



LUIS AUGUSTO VISANI DE LUNA

**“ECOTOXICIDADE DE CORANTES E DE PRODUTOS  
DE TRATAMENTO OXIDATIVO AVANÇADO”**

***“ECOTOXICITY OF DYES AND THEIR PRODUCTS  
GENERATED BY ADVANCED OXIDATIVE  
TREATMENT”***

LIMEIRA

2012





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE TECNOLOGIA – FT**

**LUIS AUGUSTO VISANI DE LUNA**

**“ECOTOXICIDADE DE CORANTES E DE PRODUTOS DE  
TRATAMENTO OXIDATIVO AVANÇADO”**

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gisela de Aragão Umbuzeiro

Co – orientador: Prof. Dr. Fábio Kummrow

***“ECOTOXICITY OF DYES AND THEIR PRODUCTS GENERATED BY  
ADVANCED OXIDATIVE TREATMENT”***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia da Faculdade de Tecnologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Tecnologia.

Master degree dissertation presented to the graduate studies program of Faculty of Technology of the University of Campinas to obtain the master grade in Technology.

**LIMEIRA**

**2012**

iii

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR VANESSA EVELYN COSTA  
CRB-8/8295

BIBLIOTECA UNIFICADA FT/CTL UNICAMP

Luna, Luis Augusto Visani de, 1985-  
L971e Ecotoxicidade de corantes e de produtos de tratamento  
oxidativo avançado / Luis Augusto Visani de Luna. –  
Limeira, SP : [s.n.], 2012.

Orientador: Gisela de Aragão Umbuzeiro.

Coorientador: Fábio Kummrow.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de  
Campinas, Faculdade de Tecnologia.

1. Ambiente aquático. 2. Corantes. 3. Fenton.  
4. Ecotoxicidade. I. Umbuzeiro, Gisela de Aragão.  
II. Kummrow, Fábio. III. Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Tecnologia. IV. Título.

Título em inglês: Ecotoxicity of dyes and their products generated by advanced  
oxidative treatment

Palavras-chave em inglês (Keywords):

1- Aquatic environment

2- Dyes

3- Fenton

4- Ecotoxicity

Área de concentração: Tecnologia e Inovação

Titulação: Mestre em Tecnologia

Banca examinadora: Gisela de Aragão Umbuzeiro, Raquel Fernandes Pupo Nogueira,  
Marta Siviero Guilherme Pires

Data da Defesa: 03-12-2012

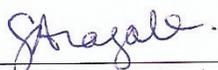
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: TECNOLOGIA E INOVAÇÃO**

**ECOTOXICIDADE DE CORANTES E DE PRODUTOS DE TRATAMENTO  
OXIDATIVO AVANÇADO**

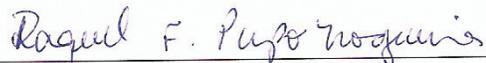
**Autor:** Luis Augusto Visani de Luna

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:



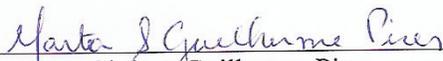
---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Presidente Gisela de Aragão Umbuzeiro  
Unidade: FT/UNICAMP



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Fernandes Pupo Nogueira  
Unidade: Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista/IQ-UNESP-Araraquara



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Siviero Guilherme Pires  
Unidade: FT/UNICAMP

*Dedico este trabalho aos meus pais e a Deus*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gisela de Aragão Umbuzeiro pela oportunidade de realização deste trabalho e por todo o empenho e dedicação aos alunos, sempre lutando por um ensino científico de qualidade. Agradeço também ao Prof. Dr. Fábio Kummrow pela co - orientação e todo o apoio para a realização deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Pupo Nogueira e ao aluno de Mestrado Thiago Henrique Gomes da Silva por toda a contribuição presente neste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Valnice Boldrin Zanoni pela concessão da bolsa de treinamento técnico e por todo o apoio prestado para a realização deste trabalho.

Agradeço à toda a equipe do LEAL – FT e aos meus colegas de pós-graduação pelo apoio e pelo companheirismo.

À FAPESP pelo financiamento concedido para a realização desta pesquisa e para o meu aperfeiçoamento profissional.

# RESUMO

---

Corantes possuem uma grande diversidade de estruturas e aplicações, estando presentes em diversos setores industriais. Os corantes podem contaminar os ambientes aquáticos após os despejos de efluentes de indústrias têxteis, de alimentos, de curtumes e até mesmo de lavanderias. Muitos corantes apresentam elevada toxicidade para organismos aquáticos, no entanto processos de tratamento de efluentes contendo corantes estão sendo desenvolvidos no intuito de impedir seu ingresso no ambiente, e dentre eles estão os processos oxidativos avançados. No presente estudo, foi avaliada a toxicidade de corantes têxteis e alimentícios para organismos aquáticos, antes e após o tratamento oxidativo avançado foto-Fenton. Foram realizados testes de toxicidade com *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Pseudokirchneriella subcapitata*. A partir dos dados obtidos nos ensaios de toxicidade com os produtos comerciais os corante têxteis foram considerados os mais tóxicos, em especial o corante C.I. Vat Green 3. Para os ensaios com os produtos de degradação gerados, o tratamento do corante C.I. Acid Orange 7 gerou intermediários tóxicos para *D. similis*, no entanto ao final do tratamento não foi observada toxicidade. Após o tratamento do corante C.I. Reactive Black 5 foi observada toxicidade para *P. subcapitata*, sendo esta maior que a toxicidade para o produto comercial. No início do tratamento do corante C.I. Vat Green 3 ocorreu uma redução da toxicidade para *D. similis* e para *P. subcapitata* em relação ao produto comercial, contudo no final do tratamento a toxicidade observada foi maior que a do produto comercial para ambos os organismos. Considerando os corantes alimentícios, para o C.I. Food Yellow 3 tratado não foi observada toxicidade para *D. similis* nas concentrações estudadas, no entanto para *P. subcapitata* foi observado toxicidade ao final do tratamento. O corante C.I. Food Red 17 foi tóxico no início do tratamento tanto para *D. similis*, quanto para *P. subcapitata*, mas no fim do tratamento não foi mais observada toxicidade.

**Palavras-chave:** ambiente aquático, corantes, Fenton, ecotoxicidade

# ABSTRACT

---

Dyes have a wide diversity of structures and uses, and then these substances are present in many industrial sectors. Dyes also can be found as contaminants in aquatic environments after wastewater discharge of textile industries, food industries, tanneries and laundries. Many dyes can be toxic to aquatic organisms. Several treatments have been proposed to remove dyes from effluents preventing the surface water contamination and one of the most promising tools are the advanced oxidative treatments. The aim of this study was to assess the toxicity of textile and food dyes to aquatic organisms, before and after photo – Fenton. We employed tests with the freshwater organisms, *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* and *Pseudokirchneriella subcapitata*. The dye C.I. Vat green 3 was considered the most toxic dye among the commercial dyes tested in this study. Taking into account the treatment of the commercial products and the toxicity tests, the treatment of C.I. Acid Orange 7 generated toxic intermediates for *D. similis*, but at the end of the treatment no toxicity was observed. After the C.I. Reactive Black 5 treatment greater toxicity was observed to *P. subcapitata* in comparison with the commercial dye toxicity. At the beginning of the C.I. Vat Green 3 treatment the toxicity was lower than the commercial dye to *D. similis* and *P. subcapitata*, but at the end of the treatment the toxicity was higher than the commercial dye for both organisms. For the food dye C.I. Food Yellow 3 treated, was not observed toxicity for *D. similis*, but at the end of the treatment toxicity was observed for *P. subcapitata*. The dye C.I. Food Red 17 was toxic to *D. similis* and *P. subcapitata* at the beginning of the treatment, but at the end of the treatment no toxicity was observed.

