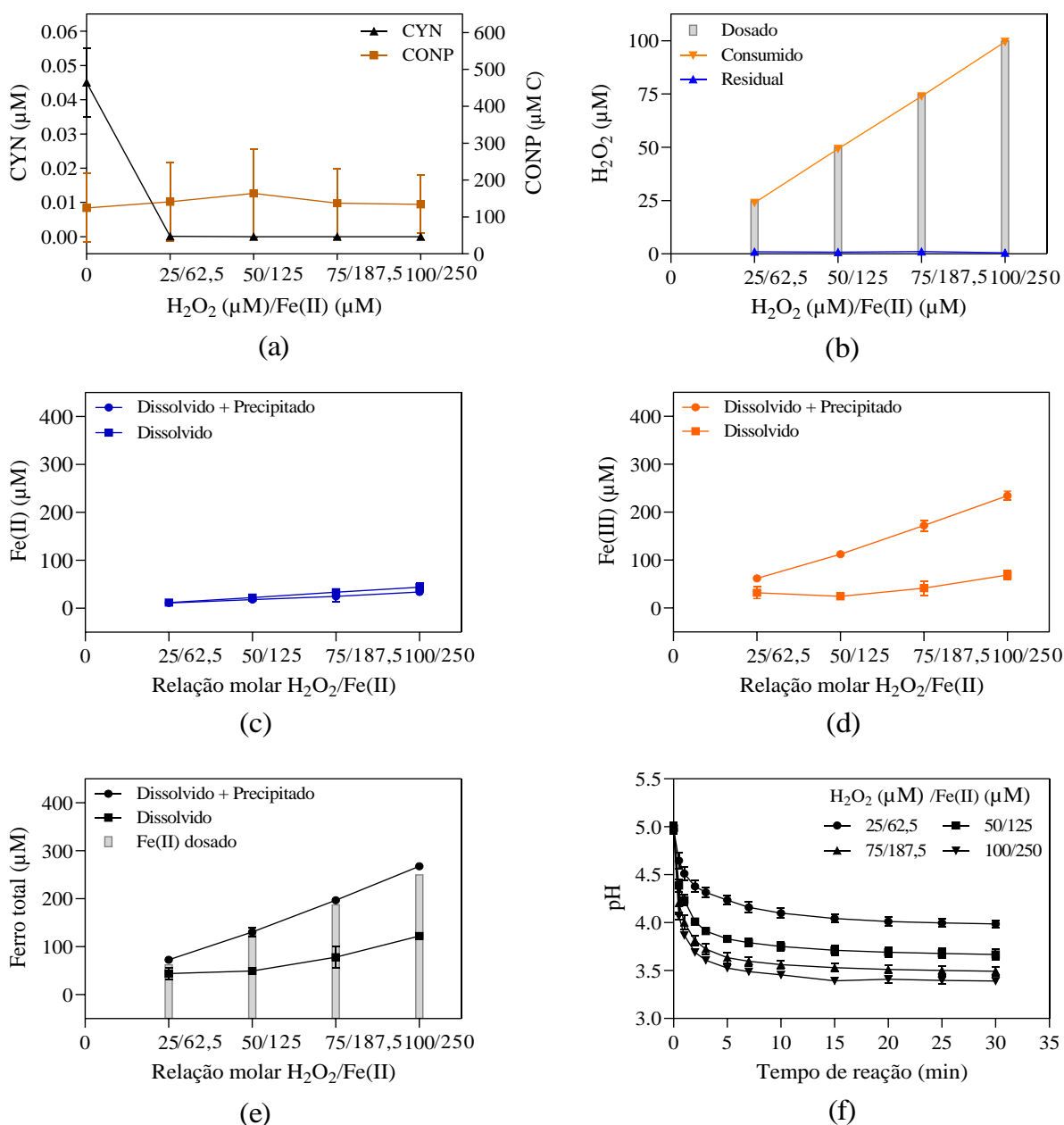


Figura 5.31 – Valores médios (n=3) e desvio padrão das concentrações residuais de (a) CYN e CONP, (b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (c) Fe(II), (d) Fe(III), (e) ferro total, e (f) desenvolvimento do pH de oxidação para diferentes doses de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II), mantendo-se fixa em 0,4 a relação molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe(II). Matriz água ultrapura contendo MOA (CONP = 125 μM C), tempo de reação de 30 min e pH inicial ≈ 5.

Apesar de Baresova *et al.* (2017) e Pivokonsky *et al.* (2012) terem reportado a remoção de matéria orgânica algogênica por coagulação com sulfato de Fe(III) em pH inferior a 6,5, neste trabalho não foi observada a remoção de matéria orgânica algogênica por coagulação e floculação, uma vez que não houve remoção de CONP e a formação de flocos não foi

observada. Esse fato pode estar associado às baixas concentrações de matéria orgânica algôgena utilizadas neste trabalho (cerca de 125  $\mu\text{M C}$ ) em comparação com os outros trabalhos citados.

Apesar de as constantes da taxa de reação entre o radical  $\cdot\text{OH}$  e o metanol ( $1,2$  a  $10,3 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , (Overend e Paraskevopoulo, 1978; Hess e Tully, 1989)), entre o radical  $\cdot\text{OH}$  e os AH ( $5,7$  a  $6,4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , (Mckay *et al.*, 2013)), e entre o radical  $\cdot\text{OH}$  e a MOA ( $4,0$  a  $8,0 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , (Lee *et al.*, 2018)) apresentarem ordem de grandeza similares, as diferentes concentrações destes compostos não afetaram de forma considerável a degradação de CYN. Comparando-se as Figuras 5.29, 5.30 e 5.31, nota-se que, nas condições avaliadas e com excesso dos reagentes  $\text{H}_2\text{O}_2$  (25 a 100  $\mu\text{M}$ ) e  $\text{Fe(II)}$  (62,5 a 250  $\mu\text{M}$ ), não houve interferências notáveis do metanol, dos AH e da MOA na degradação de CYN pelo processo Fenton. Independentemente das doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  e da presença de metanol, AH ou MOA, a eficiência de degradação de CYN pelo processo Fenton foi superior a 97%.



## 6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A oxidação de CYN foi avaliada por meio do processo Fenton em três matrizes distintas: água ultrapura, água ultrapura contendo metanol e água do Lago Paranoá (Brasília/Distrito Federal) também contendo metanol.

Para as três matrizes avaliadas, nas faixas de relações molares  $H_2O_2/Fe(II)$  testadas, a degradação de CYN aumentou à medida que o valor da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  foi de cerca de 0,4 e diminuiu sistematicamente com o aumento do valor da relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$ . Para a matriz água ultrapura contendo metanol, a maior degradação de CYN, 84 a 99%, foi obtida quando a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  foi de 0,4 usando 25  $\mu M$   $H_2O_2$  e 62,5  $\mu M$   $Fe(II)$ . Para a matriz água ultrapura, sem metanol, cerca de 100% de degradação de CYN foi obtida para a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  de 0,4 também usando 25  $\mu M$   $H_2O_2$  e 62,5  $\mu M$   $Fe(II)$ . Já para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, a máxima degradação de CYN foi de 89% obtida para a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  de 0,4 com doses de 75  $\mu M$   $H_2O_2$  e 187,5  $\mu M$   $Fe(II)$ .

O aumento das doses de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$ , mantendo-se fixa a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  de 0,4, proporcionou aumento de eficiência de degradação de CYN. Em matriz água ultrapura contendo metanol, o aumento da dose dos reagentes Fenton de 25  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 62,5  $\mu M$  de  $Fe(II)$  para 50  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 125  $\mu M$  de  $Fe(II)$  resultou no aumento da eficiência de oxidação de CYN de 84 para 91%. Para a matriz água ultrapura, sem metanol, o aumento da dose dos reagentes Fenton de 25  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 62,5  $\mu M$  de  $Fe(II)$  para 50  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 125  $\mu M$  de  $Fe(II)$  resultou no aumento da eficiência de oxidação de CYN de 98 para cerca de 100%. Já para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, o aumento dos reagentes Fenton de 75  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 187,5  $\mu M$  de  $Fe(II)$  para 100  $\mu M$  de  $H_2O_2$  e 250  $\mu M$  de  $Fe(II)$  resultou no aumento da eficiência de oxidação de CYN de 89 para 98%. O aumento das doses de  $H_2O_2$  e  $Fe(II)$ , mantendo-se fixa a relação molar  $H_2O_2/Fe(II)$  em 0,4, não apresentou comportamento linear, havendo valor a partir do qual o aumento das doses resulta em aumento marginal na eficiência de degradação.

Adotando-se valor de pH inicial em torno de 5, a eficiência de degradação de CYN pelo processo Fenton foi pouco afetada pela concentração inicial de CYN. Em matriz água

ultrapura contendo metanol, com relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 (25  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  e 62,5  $\mu\text{M}$   $\text{Fe(II)}$ ), a degradação de CYN foi de 99%, 97% e 86%, quando as concentrações iniciais de CYN foram de 0,05, 0,1 e 0,2  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Para a água do Lago Paranoá contendo metanol, com relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4 (75  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  e 187,5  $\mu\text{M}$   $\text{Fe(II)}$ ), a degradação de CYN foi de 94%, 91% e 85%, quando as concentrações iniciais de CYN foram 0,05, 0,1 e 0,2  $\mu\text{M}$ , respectivamente.

Elevados valores de degradação de CYN pelo processo Fenton foram obtidos para valores de pH inicial entre 3 e 5, uma vez que o pH final de oxidação nesta faixa foi similar. Mantendo a relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4, a degradação de CYN em matriz água ultrapura contendo metanol foi de 93%, 98%, 98%, 54% e 31% em matriz água ultrapura contendo metanol usando 25  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  e 62,5  $\mu\text{M}$   $\text{Fe(II)}$ , e foi de 96%, 97%, 96%, 21% e 21% em matriz água do Lago Paranoá contendo metanol usando 75  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  e 187,5  $\mu\text{M}$   $\text{Fe(II)}$ , quando o valor do pH inicial foi de 3, 4, 5, 7 e 9, respectivamente.

A oxidação de CYN em matriz água ultrapura contendo metanol pelo processo Fenton seguiu o modelo cinético de pseudo-primeira-ordem com constante da taxa de reação aparente média de  $0,910 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ . Para a matriz água do Lago Paranoá contendo metanol, a ordem de reação não foi totalmente definida, uma vez que a oxidação de CYN aproximou-se tanto do modelo cinético de pseudo-segunda-ordem como de pseudo-terceira-ordem com constantes da taxa reação aparente média de  $1,314 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  e  $1,878 \times 10^{13} \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente.

A degradação de CYN não foi notadamente alterada pela presença de ácidos húmicos (5 mg/L) ou de matéria orgânica algogênica (125  $\mu\text{M}$  C). Entretanto, em condições semelhantes de pH inicial, concentrações de CYN,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{Fe(II)}$  e relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  de 0,4, o aumento da concentração de metanol de 0 (matriz água ultrapura sem metanol) para 513,3  $\mu\text{M}$  (matriz água ultrapura contendo metanol) resultou na redução da eficiência de degradação de CYN de cerca de 100% para 84 a 99%, provavelmente em função do sequestro dos radicais hidroxila pelo metanol.