**Keywords:** aquatic environment, dyes, Fenton, ecotoxicity,

# SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	3
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
3.1 Corantes, classificação das moléculas e usos .....	4
3.2 Presença de corantes no ambiente aquático e estudos de ecotoxicidade .....	6
3.3 Degradação de corantes por POA e ecotoxicidade dos produtos de degradação .....	9
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	12
4.1 Corantes selecionados para avaliação ecotoxicológica .....	12
4.2 Preparo das soluções para os testes de toxicidade com os produtos comerciais .....	13
4.3 Cultivos dos organismos e testes de ecotoxicidade .....	13
4.3.1 Teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> .....	14
4.3.2 Testes de toxicidade crônica com <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....	14
4.3.3 Testes de toxicidade crônica com a alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	15
4.4 Interpretação dos resultados e análise estatística .....	15
4.5 Controle de sensibilidade dos organismos por meio de Carta – controle .....	16
4.6 Classificação de periculosidade dos corantes comerciais .....	16
4.7 Degradação dos corantes pelo processo oxidativo foto – Fenton.....	17
4.7.1 Preparo das diluições dos corantes comerciais para os ensaios de degradação.....	17
4.7.2 Reator e reagentes utilizados no tratamento .....	17

4.7.3 Análise da concentração do corante e sua mineralização no efluente pós-tratamento.....	18
4.8 Testes de toxicidade com os efluentes gerados após o tratamento dos corantes .....	18
4.8.1 Toxicidade da solução contendo os reagentes utilizados para o tratamento dos corantes .....	19
4.9 Gerenciamento dos Resíduos.....	19
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>20</b>
5.1 Toxicidade aguda e crônica para os corantes comerciais.....	20
5.1.2 Interferência de substâncias coloridas nos testes de toxicidade com alga	21
5.1.3 Hidrofobicidade de corantes e ensaios de toxicidade com alga .....	21
5.2 Toxicidade dos corantes tratados pelo foto – Fenton.....	22
5.2.1 Toxicidade do corante tratado C.I. Acid Orange 7 .....	22
5.2.2 Toxicidade do corante tratado C.I. Reactive Black 5 .....	24
5.2.3 Toxicidade do corante tratado C.I. Vat Green 3.....	25
5.2.4 Toxicidade do corante tratado C.I. Food Yellow 3 .....	27
5.2.5 Toxicidade do corante tratado do C.I. Food Red 17 .....	29
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>33</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>34</b>
<b>ANEXO I. Cartas – controle dos organismos-teste .....</b>	<b>44</b>

# INTRODUÇÃO

---

A poluição dos ambientes aquáticos está entre os principais e mais preocupantes problemas do mundo moderno. Os corantes se enquadram na categoria de poluentes emergentes, categoria esta, definida como qualquer substância química que não foi incluída em programas de monitoramento, nem em legislação pertinente a qualidade ambiental. No entanto, estas substâncias estão sendo introduzidas no ambiente constantemente (HORVAT et al., 2012), e os corantes estão em crescente destaque.

Corantes podem ser definidos como substâncias coloridas que quando aplicadas a um material, lhe conferem cor. Corantes sintéticos são compostos orgânicos extensivamente usados em diversas áreas, dentre as quais podemos destacar a indústria têxtil, farmacêutica, de cosméticos, plásticos, de couros, fotográfica, automobilística, de papel e alimentícia (GUARANTINI e ZANONI, 2000). A enorme popularidade dos corantes sintéticos é justificada pelo seu menor custo e infinita possibilidade de síntese com grupos cromóforos. Estes grupos presentes na molécula do corante são responsáveis por conferir determinada cor à substância (ZOLLINGER, 1991). Os corantes podem ser classificados de acordo com sua estrutura química, seu uso, seu método de aplicação e sua coloração. O uso e o método de aplicação são os principais sistemas adotados pelo Índice de Cores, C.I., do inglês, *Color Index*, (HUNGER, 2003).

Em relação ao mercado global de corantes, pigmentos e intermediários, em 2005 o segmento movimentou cerca de 23 bilhões de dólares, em um montante de 34 milhões de toneladas. No Brasil, houve um aumento de 180% na importação no período que compreende anos de 2002 a 2007 (ABIQUIM, 2010). Com o aumento da demanda de corantes pelos mais variados ramos da indústria, o setor têxtil merece destaque; visto que aproximadamente 10-15% dos corantes são liberados para o ambiente durante o processo de tingimento de diferentes substratos. Estes valores podem variar de acordo com o processo de tingimento e o tipo de corante; no caso de corante diretos e reativos a perda pode ser superior a 30% (OECD, 2004).

O ramo das indústrias alimentícias também merece destaque pois está entre as indústrias que mais consomem corantes sintéticos. As indústrias de bebidas produzem grandes volumes de efluentes líquidos contendo corantes, e estes podem atingir o ambiente aquático (CETESB, 2005). Nos Estados Unidos, 90% da produção de corantes corresponde a apenas três corantes (C.I. Food Red 17, C.I. Food Yellow 3 e C.I. Food Yellow 4). Estes corantes são utilizados em indústrias de alimentos, medicamentos e cosméticos. Estudos afirmam que tais corantes podem não ser metabolizados pelos seres humanos, sendo assim encontrados nas fezes e na urina de forma inalterada, podendo a sua excreção ser uma importante via de introdução nos ambientes aquáticos (KOBYLEWSKI e JACOBSON, 2010). O lançamento destes compostos no ambiente aquático, mesmo em baixas concentrações, pode interferir na penetração de luz, inibindo a fotossíntese além de causar outros efeitos deletérios para os organismos aquáticos. Águas residuárias contendo despejos de corantes podem ser tratadas por estações de tratamento de esgoto; no entanto muitas destas estações apresentam baixa eficiência na remoção de corantes (CARNEIRO et al., 2010; LIMA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2006; UMBUZEIRO et al., 2005).

No Brasil a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA n° 430, (BRASIL, 2011) dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Neste contexto, efluentes a serem lançados em ambiente aquático não devem causar ou possuir potenciais efeitos tóxicos para os seus organismos. No entanto, tratamentos do tipo “lodos ativados” e “cloração” de efluentes contendo corantes podem remover a cor, mas também gerar produtos de degradação de maior toxicidade que os corantes originalmente presentes, tais como compostos fenílicos (PBTA – fenilbenzotriazóis) e as aminas aromáticas, reconhecidamente mutagênicas (KUMMROW e UMBUZEIRO, 2008).

Técnicas para o tratamento de efluentes contendo corantes estão sendo desenvolvidas na tentativa de minimizar o impacto destas substâncias no ambiente. Os processos oxidativos avançados (POA) são tratamentos capazes de gerar radicais oxidativos e promover a degradação dos corantes e a remoção da cor. Tal como a remoção da cor, é importante remover a toxicidade, e que, caso intermediários mais tóxicos sejam gerados, estes também devem ser degradados (REIFE e FREEMAN, 1996, ZANONI, et al., 2003, OSUGI, et al., 2005).

# OBJETIVOS

---

Caracterizar a toxicidade aguda e crônica de corantes têxteis e alimentícios, bem como avaliar a eficiência do tratamento foto-Fenton na remoção da toxicidade desses corantes para organismos-teste de água doce.

# 3. REVISÃO DE LITERATURA

## 3.1 Corantes, classificação das moléculas e usos

O Quadro 1 apresenta a classificação dos corantes têxteis e sua aplicação de acordo com os diferentes tipos de fibra.

**Quadro 1.** Classificação e usos dos corantes têxteis

Tipo de Fibra	Celulósica					Protéica		Artificiais	Poliamídicas			Poliésteres		Poliacrílicas		
	Direto	Enxofre	Naftol	Vat	Reativo	Ácido	Mordente	Disperso	Ácido	Disperso	Catiónico	Disperso	Catiónico	Ácido	Disperso	Catiónico
Classe Química	Nitroso															
	Nitro															
	Azo															
	Azóico															
	Estilbeno															
	Carotenóide															
	Triarilmetano															
	Xanteno															
	Acridina															
	Quinolina															
	Metina															
	Tiazol															
	Azina															
	Oxizina															
	Tiazina															
	Sulfurozo															
	Antraquinona															
	Indigóide															
Ftalocianina																

Fonte: Modificado do Colour Index.