Assim, como a degradação de CYN pelo processo Fenton para a condição otimizada de relação molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  não é muito afetada por variações na matriz, este processo parece ser uma alternativa promissora no tratamento de água para consumo humano, com

possibilidade de ser implementado em escala real em estações de tratamento existentes. Entretanto, ainda são necessários estudos futuros para avaliar a influência do processo Fenton na coagulação/floculação (com avaliação das remoções por oxidação e por coagulação e floculação) e, conseqüentemente, na geração de lodo e residuais de ferro, em função das características da água bruta. Sugere-se ainda para pesquisas futuras a avaliação de outros interferentes presentes em águas naturais como bicarbonatos e cloretos, a interferência da matriz na cinética, além da avaliação da etapa do tratamento de água mais adequada para aplicação do processo Fenton.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Torrellas, S., Munoz, M., Mondejar, V., De Pedro, Z. M., & Casas, J. A. (2020). 'Boosting the catalytic activity of natural magnetite for wet peroxide oxidation'. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(2), 1176–1185.
- Ansari, A. A., Gill, S. S., & Khan, F. A. (2010). 'Eutrophication: threat to aquatic ecosystems'. In *Eutrophication: Causes, Consequences and Control* (pp. 143–170). Springer, Dordrecht.
- Antonίου, M. G., De La Cruz, A. A., & Dionysiou, D. D. (2005). 'Cyanotoxins: New Generation of Water Contaminants'. *Journal of Environmental Engineering*, 131(9), 1239–1243.
- Van Apeldoorn, M. E., Van Egmond, H. P., Speijers, G. J., & Bakker, G. J. (2007). 'Toxins of cyanobacteria'. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(1), 7–60.
- Attri, P., Kim, Y. H., Park, D. H., Park, J. H., Hong, Y. J., Uhm, H. S., ... & Choi, E. H. (2015). 'Generation mechanism of hydroxyl radical species and its lifetime prediction during the plasma-initiated ultraviolet (UV) photolysis'. *Scientific Reports*, 5(1), 1–8.
- Azbar, N. U. R. I., Yonar, T., & Kestioglu, K. (2004). 'Comparison of various advanced oxidation processes and chemical treatment methods for COD and color removal from a polyester and acetate fiber dyeing effluent'. *Chemosphere*, 55(1), 35–43.
- Azevedo, S. M. F. O., & Vasconcelos, V. (1998). 'Toxinas de cianobactérias : causas e conseqüências para a saúde pública'. *Med On Line*, 3(1), 1–19.
- Azevedo, S. M., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R., & Eaglesham, G. K. (2002). 'Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru – Brazil'. *Toxicology*, 181, 441–446.
- Babuponnusami, A., & Muthukumar, K. (2011) 'Degradation of phenol in aqueous solution by Fenton, sono-Fenton and sono-photo-Fenton methods'. *Clean - Soil, Air, Water*, 39(2), 142–147.
- Bader, H., Sturzenegger, V., & Hoigne, J. (1988). 'Photometric method for the determination of low concentrations of hydrogen peroxide by the peroxidase catalyzed oxidation of N,N-diethyl-p-phenylenediamine (DPD)'. *Water Research*, 22(9), 1109-1115.
- Baird, R.B., Eaton, A.D., & Rice, E.W. (2017). 'Standard methods for the examination of water and wastewater'. Washington, DC: American public health association.
- Bandala, E. R., Martínez, D., Martínez, E., & Dionysiou, D. D. (2004). 'Degradation of

- microcystin-LR toxin by Fenton and Photo-Fenton processes'. *Toxicon*, 43(7), 829–832.
- Banker, R., Teltsch, B., Sukenik, A., & Carmeli, S. (2000). '7-epicyclindrospermopsin, a toxic minor metabolite of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from Lake Kinneret, Israel'. *Journal of Natural Products*, 63(3), 387–389.
- Banker, R., Carmeli, S. e Werman, M. (2001). 'Uracil moiety is required for toxicity of the cyanobacterial hepatotoxin cylindrospermopsin'. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 62(4), 281–288.
- Baresova, M., Pivokonsky, M., Novotna, K., Naceradska, J., & Branyik, T. (2017). 'An application of cellular organic matter to coagulation of cyanobacterial cells (*Merismopedia tenuissima*)'. *Water Research*, 122, 70–77.
- Bautista, P., Mohedano, A. F., Casas, J. A., Zazo, J. A., & Rodriguez, J. J. (2008). 'An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewaters treatment'. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 83(10), 1323–1338.
- Bielski, B. H., Cabelli, D. E., Arudi, R. L., & Ross, A. B. (1985). 'Reactivity of HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>- radicals in aqueous solution'. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 14(4), 1041–1100.
- Bittencourt-Oliveira, M. C., D., Piccin-Santos, V., Moura, A. N., Aragão-Tavares, N. K., & Cordeiro-Araújo, M. K. (2014). 'Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking supply reservoirs of Brazil'. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 297–310.
- Bober, B., Pudas, K., Lechowski, Z., & Bialczyk, J. (2008). 'Degradation of microcystin-LR by ozone in the presence of Fenton reagent'. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 43(2), 186–190.
- Bortoli, S., & Pinto, E. (2015). 'Cianotoxinas: Características Gerais, Histórico, Legislação e Métodos De Análises'. *Ecologia de reservatórios e interfaces*, 163–164.
- Brezonik, P. L., & Fulkerson-Brekken, J. (1998). 'Nitrate-induced photolysis in natural waters: Controls on concentrations of hydroxyl radical photo-intermediates by natural scavenging agents'. *Environmental Science and Technology*, 32(19), 3004–3010.
- Buratti, F. M., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E., & Funari, E. (2017). 'Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation'. *Archives of Toxicology*, 91(3), 1049–1130.
- Buxton, G. V., Greenstock, C. L., Helman, W. P., & Ross, A. B (1988). 'Critical Review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals

- ( $\cdot\text{OH}/\text{O}^-$ ) in Aqueous Solution'. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 17(2), 513–886.
- Canizares, P., Paz, R., Sáez, C., & Rodrigo, M. A. (2009). 'Costs of the electrochemical oxidation of wastewaters: A comparison with ozonation and Fenton oxidation processes'. *Journal of Environmental Management*, 90(1), 410–420.
- Carmichael, W. W. (1992). 'Cyanobacteria secondary metabolites—the cyanotoxins'. *Journal of Applied Bacteriology*, 72(6), 445–459.
- Carmichael, W.W. (1997). 'The cyanotoxins'. *Advances in Botanical Research*, 27, 211–256.
- Carpenter, S. R. (1981). 'Submersed vegetation: an internal factor in lake ecosystem succession'. *The American Naturalist*, 118(3), 372–383.
- Chen, J., Han, F. X., Wang, F., Zhang, H., & Shi, Z. (2012). 'Accumulation and phytotoxicity of microcystin-LR in rice (*Oryza sativa*)'. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76(1), 193–199.
- Chen, L., Zhao, C., Dionysiou, D. D., & O'Shea, K. E. (2015). 'TiO<sub>2</sub> photocatalytic degradation and detoxification of cylindrospermopsin'. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 307, 115–122.
- Chen, W., Zou, C., Liu, Y., & Li, X. (2017). 'The experimental investigation of bisphenol A degradation by Fenton process with different types of cyclodextrins', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 56, 428–434.
- Chiswell, R. K., Shaw, G. R., Eaglesham, G., Smith, M. J., Norris, R. L., Seawright, A. A., & Moore, M. R. (1999). 'Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *cylindrospermopsis raciborskii*: Effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition'. *Environmental Toxicology*, 14(1), 155–161.
- Chorus, I., & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public consequences, monitoring and management*. Taylor & Francis.
- Chorus, I. & Welker, M. (2021). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. Taylor & Francis.
- Codd, G. A. (1995). 'Cyanobacterial toxins: Occurrence, properties and biological significance'. *Water Science and Technology*, 32(4), 149–156.
- Colby, P. J., Spangler, G. R., Hurley, D. A., & McCombie, A. M. (1972). 'Effects of eutrophication on salmonid communities in oligotrophic lakes'. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29(6), 975–983.
- Cordeiro-Araújo, M. K., Chia, M. A., & do Carmo Bittencourt-Oliveira, M. (2017).

- ‘Potential human health risk assessment of cylindrospermopsin accumulation and depuration in lettuce and arugula’. *Harmful Algae*, 68, 217–223.
- Cravotto, G., Di Carlo, S., Tumiatti, V., Roggero, C., & Bremner, H. D. (2005). ‘Degradation of persistent organic pollutants by Fenton’s reagent facilitated by microwave or high-intensity ultrasound’. *Environmental Technology*, 26(7), 721–724.
- Dillenberg, H. O., & Dehnel, M. K. (1960). ‘Toxic waterbloom in Saskatchewan, 1959’. *Canadian Medical Association Journal*, 83(22), 1151.
- Dolman, A. M., Rücker, J., Pick, F. R., Fastner, J., Rohrlack, T., Mischke, U., & Wiedner, C. (2012). ‘Cyanobacteria and cyanotoxins: The influence of nitrogen versus phosphorus’. *PLoS ONE*, 7(6), e38757.
- Falconer, I. R., & Humpage, A. R. (2006). ‘Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: Cylindrospermopsins’. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 21(4), 299–304.
- Falconer, I. R., Hardy, S. J., Humpage, A. R., Froscio, S. M., Tozer, G. J., & Hawkins, P. R. (1999). ‘Hepatic and renal toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Cylindrospermopsis raciborskii* in male Swiss Albino mice’. *Environmental Toxicology*, 14(1), 143–150.
- Falconer, I. R. (2004). *Cyanobacterial toxins of drinking water supplies*. Washington, D. C., CRC press.
- Falconer, I. R., Runnegar, M. T., & Beresford, A. M. (1983). ‘Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*’. *Medical Journal of Australia*, 1(11), 511–514.
- Fang, Y. F., Chen, D. X., Huang, Y. P., Yang, J., & Chen, G. W. (2011). ‘Heterogeneous Fenton photodegradation of microcystin-LR with visible light irradiation’. *Fenxi Huaxue/ Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 39(4), 540–543.
- Fenton, H. J. H. (1894). ‘Oxidation of Tartatic Acid in Presence of Iron’. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 65(0), 899–910.
- Fogg, G. E., Stewart, W. D. P., Fay, P., Walsby, A. E. (1973). *The Blue-Green Algae*. Academic Press, London-New York.
- Gadipelly, C., Pérez-González, A., Yadav, G. D., Ortiz, I., Ibáñez, R., Rathod, V. K., & Marathe, K. V. (2014). ‘Pharmaceutical industry wastewater: Review of the technologies for water treatment and reuse’. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 53(29), 11571–11592.
- Gajdek, P., Lechowski, Z., Bochnia, T., & Kępczyński, M. (2001). ‘Decomposition of

- microcystin-LR by Fenton oxidation'. *Toxicon*, 39(10), 1575–1578.
- Garrido-Ramírez, E. G., Theng, B. K., & Mora, M. L. (2010). 'Clays and oxide minerals as catalysts and nanocatalysts in Fenton-like reactions – A review'. *Applied Clay Science*, 47(34), 182–192.
- Giannuzzi, L., Sedan, D., Echenique, R., & Andrinolo, D. (2011). 'An acute case of intoxication with cyanobacteria and cyanotoxins in recreational water in Salto Grande Dam, Argentina'. *Marine Drugs*, 9(11), 2164–2175.
- Glaze, W. H., Kang, J. W., & Chapin, D. H. (1987). 'The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation'. *Ozone: Science & Engineering*, 9(4), 335–352.
- Göde, J.N. et al. Göde, J. N., Souza, D. H., Trevisan, V., & Skoronski, E. (2019). 'Application of the Fenton and Fenton-like processes in the landfill leachate tertiary treatment'. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(5), 103352.
- Gonzalez, M. G., Oliveros, E., Wörner, M., & Braun, A. M. (2004). 'Vacuum-ultraviolet photolysis of aqueous reaction systems'. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 5(3), 225-246.
- Gorham, P., McLachlan, J., Hammer, U. T., & Kim, W. K. (1964). 'Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb'. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 15(2), 796-804.
- Graham, J. L., Loftin, K. A., Meyer, M. T., & Ziegler, A. C. (2010). 'Cyanotoxin mixtures and taste-and-odor compounds in cyanobacterial blooms from the midwestern united states'. *Environmental Science and Technology*, 44(19), 7361–7368.
- Guzmán-Guillén, R., Moreno, I., Ortega, A. I. P., Soria-Díaz, M. E., Vasconcelos, V., & Cameán, A. M. (2015). 'CYN determination in tissues from freshwater fish by LC-MS/MS: Validation and application in tissues from subchronically exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*)'. *Talanta*, 131, 452–459.
- Haber, F., & Weiss, J. (1934). 'The catalytic compensation of hydrogen peroxide by iron salts'. *Proc R Soc London*, 147(861), 332–351.
- He, X., Zhang, G., de la Cruz, A. A., O'Shea, K. E., & Dionysiou, D. D. (2014). 'Degradation mechanism of cyanobacterial toxin cylindrospermopsin by hydroxyl radicals in homogeneous UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process'. *Environmental Science and Technology*, 48(8), 4495–4504.
- Heintzelman, G. R., Fang, W. K., Keen, S. P., Wallace, G. A., & Weinreb, S. M. (2002). 'Stereoselective total syntheses and reassignment of stereochemistry of the freshwater