Em relação as indústrias de alimentos, cosméticos e medicamentos, dos 700 corantes sintéticos antes utilizados nos Estados Unidos, restaram apenas sete corantes (DOWNHAW e COLLINS, 2000). No Brasil, conforme Resolução n° 387, de 05/8/1999, imposta pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), permite-se o uso de onze corantes artificiais em produtos alimentícios (MARMITT et al.,

2010), no entanto cosméticos e medicamentos contendo corantes também são comercializados e consumidos no país. De acordo com a base de dados do Colour Index, (2011) existem mais de 27.000 corantes e pigmentos catalogados, mas segundo Santos et al., (2007), é estimada a existência de mais de 100.000 corantes comerciais. A Tabela 1 apresenta os corantes utilizados nas indústrias alimentícias do Brasil e nas demais indústrias dos Estados Unidos.

**Tabela 1.** Classificação e tipos dos corantes utilizados nas indústrias de alimentos e demais indústrias no Brasil e nos Estados Unidos.

Classificação de corantes	Tipos de corantes		
Corante orgânico natural (Obtido de origem animal ou vegetal)	Pigmentos porfirínicos (clorofila), Flavonóides: (antocianinas), Carotenóides ( $\beta$ – caroteno, licopeno), Quinonas (carmim)		
Corante orgânico Sintético (obtido de síntese química)	Permitidos pela legislação brasileira para indústria de alimentos	FDA (*)	Nome comum
	C.I. Food Yellow 3	FD&C Yellow n° 6	Amarelo crepúsculo
	C.I. Food Red 17	FD&C Red n° 40	Vermelho 40
	C.I. Food Blue 1	FD&C Blue n° 2	Azul Indigotina
	C.I. Food Red 14	FD&C Red n° 3	Eritrosina
	C.I. Food Yellow 4	FD&C Yellow n° 5	Tartrazina
	C.I. Food Red 7	-	Ponceu 4R
	C.I. Food Red 2	-	Amaranto
	C.I. Food Blue 5	-	Azul patente V
	C.I. Food Green 3	FD&C Green n° 3	Verde rápido
	C.I. Food Blue 2	FD&C Blue n° 1	Azul birlhante
C.I. Food Red 3	-	Azorrubina	

(\*) FD&C – Food, Drugs & Cosmetics, corantes sintéticos aprovados pelo FDA (U.S. Food and Drug Administration) nos Estados Unidos para uso em alimentos, fármacos e cosméticos. **Fonte:** Institute for Agriculture and Trade Policy (IATP), 2009.

### **3.2 Presença de corantes no ambiente aquático e estudos de ecotoxicidade**

A complexidade das moléculas de corantes sintéticos os torna resistentes à degradação ambiental. Sua estrutura molecular pode conter grupos de amidas aromáticas complexas com grupos alquila, halogênios, hidroxilas, ácidos sulfônicos e sais inorgânicos de sódio (SOON e HAMEED, 2011).

A partir de atividades de monitoramento no Ribeirão dos Cristais, localizada na região metropolitana de São Paulo, e utilizado para abastecimento público, foi observada elevada atividade mutagênica das amostras coletadas. Foram avaliadas amostras de efluente de uma indústria têxtil e de uma de galvanoplastia que lançam seus efluentes no rio. Também foram analisadas amostras de sedimento e de água. Nas amostras com atividade mutagênica foram identificados corantes e aminas aromáticas, amplamente utilizadas na produção de corantes têxteis (UMBUZEIRO et al., 2004). Em 2005, Umbuzeiro et al., mostraram a contribuição de um corante preto comercial na mutagenicidade das águas do Ribeirão dos Cristais. Os autores descobriram que o produto comercial era composto de três corantes C.I. Disperse Blue 373, C.I. Disperse Orange 37 e o C.I. Disperse Violet 93.

Estes corantes apresentaram resultados positivos nos ensaios de mutagenicidade *Salmonella/microsoma* e foram detectados nas águas do rio. No mesmo trabalho os autores realizaram ensaios de mutagenicidade com os extratos obtidos das amostras de lodo de uma estação de tratamento de água localizada depois do ponto de despejo dos efluentes e descobriram que 50% da mutagenicidade detectada nesse lodo era devido a presença do corante C.I. Disperse Blue 373. Apesar da existência comprovada de muitos corantes em águas superficiais existem poucos dados disponíveis na literatura sobre a toxicidade destas substâncias para os organismos aquáticos. Na Tabela 2 estão resumidos trabalhos realizados com corantes, em sua maioria têxteis.

**Tabela 2.** Resumo de referências sobre ensaios ecotoxicológicos e corantes.

Corante (C.I.)	Pureza	Tipo	Aplicação	Teste de Toxicidade	Resultados	Referências
Basic Red 14, Reactive Red 141	Comercial	azo	Têxtil	Toxicidade aguda p/ <i>Moina macropora</i> e Inibição de crescimento p/ <i>Chlorella sp</i>	Basic Red 14 – CE50 – 96h <i>Chlorella</i> = 10,8 mg L <sup>-1</sup> , CL50 – 48h <i>Moina macropora</i> = 4,9 mg L <sup>-1</sup> . Reactive Red 141 – CE50 – 96h <i>Chlorella</i> = 95,5 mg L <sup>-1</sup> CL50 – 48h <i>Moina macropora</i> = 18,2 mg L <sup>-1</sup>	VINITNANTHARAT et al., 2008
Disperse Red 1 Disperse Red 13	Puro	azo	Têxtil	Toxicidade aguda p/ <i>D. similis</i>	Disperse Red 1 – CE50 – 48h = 127 ug L <sup>-1</sup> Disperse Red 13 – CE50 = 18 ug L <sup>-1</sup>	FERRAZ et al., 2010
Disperse Red 1	Comercial	azo	Têxtil	Toxicidade aguda p/ <i>D. similis</i> , <i>H. attenuata</i> . Teste de mutagenicidade <i>Salmonella</i> /microsome	Ensaio com frações separadas do corante comercial e após a cloração do corante comercial. A fração – Disperse Red 1 → maior toxicidade p/ <i>D. similis</i> . Após a cloração do corante comercial a toxicidade foi reduzida p/ <i>D. similis</i> e aumentou p/ <i>Hydra attenuata</i> , também foi evidenciada maior mutagenicidade no ensaio <i>Salmonella</i> .	VACCHI et al., 2013
HC Orange 1	Puro	Fenol	Cabelo	Toxicidade aguda p/ <i>D. magna</i> , <i>Danio rerio</i> e <i>Carassius auratus</i> , e testes de embrião para os peixes	O Orange 1 apresentou toxicidade para os três organismos. CE50 – <i>D. magna</i> = 1,5 mg L <sup>-1</sup> , para os peixes o menor valor de CL50 obtido foi para <i>D. rerio</i> (4 mg L <sup>-1</sup> )*	LIU et al., 2007
Direct Blue 218	Puro	azo	Têxtil	Toxicidade aguda p/ <i>D. magna</i>	A CE50 foi de 3,6 mg L <sup>-1</sup>	BAE et al., 2006
						<b>Continua na próxima página</b>

Continuação						
Reactive Orange 16 Direct Red 28	Puro	azo	Têxtil	Teste de bioluminescência p/ <i>Vibrio fischeri</i> , Inibição de crescimento p/ <i>P. subcapitata</i> e Inibição de reprodução para o protozoário <i>Tetrahymena</i> <i>pyriformis</i> , Teste de Ames	Nos ensaios com <i>V. fischeri</i> os valores de CI50 estiveram acima de 1000 mg L <sup>-1</sup> para os azo corantes e acima de 300 mg L <sup>-1</sup> para os corantes de antraquinona. Nos ensaios com alga o Disperse Blue 3 foi o mais tóxico apresentando CI50 de 0,5 mg L <sup>-1</sup> . **	NOVOTNY' et al., 2006
Reactive Blue 19 Disperse Blue 3	Puro	antraquinona				

\* O corante HC Orange 1 causou disfunções comportamentais nos peixes, tais como natação errática e perda de equilíbrio. Nos ensaios de teste de sucesso de eclosão com os embriões de *Danio rerio* a CE50 obtida foi de 0,19 mg L<sup>-1</sup>.