- cyanobacterial hepatotoxins cylindrospermopsin and 7-epicylindrospermopsin'. *Journal of the American Chemical Society*, 124(15), 3939–3945.
- Henz, S. K. F., Sousa, D. S., Ginoris, Y. P., & Brandão, C. C. S. (2019). 'Remoção de cilindrospermopsinas por meio do processo Fenton no tratamento de água'. In *XXIII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos*, 11.
- Hermosilla, D., Cortijo, M., & Huang, C. P. (2009). 'Optimizing the treatment of landfill leachate by conventional Fenton and photo-Fenton processes'. *Science of the Total Environment*, 407(11), 3473–3481.
- Hess, W. P. & Tully, F. P. (1989). 'Hydrogen-atom abstraction from methanol by OH'. *Journal of Physical Chemistry*, 93(5), 1944–1947.
- Himberg, K., Keijola, A. M., Hiisvirta, L., Pyysalo, H., & Sivonen, K. (1989). 'The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: A laboratory study'. *Water Research*, 23(8), 979–984.
- Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). 'Cyanobacterial blooms'. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471–483.
- Humpage, A., & Fastner, J. (2021) 'Cylindrospermopsins'. In *Toxic cyanobacteria in Water*. CRC Press, 2, 53–71.
- Humpage, A. R., Fontaine, F., Froschio, S., Burcham, P., & Falconer, I. R. (2005). 'Cylindrospermopsin genotoxicity and cytotoxicity: Role of cytochrome P-450 and oxidative stress'. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 68(9), 739–753.
- Humpage, A. R., & Falconer, I. R. (2003). 'Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: Determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value'. *Environmental Toxicology*, 18(2), 94–103.
- Hurowitz, J. A., Tosca, N. J., & Dyar, M. D. (2009). 'Acid production by FeSO<sub>4</sub>·nH<sub>2</sub>O dissolution and implications for terrestrial and martian aquatic systems'. *American Mineralogist*, 94(4), 409–414.
- Ioan, I., Wilson, S., Lundanes, E., & Neculai, A. (2007). 'Comparison of Fenton and sono-Fenton bisphenol A degradation'. *Journal of Hazardous Materials*, 142(1–2), 559–563.
- Jiang, F., Cao, G., Zhuang, Y., & Wu, Z. (2020). 'Kinetic fluorimetry for determination of bisphenol S in plastics based on its promoting effect on the Fenton process'. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, 130(2), 1093–1108.
- Jung, Y. S., Lim, W. T., Park, J. Y., & Kim, Y. H. (2009). 'Effect of pH on Fenton and

- Fenton-like oxidation'. *Environmental Technology*, 30(2), 183–190.
- Kang, Y. M., Kim, M. K., & Zoh, K. D. (2018). 'Effect of nitrate, carbonate/bicarbonate, humic acid, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the kinetics and degradation mechanism of Bisphenol-A during UV photolysis'. *Chemosphere*, 204, 148–155.
- Kavitha, V., & Palanivelu, K. (2004) 'The role of ferrous ion in Fenton and photo-Fenton processes for the degradation of phenol'. *Chemosphere*, 55(9), 1235–1243.
- Keijola, A. M., Himberg, K., Esala, A. L., Sivonen, K., & Hiis-Virta, L. (1988). 'Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Laboratory and pilot-scale experiments'. *Toxicity Assessment*, 3(5), 643–656.
- Kokociński, M., Cameán, A. M., Carmeli, S., Guzmán-Guillén, r., Jos, A., Mankiewicz-Boczek, J., Metcalf, J. S., Moreno, I. M., Prieto, A. I., & Sukenik, A. (2017). 'Cylindrospermopsin and Congeners'. In *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, John Wiley & sons, 127–137.
- Kulasooriya, S. A. (2011). 'Cyanobacteria: Pioneers of Planet Earth'. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*, 40(2), 71–88.
- De la Cruz, A. A., Hiskia, A., Kaloudis, T., Chernoff, N., Hill, D., Antoniou, M. G., ... Dionysiou, D. D. (2013). 'A review on cylindrospermopsin: The global occurrence, detection, toxicity and degradation of a potent cyanotoxin'. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, 15(11), 1979–2003.
- De Laat, J. e Gallard, H. (1999). 'Catalytic decomposition of hydrogen peroxide by Fe(III) in homogeneous aqueous solution: Mechanism and kinetic modeling'. *Environmental Science and Technology*, 33(16), pp. 2726–2732.
- Laat, J., & Gallard, H. (1999). 'Catalytic decomposition of hydrogen peroxide by Fe (III) in homogeneous aqueous: mechanism and kinetic modeling'. *Environ. Sci. Technol*, 33(16), 2726–2732.
- Lawton, L. A., & Robertson, P. K. J. (1999). 'Physico-chemical treatment methods for the removal of microcystins (cyanobacterial hepatotoxins) from potable waters'. *Chemical Society Reviews*, 28(4), 217–224.
- Lee, D., Kwon, M., Ahn, Y., Jung, Y., Nam, S. N., Choi, I. H., & Kang, J. W. (2018). 'Characteristics of intracellular algogenic organic matter and its reactivity with hydroxyl radicals'. *Water Research*, 144, 13–25.
- Lee, H., Lee, H. J., Sedlak, D. L., & Lee, C. (2013). 'pH-Dependent reactivity of oxidants formed by iron and copper-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide'. *Chemosphere*, 92(6), 652–658.