\*\* Para o protozoário o corante Disperse Blue 3 inibiu a reprodução dos indivíduos. No Teste de Ames os corantes Reactive Orange 16 e Disperse Blue 3 apresentaram atividade mutagênica, no entanto apenas o corante Reactive Orange 16 apresentou mutagenicidade com e sem ativação metabólica. O corante Disperse Blue 3 foi considerado o mais tóxico pelos autores.

### 3.3 Degradação de corantes por POA e ecotoxicidade dos produtos de degradação

Os corantes azo não são removidos por tratamentos biológicos convencionais, conforme observado por Robinson, (2001). Processos de tratamento baseados na biodegradação aeróbia, como os lodos ativados e consórcios de bactérias promovem reações de redução nos azo corantes, mas são incapazes de mineralizá-los. Ganesh, (1994) observou que em processos de lodo ativado ocorria a formação de aminas aromáticas, após a clivagem redutiva do corante C.I. Reactive Black 5.

As estações de tratamento de água utilizam a cloração como método de desinfecção, porém, podem ser gerados derivados clorados de elevada toxicidade. Em estudo sobre a cloração de corantes Oliveira et al., (2006), foi observado um aumento da atividade mutagênica no teste *Salmonella/microsoma* após a cloração de um corante comercial preto composto de três corantes dispersos; C.I. Disperse Orange 37, C.I. Disperse Violet 93 e o C.I. Disperse Blue 373. Ainda sobre estudos sobre cloração de corantes e efluentes contendo corantes, Vacchi et al., (2013) observaram em testes de eco/genotoxicidade que a cloração do corante C.I. Disperse Red 1 produzia compostos aromáticos clorados mais tóxicos que o corante em si. Os POA são possivelmente um dos mais efetivos métodos de tratamento de efluentes contendo substâncias orgânicas. Dentre os POA, o foto-Fenton está entre os processos oxidativos mais utilizados devido ao seu baixo custo, sua simplicidade e capacidade de mineralização de substâncias recalcitrantes. Este processo utiliza de  $Fe^{2+}$ , radiação UV artificial ou solar e  $H_2O_2$  (POYATOS et al., 2010). Estão descritas abaixo as reações envolvidas no POA foto-Fenton responsáveis por gerar radicais de elevado poder de oxidação (MAEZONO et al., 2011).



De acordo com Rizzo, (2011) os POA têm sido amplamente utilizados para a remoção de contaminantes orgânicos assim como para melhorar a biodegradabilidade de efluentes industriais. No entanto, a oxidação parcial desses

contaminantes pode resultar na formação de intermediários de maior toxicidade. Para evitar esta desvantagem, os POA estão sendo realizados com acompanhamento de testes de toxicidade, permitindo assim uma avaliação integrada da qualidade do efluente gerado. O autor realça que a escolha do organismo-teste a ser utilizado nos bioensaios deve levar em conta o destino final da matriz gerada. Estão apresentados na Tabela 3 referências de estudos envolvendo tratamento de corantes e efluentes industriais contendo corantes por POA.

**Tabela 3.** Resumo de referências sobre tratamento de corantes por POA e ensaios ecotoxicológicos com os produtos de degradação.

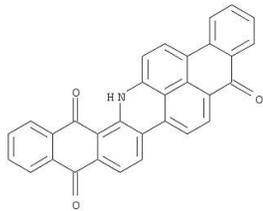
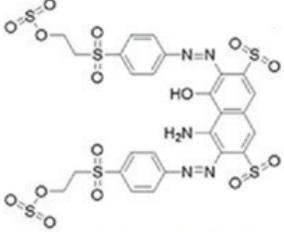
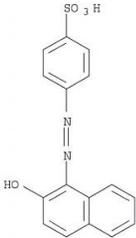
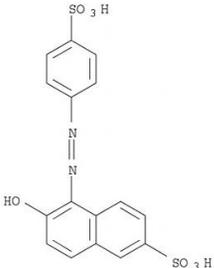
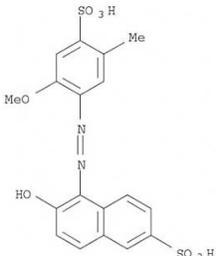
Amostra	Tipo	Característica	POA	Teste de Toxicidade	Resultados	Referências
Efluente industrial	-	Têxtil	Radiação UV-A e Peróxido de hidrogênio	Toxicidade aguda p/ <i>Daphnia magna</i> Micronúcleo para o peixe <i>Tilapia rendalli</i>	CE50 p/ <i>D. magna</i> de 27% para o efluente bruto e após o tratamento o efluente foi não tóxico.  Para o peixe, o efluente bruto foi tóxico não sendo possível avaliar a frequência de micronúcleos e após o tratamento não foi tóxico e não foi observada a presença de micronúcleos.	NAGEL-HASSEMER et al., 2011
C.I. Acid Red 183 C.I. Acid Orange 51 C.I. Reactive Blue 4	Azo metalizado (Cr) Azo Antraquinona	Têxtil	Fenton	Inibição de atividade de bactérias em sistema de tratamento biológico	O tratamento foi considerado efetivo na remoção de cor, do carbono orgânico dissolvido e na demanda química de oxigênio. Os produtos de degradação não apresentaram efeitos inibitórios nos processos anaeróbio e aeróbio do sistema de tratamento biológico	ARSLAN-ALATON et al., 2008
C.I. Reactive Black 5	Azo	Têxtil	Ozonização	Teste de bioluminescência com <i>Vibrio fischeri</i> e citotoxicidade (Neutral Red)	Para ambos os ensaios foi observada uma elevação da toxicidade no início do tratamento. A toxicidade foi removida ao final do tratamento.	WANG et al., 2003
C.I. Acid Red 151 C.I. Acid Orange 7 C.I. Acid Blue 113	Azo Azo Azo	Têxtil	foto-Fenton com radiação solar	Teste de bioluminescência com <i>Vibrio fischeri</i>	Dentre as diferentes estratégias para a degradação do corante e a remoção da toxicidade, a dosagem contínua de peróxido e Fe foram as melhores opções para maior degradabilidade do corante (< 90%) e remoção completa da toxicidade.	PRATO-GARCIA e BUITRÓN, 2012
C.I. Reactive Blue 19 C.I. Acid Black 1	Antraquinona Azo	Têxtil	Fenton e Fe0/ar	Teste de bioluminescência com <i>Vibrio fischeri</i>	No processo Fenton, o corante de antraquinona foi mais difícil de ser degradado em relação ao azo e uma maior dose de peróxido foi necessário para sua descoloração. O efluente do tratamento Fenton do corante de antraquinona foi tóxico para o <i>Vibrio</i> . Para o tratamento Fe0/ar o efluente resultante não foi tóxico.  No tratamento Fenton para o corante azo a toxicidade do efluente foi associada a amins aromáticas e compostos fenólicos gerados. Não foi possível determinar a toxicidade do efluente após o tratamento Fe0/ar do corante azo devido a interferência da cor.	CHANG et al., 2009

# 4. MATERIAL E MÉTODOS

## 4.1 Corantes selecionados para avaliação ecotoxicológica

O corantes têxteis selecionados foram o C.I. Vat Green 3, C.I. Reactive Black 5 e o C.I. Acid Orange 7. Os corantes alimentícios selecionados foram o C.I. Food Yellow 3 e o C.I. Food Red 17 (Quadro 2).

**Quadro 2.** Características químicas dos corantes selecionados para a avaliação ecotoxicológica e para os tratamentos por POA.