- Li, X., Graham, N. J., Deng, W., Liu, M., Liu, T., & Yu, W. (2020). 'The formation of planar crystalline flocs of  $\gamma$ -FeOOH in Fe(II) coagulation and the influence of humic acid'. *Water Research*, 185, 116250.
- Linden, K. G., & Mohseni, M. (2014). 'Advanced Oxidation Processes: Applications in Drinking Water Treatment'. In *Comprehensive Water Quality and Purification*. Elsevier, 148–172.
- Lippy, E. C., & Erb, J. (1976). 'Gastrointestinal Illness at Sewickley, Pa.'. *Journal - American Water Works Association*, 68(11), 606–610.
- Liu, J., Hernández, S. E., Swift, S., & Singhal, N. (2018). 'Estrogenic activity of cylindrospermopsin and anatoxin-a and their oxidative products by FeIII-B\*/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'. *Water Research*, 132, 309–319.
- Looper, R. E., Runnegar, M. T., & Williams, R. M. (2005). 'Angew Chem Int Ed - 2005 - Looper - Synthesis of the Putative Structure of 7-Deoxycylindrospermopsin C7 Oxygenation Is Not.pdf'. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(25), 3879–3881.
- Lopes, K. C. (2016). *Efeito subletal da cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska, 1912) na atividade locomotora de *Poecilia vivipara* Bloch e Schneider, 1801 (Poeciliidae) e na motilidade de *Pygidiopsis macrostomum* Travassos, 1928 (Heterophyidae)*. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Saúde)-Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 72.
- Machado, J., Campos, A., Vasconcelos, V., & Freitas, M. (2017). 'Effects of microcystin-LR and cylindrospermopsin on plant-soil systems: A review of their relevance for agricultural plant quality and public health'. *Environmental Research*, 153, 191–204.
- Magnusson, B., & Örnemark, U. (2014). *The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics*. 2ed.
- Mazmouz, R., Chapuis-Hugon, F., Pichon, V., Méjean, A., & Ploux, O. (2011). 'The Last Step of the Biosynthesis of the Cyanotoxins Cylindrospermopsin and 7-epi-Cylindrospermopsin is Catalysed by CyrI, a 2-Oxoglutarate-Dependent Iron Oxygenase'. *ChemBioChem*, 12(6), 858–862.
- McKay, G., Kleinman, J. L., Johnston, K. M., Dong, M. M., Rosario-Ortiz, F. L., & Mezyk, S. P. (2013). 'Kinetics of the reaction between the hydroxyl radical and organic matter standards from the International Humic Substance Society'. *Journal of soils and sediments*, 14(2), 298–304.
- Mehrvar, M., Anderson, W. A., & Moo-Young, M. (2002). 'Photocatalytic degradation of

- aqueous organic solvents in the presence of hydroxyl radical scavengers'. *International Journal of Photoenergy*, 3(4), 187–191.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., & Thomas, O. (2013). 'State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins'. *Environment International*, 59, 303–327.
- Merel, S., Clément, M., & Thomas, O. (2010). 'State of the art on cyanotoxins in water and their behaviour towards chlorine'. *Toxicon*, 55(4), 677–691.
- Mihali, T. K., Kellmann, R., Muenchhoff, J., Barrow, K. D., & Neilan, B. A. (2008). 'Characterization of the Gene Cluster Responsible for Cylindrospermopsin Biosynthesis'. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(3), 716–722.
- Miller, A. P., & Tisdale, E. S. (1931). 'Epidemic of intestinal disorders in Charlston, W. VA., occuring simulataneously with unprecedented water supply conditions'. *American Journal of Public Health and the Nation's Health*, 21(2), 198–200.
- Miller, C. J., Wadley, S., & Waite, T. D. (2017). 'Fenton, photo-Fenton and Fenton-like processes'. In *Advanced Oxidation Processes for Water Treatment: Fundamentals and Applications*, 297–332.
- BRASIL, Ministério da Saúde. (2000). *Portaria n° 1469, de 29 de dezembro de 2000. Procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Diário Oficial da União, Brasília (2 de janeiro de 2001).
- BRASIL, Ministério da Saúde. (2011). *Portaria n° 2914, de 12 de dezembro de 2011. Procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Diário Oficial da União, Brasília (14 de dezembro).
- BRASIL, Ministério da Saúde. (2021). *Portaria de Consolidação GM/MS n° 888, de 4 de Maio de 2021. Controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Diário Oficial da União, Brasília (07 de maio).
- Al Momani, F., Smith, D. W., & El-Din, M. G. (2008). 'Degradation of cyanobacteria toxin by advanced oxidation processes'. *Journal of Hazardous Materials*, 150(2), 238–249.
- Munoz, M., Nieto-Sandoval, J., Cirés, S., de Pedro, Z. M., Quesada, A., & Casas, J. A. (2019). 'Degradation of widespread cyanotoxins with high impact in drinking water (microcystins, cylindrospermopsin, anatoxin-a and saxitoxin) by CWPO'. *Water Research*, 163, 114853.
- Nicholson, B. C., & Burch, M. D. (2001). *Evaluation of analytical methods for detection and quantification of cyanotoxins in relation to Australian drinking water guidelines*. Canberra: National Health and Medical Research Council of Australia, 57.