Corante	C.I. Vat Green 3	C.I. Reactive Black 5	C.I. Acid Orange 7	C.I. Food Yellow 3	C.I. Food Red 17
Nome comum	Indanthren Olive Green	Remazol Black	Orange II	Sunset yellow	Allura Red Ac
Estrutura					
CAS	3271-76-9	17095-24-8	633-96-5	2783-94-0	25956-17-6
Tipo	Vat	Azo	Azo	Azo	Azo
Pureza (%)	55	55	85	90	80

O corante C.I. Vat Green 3 foi sedido pela DyStar<sup>®</sup>, sendo este um produto comercial, o Indantreno Verde Oliva. Os demais corantes foram comercializados da Sigma – Aldrich<sup>®</sup>.

## 4.2 Preparo das soluções para os testes de toxicidade com os produtos comerciais

Para a avaliação da toxicidade dos produtos comerciais foram preparadas soluções estoque de cada corante em balões volumétricos de 100 mL. A massa dos corantes foi pesada em balança analítica (Marconi Mod. AL500C) e foi adicionada ao balão, posteriormente foi adicionada água deionizada. Para *D.similis*, a partir da solução estoque foram realizadas diluições em água de cultivo (água mineral com dureza reconstituída para 44,0 mg L<sup>-1</sup>) e foram obtidas as concentrações do teste. Quando necessário foram realizados testes com concentrações logarítmicas para a determinação da melhor faixa de concentrações para o teste definitivo. Para *C. dubia*, a partir da solução estoque foram realizadas diluições em água deionizada, previamente aerada por 24 h, e com dureza reconstituída para 44,0 mg L<sup>-1</sup>. Para a alga, as concentrações do teste foram obtidas a partir da diluição da solução estoque em tubos de 2 mL do tipo Eppendorf® e posteriormente estes volumes foram adicionados aos poços da microplaca.

## 4.3 Cultivos dos organismos e testes de ecotoxicidade

Os testes de toxicidade com os corantes e com os produtos gerados durante o tratamento por POA foram realizados no laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental “Prof. Dr. Abílio Lopes (LEAL)” da Faculdade de Tecnologia da UNICAMP. Este laboratório participa regularmente de programas interlaboratoriais e tem resultados satisfatórios. Os organismos escolhidos para os testes são apresentados na Figura 1.



**Figura 1.** Organismos utilizados nos ensaios ecotoxicológicos. Microcrustáceos (A) *Daphnia similis*, (B) *Ceriodaphnia dubia*, (C) *Pseudokirchneriella subcapitata*. Fonte: Environment Canada.

#### **4.3.1 Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis***

O cultivo do microcrustáceo *D. similis* e os testes de toxicidade aguda foram realizados de acordo com a norma técnica ABNT NBR 12713 (2009). Neonatos (6–24 h) foram expostos a pelo menos cinco concentrações dos corantes e dos produtos de degradação após tratamento por POA, por um período de 48 h, sem alimentação, sem renovação da solução e sem fotoperíodo. A avaliação foi realizada ao final do período de exposição, observando a imobilidade dos organismos. Os recipientes–testes utilizados foram tubos plásticos transparentes de 15 mL com tampa de rosca do tipo Falcon™. Em cada recipiente foram colocados cinco organismos e os testes foram realizados em quadruplicata, com as concentrações determinadas mais o controle negativo, sem adição do corante. Os testes foram considerados validados quando a porcentagem dos organismos imóveis no controle negativo não excedeu 10% , o pH esteve entre 5,0 e 9,0 e a concentração do oxigênio maior ou igual a 1,0 mg L<sup>-1</sup>. Os recipientes–testes foram acondicionados em incubadoras com temperatura entre 18 e 22 °C.

#### **4.3.2 Testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia***

O cultivo do microcrustáceo *C. dubia* e a realização dos testes de toxicidade crônica foram conduzidos de acordo com a norma técnica ABNT NBR 13373 (2010). Neonatos com idade entre 6 e 24 h foram expostos a pelo menos cinco concentrações dos corantes por um período de até oito dias, com alimentação (alimento composto e alga) e renovação (10 mL) da solução teste a cada 48 h. Os recipientes–testes utilizados foram potes plásticos descartáveis, transparentes, de 80 mL e com tampa de rosca. Cada recipiente recebeu um organismo e os testes foram realizados com 10 repetições. As avaliações foram realizadas a cada 48 h observando a sobrevivência do organismo e a avaliação de sua capacidade de reprodução. Para a validação dos testes a mortalidade dos organismos adultos no controle negativo não pôde exceder 20 % e um número médio de organismos jovens produzidos por fêmea no controle igual ou maior que 15. O pH deve estar entre 5,0 e 9,0 e o oxigênio maior ou igual a 3,0 mg L<sup>-1</sup>. Os recipientes–testes foram acondicionados em incubadora com fotoperíodo, e temperatura entre 23 e 27°C e fotoperíodo de 16 h de luz.

### **4.3.3 Testes de toxicidade crônica com a alga *Pseudokirchneriella subcapitata***

O cultivo da alga *P. subcapitata* foi conduzido de acordo com a norma técnica ABNT NBR 12648 (2011). Os testes de toxicidade crônica foram conduzidos por adaptação das normas EPS 1/RM/25 (2007) da agência ambiental Environment Canada e da ABNT, citada acima. A adaptação consistiu do uso de microplacas como recipiente-teste e do meio de cultura (Oligo L. C.) recomendado pela a ABNT. Para a realização do teste de toxicidade crônica, uma população de algas em fase de crescimento exponencial foi exposta a pelo menos seis concentrações dos corantes e dos produtos de degradação por um período de 72 h. Os testes foram realizados em condições de esterilidade em microplacas da marca TPP<sup>®</sup> de 96 poços, cada um com capacidade para 300 µL. Em cada poço foram adicionados 200 µL das diluições de cada corante (água deionizada), 10 µL de inóculo da alga (~2.10<sup>5</sup> células) e 10 µl de meio de cultivo Oligo (concentrado 3x). As concentrações teste foram realizados em triplicata e o controle negativo foi realizado com seis réplicas. As microplacas foram colocadas em uma mesa agitadora com rotação constante (160 rpm) e sob iluminação contínua (luz branca, 4000 lux). Após 72 h, o crescimento da população de algas foi avaliado pela contagem do número de células que cresceram em cada repetição. A contagem foi realizada utilizando de microscópio óptico (Tecnal mod. MB-B3) e câmara de contagem de células Neubauer<sup>®</sup>. Para a validação dos testes as repetições do controle não podem diferir entre si em mais do que 20 % e o número final de células no controle deve ser no mínimo 16 vezes maior em relação à contagem realizada no início do teste.

### **4.4 Interpretação dos resultados e análise estatística**

Para os testes de toxicidade aguda com os produtos comerciais foi calculado o CE50 (48 h) (concentração efetiva 50 %), ou seja, a concentração da substância teste que causou efeito agudo a 50 % dos organismos. A CE50 foi determinada através do método estatístico “Trimmed Spearman-Kärber” (HAMILTON, et al., 1997) utilizando o programa JSPEAR. Para os testes de toxicidade crônica com *C. dubia* e os produtos comerciais, o programa ICPIN (NORBERT-KING, 1993) foi utilizado para comparar a fecundidade dos indivíduos de *C. dubia* expostos aos corantes em relação ao controle, e obter assim a concentração de inibição (CI50). Para o teste de

toxicidade crônica com a *P. subcapitata* e os produtos comerciais foi calculada a porcentagem de inibição de crescimento em cada concentração. A CI50, ou seja, a concentração da substância que causa redução de 50 % no crescimento da população de algas em relação ao controle foi determinada através do programa ICPIN.

Para os testes com *P. subcapitata* e os produtos de degradação foi realizada a verificação da diferença estatística da população de células do controle em relação as demais contendo o corante tratado. Desta maneira foi realizado um teste de normalidade para verificação da distribuição normal dos dados e para os dados com distribuição normal foi realizado o teste de análise de variância ANOVA seguida pelo teste de Dunn-Sidak, utilizado para testes com número diferente de réplicas, enquanto que para os ensaios com número igual de réplicas foi utilizado o teste de Tukey para comparação da média do número de células por concentração em relação ao controle.