- Nixon, S. W. (1995). 'Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns'. *Ophelia*, 41(1), 199–219.
- Nogueira, I. C., Saker, M. L., Pflugmacher, S., Wiegand, C., & Vasconcelos, V. M. (2004). 'Toxicity of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* to *Daphnia magna*'. *Environmental Toxicology*, 19(5), 453–459.
- Ohtani, I., Moore, R. E., & Runnegar, M. T. C. (1992). 'Cylindrospermopsin: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*'. *Journal of the American Chemical Society*, 114(20), 7941–7942.
- Oliveira, R., Almeida, M. F., Santos, L., & Madeira, L. M. (2006). 'Experimental design of 2,4-dichlorophenol oxidation by Fenton's reaction'. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 45(4), 1266–1276.
- Olson, J. M. (2006). 'Photosynthesis in the Archean era'. *Photosynthesis Research*, 88(2), 109–117.
- Onstad, G. D., Strauch, S., Meriluoto, J., Codd, G. A., & Von Gunten, U. (2007). 'Selective oxidation of key functional groups in cyanotoxins during drinking water ozonation'. *Environmental Science and Technology*, 41(12), 4397–4404.
- Overend, R., & Paraskevopoulo, G. (1978). 'Rates of hydroxyl radical reactions. 4. Reactions with methanol, ethanol, 1-propanol, and 2-propanol at 296 K'. *Journal of Physical Chemistry*, 82(12), 1329–1333.
- Pádua, V. L. (2009). *Remoção de microrganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para de consumo humano*. Prosab. Rio de Janeiro: ABES.
- Paerl, H. W., & Huisman, J. (2008). 'Climate: Blooms like it hot'. *Science*, 320(5872), 57–58.
- Park, J. A., Yang, B., Park, C., Choi, J. W., van Genuchten, C. M., & Lee, S. H. (2017). 'Oxidation of microcystin-LR by the Fenton process: Kinetics, degradation intermediates, water quality and toxicity assessment'. *Chemical Engineering Journal*, 309, 339–348.
- Pârvulescu, V. I., Magureanu, M., & Lukes, P. (2012). *Plasma chemistry and catalysis in gases and liquids*. John Wiley & Sons.
- Pegram, R. A., Nichols, T., Etheridge, S., Humpage, A., LeBlanc, S., Love, A., ... & Thacker, R. (2008). 'Cyanotoxins Workgroup Report' In *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs*. Springer, New York, NY, 317–381.
- Pichardo, S., Cameán, A. M., & Jos, A. (2017). 'In vitro toxicological assessment of

- cylindrospermopsin: A review'. *Toxins*, 9(12), 402.
- Pignatello, J. J., Oliveros, E., & MacKay, A. (2006). 'Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the fenton reaction and related chemistry'. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36(1), 1–84.
- Pivokonsky, M., Safarikova, J., Bubakova, P., & Pivokonska, L. (2012). 'Coagulation of peptides and proteins produced by *Microcystis aeruginosa*: Interaction mechanisms and the effect of Fe-peptide/protein complexes formation'. *Water Research*, 46(17), 5583–5590.
- Poniedziałek, B., Rzymiski, P., & Wiktorowicz, K. (2012). 'First report of cylindrospermopsin effect on human peripheral blood lymphocytes proliferation in vitro'. *Central-European Journal of Immunology*, 37(4), 314–317.
- Preußel, K., Wessel, G., Fastner, J., & Chorus, I. (2009). 'Response of cylindrospermopsin production and release in *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) to varying light and temperature conditions'. *Harmful Algae*, 8(5), 645–650.
- Priyadarshini, M., Das, I., Ghangrekar, M. M., & Blaney, L. (2022). 'Advanced oxidation processes: Performance, advantages, and scale-up of emerging technologies'. *Journal of Environmental Management*, 316, 115295.
- Pryor, W.A. (1986). 'Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions'. *Annu. Rev. Physiol.*, 48, 657–667.
- Puerto, M., Jos, A., Pichardo, S., Moyano, R., Blanco, A., & Cameán, A.M. (2014). 'Acute exposure to pure cylindrospermopsin results in oxidative stress and pathological alterations in tilapia (*Oreochromis niloticus*)'. *Environmental toxicology*, 29(4), 371–385.
- Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C., & Niemelä, S. I. (1997). 'Variation of microcystins in *Anabaena* spp as a function of growth stimuli'. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6), 2206–2212.
- Restani, G. C., & Fonseca, A. L. (2014). 'Effects of *Cylindrospermopsis raciborskii* strains (Woloszynska, 1912) Senayya & Subba Raju on the mobility of *Daphnia laevis* (Cladocera, Daphniidae)'. *Brazilian Journal of Biology*, 74(1), 23–31.
- Rigg, T., Taylor, W., & Weiss, J. (1954). 'The rate constant of the reaction between hydrogen peroxide and ferrous ions'. *The Journal of Chemical Physics*, 22(4), 575–577.
- Rivas, F. J., Beltrán, F., Gimeno, O., & Carvalho, F. (2003). 'Fenton-like oxidation of landfill leachate'. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 38(2), 371–379.
- Roudi, A. M., Chelliapan, S., Wan Mohtar, W. H. M., & Kamyab, H. (2018). 'Prediction

- and optimization of the Fenton process for the treatment of landfill leachate using an artificial neural network'. *Water (Switzerland)*, 10(5), 595.
- Rush, J. D., & Bielski, B. H. J. (1986). 'Pulse Radiolysis Studies of Alkaline Fe(III) and Fe(VI) Solutions. Observation of Transient Iron Complexes with Intermediate Oxidation States'. *Journal of the American Chemical Society*, 108(3), 523–525.
- Schneider, M., Grossi, M. F., Gadara, D., Spáčil, Z., Babica, P., & Bláha, L. (2022). 'Treatment of cylindrospermopsin by hydroxyl and sulfate radicals: Does degradation equal detoxification?'. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127447.
- Schneider, M., & Bláha, L. (2020). 'Advanced oxidation processes for the removal of cyanobacterial toxins from drinking water'. *Environmental Sciences Europe*, 32(1), 1–24.
- Schopf, J., & Packer, B. (1987). 'Early Archean (3.3-billion to 3.5-billion-year-old) microfossils from Warrawoona Group, Australia'. *Science*, 237(4810), 70–73.
- Schopf, J. W., & Walter, M. R. (1982). 'Origin and early evolution of cyanobacteria: The geological evidence'. In Carr, N.G. and Whitton, B.A. (eds) *The Biology of Cyanobacteria*. University of California Press, 543–564.
- Sharma, L., & Mallick, N. (2005). 'Accumulation of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate in *Nostoc muscorum*: Regulation by pH, light-dark cycles, N and P status and carbon sources'. *Bioresource Technology*, 96(11), 1304–1310.
- Smith, V. H. (2003). 'Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems: A global problem'. *Environmental Science and Pollution Research*, 10(2), 126–139.
- Smith, V. H., Joye, S. B., & Howarth, R. W. (2006). 'Eutrophication of freshwater and marine ecosystems'. *Limnol. Oceanogr*, 51(2), 351–355.
- Song, W., Yan, S., Cooper, W. J., Dionysiou, D. D., & O'Shea, K. E. (2012). 'Hydroxyl radical oxidation of cylindrospermopsin (cyanobacterial toxin) and its role in the photochemical transformation'. *Environmental Science and Technology*, 46(22), 12608–12615.
- Tang, W. Z., & Huang, C. P. (1996). '2, 4-Dichlorophenol oxidation kinetics by Fenton's reagent'. *Environmental Technology*, 17(12), 1371–1378.
- Teixeira, M. R., & Rosa, M. J. (2006). 'Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*. Part I: The key operating conditions'. *Separation and Purification Technology*, 52(1), 84–94.
- Tekin, H., Bilkay, O., Ataberk, S. S., Balta, T. H., Ceribasi, I. H., Sanin, F. D., ... & Yetis, U. (2006). 'Use of Fenton oxidation to improve the biodegradability of a pharmaceutical