#### **4.5 Controle de sensibilidade dos organismos por meio de Carta – controle**

Foram realizados ensaios para avaliar a sensibilidade e a qualidade dos organismos *D. similis*, *C. dubia* e *P. subcapitata* para realização dos ensaios. A substância de referência utilizada nos ensaios de sensibilidade foi o NaCl (Synth) com pureza de 99,9 %. Este sal foi previamente seco em estufa com temperatura de 142 °C por 2 horas. Os ensaios de sensibilidade foram realizados de acordo com as normas ABNT mencionadas nos tópicos anteriores (4.3.1, 4.3.2, 4.3.3). O valores de sensibilidade estão apresentados no Anexo I deste documento.

#### **4.6 Classificação de periculosidade dos corantes comerciais**

Os ensaios de ecotoxicidade com os produtos comerciais permitiram a classificação de perigo das substâncias para ambientes de água doce, sendo esta informação importante para rotulagem, transporte e comercialização destes produtos. O método de classificação utilizado foi o proposto pelo *Global Harmonized System for The Classification and Labeling of Chemicals* – GHS (UNITED NATIONS, 2009).

## **4.7 Degradação dos corantes pelo processo oxidativo foto – Fenton**

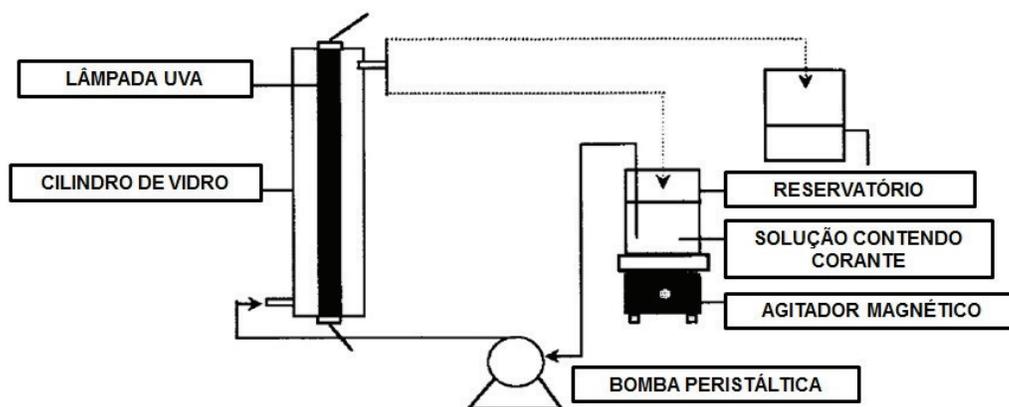
O processo foto-Fenton foi escolhido pois é considerado barato, de fácil manejo e eficiente na degradação de compostos orgânicos quando comparado com outros POA, sendo assim uma opção atrativa para o tratamento de efluentes contendo corantes. Os tratamentos foram realizados no LAPOA – Laboratório de Processos Oxidativos Avançados localizado no Instituto de Química da UNESP/Araraquara, sob a supervisão da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Pupo Nogueira.

### **4.7.1 Preparo das diluições dos corantes comerciais para os ensaios de degradação**

Para o tratamento dos corantes foram preparadas soluções de 60 mg L<sup>-1</sup> de cada produto comercial e de 50 mg L<sup>-1</sup> do corante C.I. Vat Green 3, diluído com água ultrapura (Milipore Mili-Q). O volume total das soluções foram de 500 mL e a faixa de pH estabelecida foi de 2,5-3,0 para maior eficiência do tratamento. A concentração de corante escolhida para o tratamento com o intuito de representar um efluente real.

### **4.7.2 Reator e reagentes utilizados no tratamento**

Foram realizados três experimentos de degradação independentes para cada corante, sendo um para cada tempo de tratamento (5, 8 e 30 minutos de irradiação UVA). Os tratamentos foram realizados em um reator de bancada, consistindo de uma bomba peristáltica e uma lâmpada negra (UV-A, 15W) para irradiação da solução. A agitação da solução foi realizada utilizando um agitador magnético (Figura 2). Na solução sob agitação constante, foram adicionados os reagentes peróxido de hidrogênio 3 mmol L<sup>-1</sup>, Synth, nitrato de ferro, 0,25 mol L<sup>-1</sup>, Mallinckrodt e ácido tartárico 0,2 mmol L<sup>-1</sup>, Vetec. O processo de degradação consistiu na geração de radicais oxidativos ( $\cdot\text{OH}$ ) que atacaram as moléculas orgânicas presentes nas soluções. Ao final dos tratamentos a reação de degradação foi interrompida utilizando catalase bovina (0,1 g L<sup>-1</sup>), responsável por consumir o peróxido de hidrogênio restante na amostra. Os efluentes foram armazenados em frascos de vidro âmbar com tampa de rosca (500 mL) e colocados em geladeira (4°C) para posterior realização dos testes de toxicidade.



**Figura 2.** Esquema do reator de bancada utilizado para o tratamento dos corantes (NOGUEIRA e GUIMARÃES, 2000).

#### **4.7.3 Análise da concentração do corante e sua mineralização no efluente pós-tratamento**

Ao final de cada tratamento, foram realizadas as seguintes análises: carbono orgânico total (TOC 5000A, Shimadzu) para mensurar o teor de carbono orgânico (COT) presente no efluente e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando de Shimadzu LC-20AT com detector de arranjo de diodo SPD-M20A para mensurar a concentração de corante presente no efluente. Para a análise de COT não foi adicionado catalase às amostras e assim não interferir na medida de carbono orgânico presente nas amostras. Para a CLAE foram utilizadas as seguintes condições: fase móvel metanol/acetato de amônio  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  e fase estacionária, coluna C8 (Hyperclone  $5\mu\text{m } 250 \times 4.6 \text{ mm}$ , Phenomenex). Para as amostras contendo o corante C.I. Acid Orange 7 a fase móvel foi metanol/acetato de amônio  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ . Para as amostras contendo o corante C.I. Vat Green 3 não foram realizadas análises de CLAE, devido a dificuldade de desenvolvimento do método.

#### **4.8 Testes de toxicidade com os efluentes gerados após o tratamento dos corantes**

As amostras foram encaminhadas ao laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental “Prof. Dr. Abílio Lopes (LEAL)” da Faculdade de Tecnologia da UNICAMP e os testes de toxicidade foram realizados com no máximo 24 h após o tratamento. Para a realização dos ensaio de toxicidade, os parâmetros pH e dureza foram corrigidos para 7,0 e  $44 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. Os ensaios de toxicidade realizados com os produtos de degradação foram: toxicidade aguda para

*D. similis* e toxicidade crônica para *P. subcapitata*. Para a avaliação da toxicidade dos produtos gerados após o tratamento e possível comparação com os resultados obtidos para os produtos comerciais, foi considerada a concentração inicial de corante tratado e assim as concentrações nominais utilizadas nos testes de toxicidade foram em mg L<sup>-1</sup> de concentração equivalente do corante (Ceq). As concentrações dos produtos gerados após a degradação do corante foram: 0,1; 1; 10; 30 e 60 mg L<sup>-1</sup> equivalente de corante, com excessão do C.I. Vat Green 3 que foram: 0,1; 1; 10; 25 e 50 mg L<sup>-1</sup> equivalente de corante. A diluição dos efluentes para obtenção das concentrações do teste foram realizadas de acordo com o item 4.2 desta sessão.

#### **4.8.1 Toxicidade da solução contendo os reagentes utilizados para o tratamento dos corantes**

Para avaliar a interferência dos reagentes utilizados no tratamento foto-Fenton na toxicidade para os organismos aquáticos foram preparadas soluções em água ultrapura contendo os reagentes necessários para a reação de degradação (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, catalase e ácido tartárico) porém sem a adição dos corantes. Para estas amostras foram realizados os tratamentos em 5, 8 e 30 minutos seguindo as mesmas condições citadas anteriormente. Os ensaios de toxicidade foram realizados conforme descrito nos itens 4.3 desta mesma seção, porém não foram realizadas diluições.

#### **4.9 Gerenciamento dos Resíduos**

Os resíduos gerados durante o preparo das soluções e dos testes de toxicidade foram armazenados em local apropriado na Faculdade de Tecnologia e encaminhados para incineração.

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1 Toxicidade aguda e crônica para os corantes comerciais

Dentre os corantes têxteis estudados o C.I. Vat Green 3 foi considerado o mais tóxico. Este corante foi classificado como tóxico para a vida aquática, considerando o perigo de exposição aguda ( $CE50_{\text{Vat Green3}} = 6,9 \text{ mg L}^{-1}$ ) e foi classificado como muito tóxico para a vida aquática com efeitos duradouros, considerando o perigo de exposição crônica (Tabela 4). O critério mais restritivo adotado para a toxicidade crônica foi obtido à partir da CI50 para *C. dubia* ( $CI50_{\text{Vat Green3}} = 0,52 \text{ mg L}^{-1}$ ). Os corantes alimentícios não apresentaram toxicidade aguda até a concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  e não puderam ser classificados. Para a toxicidade crônica os valores mais restritivos foram obtidos nos ensaios para *P. subcapitata* ( $CI50_{\text{Food Yellow3}} = 72,2 \text{ mg L}^{-1}$  e  $CI50_{\text{Food Red17}} = 61,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), sendo classificados como nocivos para a vida aquática com efeitos duradouros (Tabela 4).

**Tabela 4.** Toxicidade para *D. similis*, *C. dubia* e *P. subcapitata* e classificação da periculosidade dos produtos comerciais.

Corante (C.I.)	Categoria	<i>D. similis</i>		<i>C. dubia</i>		<i>P. subcapitata</i>	
		CE50	GHS (*)	CI50	GHS (**)	CI50	GHS (**)
Vat Green 3	Têxtil	6,93	2	0,52	1	5,6	2
Reactive Black 5	Têxtil	35,75	3	24,6	3	29,1	3
Acid Orange 7	Têxtil	86,6	3	32,6	3	>100	4
Food Yellow 3	Alimentício	> 1000	-	411,7	4	72,2	3
Food Red 17	Alimentício	> 1000	-	247,36	4	61,0	3

CE50 ( $\text{mg L}^{-1}$ ) – Concentração de efeito 50% (Imobilidade),

CI50 ( $\text{mg L}^{-1}$ ) – Concentração de inibição 50% (Inibição da reprodução – *C. dubia*)

CI50 ( $\text{mg L}^{-1}$ ) – Concentração de inibição 50% (Inibição de crescimento – *P. subcapitata*)

(-) Não classificados

### Classificação GHS

(\*) Categoria toxicidade aguda

(1) Muito tóxico para a vida aquática

(2) Tóxico para a vida aquática

(3) Nocivo para a vida aquática

(\*\*) Categoria toxicidade crônica

(1) Muito tóxico para a vida aquática com efeitos duradouros

(2) Tóxico para a vida aquática com efeitos duradouros

(3) Nocivo para vida aquática com efeitos duradouros

(4) Pode causar efeitos nocivos duradouros para vida aquática

### **5.1.2 Interferência de substâncias coloridas nos testes de toxicidade com alga**

Existe uma preocupação em relação à interferência de corantes na toxicidade com organismos fotossintéticos, devido à competição direta por luz, efeito este denominado “sombreamento”. No entanto Clevers e Weyers, (2003) evidenciaram que não há qualquer interferência de substâncias coloridas para os testes de toxicidade com microalgas quando as seguintes condições são atendidas: saturação de luz ( $\pm 4.500$  Lux) e caminho óptico reduzido no recipiente-teste. Estas condições foram atendidas em nossos ensaios.

### **5.1.3 Hidrofobicidade de corantes e ensaios de toxicidade com alga**

Ensaio foram realizados para o corante C.I. Vat Green 3 em microplacas, no entanto não foi observada concentração-resposta. Levando em conta a alta hidrofobicidade de corantes do tipo vat (SIJM et al, 1999), o C.I. Vat Green 3 pode possivelmente, se aderir ao plástico da microplaca, reduzindo de maneira considerável a concentração disponível para o ensaio, conforme evidenciado por Riedl e Altenburger, (2007). Na tentativa de solucionar tal questão e obter os valores de CI50 para o corante C.I. Vat Green 3 foram utilizados frascos de vidro atóxico do tipo borossilicato de 5 mL em substituição a microplaca de poliestireno, conforme sugerido por Källquist et al., (2008).

Após a realização dos testes de alga em frascos de vidro foi observado que, novamente o corante C.I. Vat Green 3 pôde ser considerado o mais tóxico dentre os corantes estudados, apresentando valor de CI50 de  $5,6 \text{ mg L}^{-1}$  (Tabela 6). O corante C.I. Reactive Black 5 também foi tóxico para a alga, ainda que o valor de CI50 para este corante foi aproximadamente seis vezes maior que o valor obtido para o C.I. Vat Green 3. De acordo com Greene e Baughman (1996), moléculas de corante com elevado peso molecular, especialmente os corantes reativos, apresentam baixa ou nenhuma toxicidade para a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, possivelmente devido a reduzida biodisponibilidade. A toxicidade dos corantes alimentícios C.I. Food Yellow 3 e C.I. Food Red 17 foi similar, considerando os intervalos das CI50 obtidas e estes corantes foram menos tóxicos para a alga em comparação aos corantes têxteis.

## **5.2 Toxicidade dos corantes tratados pelo foto – Fenton**

Os reagentes utilizados no tratamento das soluções contendo corantes não causaram imobilidade para *D. similis* e não apresentaram inibição de crescimento significativa ( $\alpha \geq 0,1\%$ ) para a alga, portanto não apresentaram toxicidade nas concentrações utilizadas neste estudo. Para a avaliação da toxicidade dos produtos de degradação do corante C.I. Vat Green 3 para a alga foi utilizada a metodologia de Källqvist et al., (2008), conforme mencionado no item 5.1.3 desta sessão.

### **5.2.1 Toxicidade do corante tratado C.I. Acid Orange 7**

O C.I. Acid Orange 7 tratado após 5 minutos de tratamento foi considerado tóxico para *D. similis* apenas para a amostra não diluída (Tabela 5), com CE50 estimado entre 30 e 60 mg L<sup>-1</sup> de Ceq. Como o valor de CE50 do produto comercial foi de 87 mg L<sup>-1</sup> pode-se concluir que durante o tratamento foram gerados produtos de degradação mais tóxicos que o corante comercial, onde 65,7 % do corante foi degradado (Tabela 6). Essa toxicidade pode ser atribuída a substâncias tóxicas geradas no início do tratamento. Porém após os tempos 8 e 30 minutos não mais foi observada toxicidade para *D. similis* (Tabela 5). Gottlieb, et al. (2003), observaram que após tratamento biológico do corante Acid Orange 7 ocorria a liberação de 1-amino-2-naphtol, sendo este composto a provável causa do aumento da toxicidade para a bactéria *Vibrio fischeri* em comparação ao produto comercial. Os autores concluíram que a ausência de grupamentos sulfônicos na molécula dos produtos de degradação é uma das causas do aumento da toxicidade, isto devido ao aumento da lipossolubilidade da molécula e a conseqüente absorção de tais substâncias pelo organismo.