- wastewater'. *Journal of Hazardous Materials*, 136(2), 258–265.
- Thomas, E. A. (1969). 'The process of eutrophication in central european lakes', In *Eutrophication: Causes, Consequences, and Correctives*. Washington, D.C: National Academy of Sciences, 29–49.
- Turner, P. C., Gammie, A. J., Hollinrake, K., & Codd, G. A. (1990). 'Pneumonia associated with contact with cyanobacteria George'. *BMJ: British Medical Journal*, 300(6737), p. 1440.
- USEPA (2014) 'Cyanobacteria and Cyanotoxins: Information for Drinking Water Systems', EPA-810F11001.
- USEPA (2015). 'Method 545: Determination of cylindrospermopsin and natoxin-a in drinking water by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC/ESI-MS/MS )', EPA 815-R-15-009.
- Umar, M., Roddick, F., & Fan, L. (2016). 'Comparison of coagulation efficiency of aluminium and ferric-based coagulants as pre-treatment for UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment of wastewater RO concentrate'. *Chemical Engineering Journal*, 284(2016), 841–849.
- Vasquez-Medrano, R., Prato-Garcia, D., & Vedrenne, M. (2018). 'Ferrioxalate-mediated processes'. In *Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment*. Academic press, 89–113.
- Viollier, E., Inglett, P. W., Hunter, K., Roychoudhury, A. N., & Van Cappellen, P. (2000). 'The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters'. *Applied Geochemistry*, 15(6), 785–790.
- Vione, D., Merlo, F., Maurino, V., & Minero, C. (2004). 'Effect of humic acids on the Fenton degradation of phenol'. *Environmental Chemistry Letters*, 2(3), 129–133.
- Visser, P. M., Verspagen, J. M., Sandrini, G., Stal, L. J., Matthijs, H. C., Davis, T. W., ... & Huisman, J. (2016). 'How rising CO<sub>2</sub> and global warming may stimulate harmful cyanobacterial blooms'. *Harmful Algae*, 54, 145–159.
- Walling, C., & Goosen, A. (1973). 'Mechanism of the Ferric Ion Catalyzed Decomposition of Hydrogen Peroxide. Effect of Organic Substrates'. *Journal of the American Chemical Society*, 95(9), 2987–2991.
- Westrick, J. A., Szlag, D. C., Southwell, B. J., & Sinclair, J. (2010). 'A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/ inactivation in drinking water treatment'. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397(5), 1705-1714..
- Whitton, B. A. (2012). *Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time*, *Ecology of Cyanobacteria II*. Springer Science & Business Media.



- Wimmer, K. M., Strangman, W. K., & Wright, J. L. C. (2014). '7-Deoxy-desulfo-cylindrospermopsin and 7-deoxy-desulfo-12-acetylcylindrospermopsin: Two new cylindrospermopsin analogs isolated from a Thai strain of *Cylindrospermopsis raciborskii*'. *Harmful Algae*, 37, 203–206.
- Wood, S. A., Rasmussen, J. P., Holland, P. T., Campbell, R., & Crowe, A. L. (2007). 'First Report of the Cyanotoxin Anatoxin-a From *Aphanizomenon Issatschenkoii* (Cyanobacteria)'. *Journal of Phycology*, 43(2), 356–365.
- OMS, Organização Mundial da Saúde (2003). 'Guidelines for safe recreational water environments'. *OMS*, 1, 118–127.
- OMS, Organização Mundial da Saúde (2020). 'Cyanobacterial toxins: *Cylindrospermopsins*. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality and Guidelines for Safe Recreational Water Environments'. *OMS*, 1, 1–39.
- Xu, M., Wu, C., & Zhou, Y. (2020). 'Advancements in the Fenton Process for Wastewater Treatment'. In *Advanced Oxidation Processes - Applications, Trends, and Prospects*, 61.
- Zagatto, P. A., Buratini, S. V., Aragão, M. A., & Ferrão-Filho, A. S. (2012). 'Neurotoxicity of two *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) strains to mice, *Daphnia*, and fish'. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(4), 857–862.
- Zhang, G., Wurtzler, E. M., He, X., Nadagouda, M. N., O'Shea, K., El-Sheikh, S. M., ... & Dionysiou, D. D. (2015). 'Identification of TiO<sub>2</sub> photocatalytic destruction byproducts and reaction pathway of cylindrospermopsin'. *Applied Catalysis B: Environmental*, 163, 591–598.
- Zhang, H., Heung, J. C., & Huang, C. P. (2005). 'Optimization of Fenton process for the treatment of landfill leachate'. *Journal of Hazardous Materials*, 125(1–3), 166–174.
- Zhong, Y., Jin, X., Qiao, R., Qi, X., & Zhuang, Y. (2009). 'Destruction of microcystin-RR by Fenton oxidation'. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1–3), 1114–1118.