**Tabela 5.** Toxicidade para *D. similis* e para *P. subcapitata* após o tratamento do corante C.I. Acid Orange 7.

C.I. Acid Orange 7		<i>Daphnia similis</i>			<i>P. subcapitata</i>		
Efluente (%)	Ceq (mg L <sup>-1</sup> )	Imobilidade (%)			Inibição de crescimento (%)		
		Tempo de tratamento (min)			Tempo de tratamento (min)		
		5	8	30	5	8	30
0	0	0	0	0	0	0	0
0,17	0,1	5	0	0	12,5	8,2	-21,4
1,7	1	5	5	5	4,3	-1,1	-16,8
17	10	0	0	0	-26,8*	-46,4***	-39,6
50	30	0	5	0	-16,4	-43,2***	-39,6
100	60	90	10	0	-3,6	-109,3***	-32,5

Ceq – concentração equivalente do corante comercial utilizado no tratamento. (\*) Diferente significativamente do controle ( $\alpha = 5\%$ ), (\*\*\*) para  $\alpha = 0,1\%$ .

Para a *P. subcapitata* o C.I. Acid Orange 7 tratado não apresentou toxicidade após os diferentes tempos de tratamento. Observou-se um aumento no crescimento da população de *P. subcapitata* em relação ao controle após 5 e 8 minutos de tratamento (Tabela 5). Isso indica que o produto de degradação do corante foi utilizado como nutriente para as algas, provavelmente devido a mineralização parcial do corante, pois o carbono orgânico total sofre uma redução de 31,2 % (Tabela 6). Priya et al., 2011 também observaram que microrganismos eram capazes de utilizar os produtos de degradação de corantes como fonte de nutrientes.

**Tabela 6.** Análise cromatográfica e de Carbono Orgânico Total após o tratamento do corante C.I. Acid Orange 7.

C.I. Acid Orange 7 (Pureza: 85 %)			
Carbono Orgânico Total (mg L <sup>-1</sup> ) e (% de mineralização)	Tempo de tratamento (min)		
	0	30	
	33,6	23,1 (31,2 %)	
Concentração do corante (mg L <sup>-1</sup> ) e (% de degradação)	5	8	30
	20,2 (65,7 %)	3,7 (93,7 %)	< 3,04 µg L <sup>-1</sup> (~100%)

Fonte: Da Silva, et al., 2012. O limite de detecção para o método cromatográfico foi de 3,04 µg L<sup>-1</sup> e o limite de quantificação foi de 9,2 µg L<sup>-1</sup>. Para a análise de carbono orgânico total (COT) os limites de detecção foram de 0,40 mg L<sup>-1</sup> para o C<sub>Total</sub> e 0,22 mg L<sup>-1</sup> para o C<sub>inorgânico</sub> e os limites de quantificação foram 1,22 mg L<sup>-1</sup> para C<sub>Total</sub> e 0,67 mg L<sup>-1</sup> para C<sub>inorgânico</sub>.

## 5.2.2 Toxicidade do corante tratado C.I. Reactive Black 5

O corante C.I. Reactive Black 5 tratado após 5 e 30 minutos foi considerado tóxico para *D. similis* (Tabela 7). A CE50 estimada do corante tratado por 5 minutos foi 51 mg L<sup>-1</sup> de Ceq com intervalo de confiança entre 39 e 67 mg L<sup>-1</sup> de Ceq ( $\alpha = 5\%$ ) e a CE50 estimada do corante tratado por 30 minutos foi de 47 mg L<sup>-1</sup> de Ceq com intervalo de confiança entre 31 e 72 mg L<sup>-1</sup> de Ceq ( $\alpha = 5\%$ ). A CE50 do produto comercial para *D. similis* foi 35 mg L<sup>-1</sup> com intervalo de confiança entre 31 e 40 mg L<sup>-1</sup>.

Assim é possível afirmar que os tratamentos formaram produtos de degradação de toxicidade similar ao produto comercial. Para a *P. subcapitata* o corante tratado foi tóxico em todos os tempos avaliados (Tabela 7), sendo que a CI50 estimada após 5 e 8 minutos de tratamento foi menor que 10 mg L<sup>-1</sup> de Ceq e após 30 minutos de tratamento a CI50 estimada foi menor que 0,1 mg L<sup>-1</sup> de Ceq. Durante o tratamento do corante C.I. Reactive Black 5 foram gerados produtos de degradação mais tóxicos que o produto comercial para a *P. subcapitata*, visto que a CI50 do produto comercial foi de 29,1 mg L<sup>-1</sup>.

**Tabela 7.** Toxicidade para *D. similis* e para *P. subcapitata* após o tratamento do corante C.I. Reactive Black 5.

C.I. Reactive Black 5		<i>D. similis</i>			<i>P. subcapitata</i>		
Efluente (%)	Ceq (mg L <sup>-1</sup> )	Imobilidade (%)			Inibição de crescimento (%)		
		Tempo de tratamento (min)			Tempo de tratamento (min)		
		5	8	30	5	8	30
0	0	0	0	10	0	0	0
0,17	0,1	10	0	20	32,7**	3,8	78,5***
1,7	1	15	0	10	84,9***	39,0**	85,8***
17	10	20	0	25	93,4***	84,2***	87,1***
50	30	10	0	30	89,1***	90,5***	83,4***
100	60	60	10	60	92,8***	89,5***	-

Ceq – concentração equivalente do corante comercial utilizado no tratamento. (\*\*) Diferente significativamente do controle ( $\alpha = 1\%$ ) e (\*\*\*)  $\alpha = 0,1\%$ . (-) Dado não obtido.

Após 5 e 8 minutos de tratamento as concentrações de corante obtidas foram e 9,3 e 1,2 mg L<sup>-1</sup> respectivamente e após 30 minutos de tratamento não foi determinada a presença de corante, sendo esta inferior à 9,2 µg L<sup>-1</sup>. A mineralização do corante após 30 minutos de tratamento foi de 72%, restando ainda 28% de carbono orgânico

(Tabela 8), assim a toxicidade observada para ambos os organismos pode ser associada à geração de produtos de degradação mais tóxicos que o corante original e que não foram mineralizados, conforme observado por Wang et al., (2003) após o tratamento oxidativo avançado deste mesmo corante.

**Tabela 8.** Análise cromatográfica e do Carbono Orgânico Total após o tratamento do corante C.I. Reactive Black 5.

C.I. Reactive Black 5 (Pureza: 55%)			
Carbono Orgânico Total (mg L <sup>-1</sup> ) e (mineralização %)	Tempo de tratamento (min)		
	0		30
	17,2		4,8 (72,0%)
Concentração do corante (mg L <sup>-1</sup> ) e (degradação %)	5	8	30
	9,3 (84,5 %)	1,2 (98,0%)	< 9,2 µg L <sup>-1</sup> (~100%)

Fonte: Da Silva, et al., 2012. O limite de detecção para o método cromatográfico foi de 9,2 µg L<sup>-1</sup> e o limite de quantificação foi de 27,8 µg L<sup>-1</sup>. Limites de detecção e quantificação da análise de COT para o Reactive Black não disponíveis.

### 5.2.3 Toxicidade do corante tratado C.I. Vat Green 3

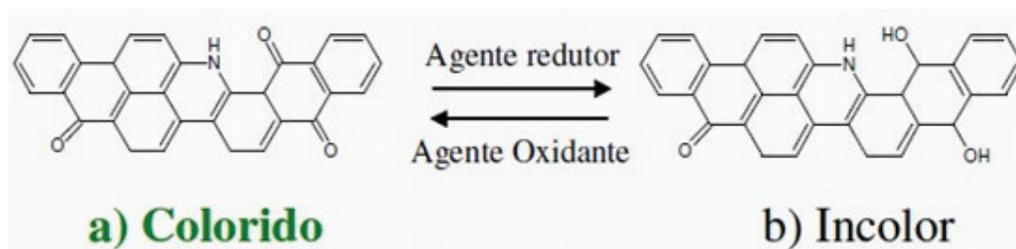
Após 5 e 8 minutos de tratamento do corante C.I. Vat Green 3 ocorreu uma redução da toxicidade para *D. similis* em relação ao produto comercial (Tabela 9), visto que a CE50 do corante comercial foi de aproximadamente 7 mg L<sup>-1</sup> e a CE50 estimada dos tratamentos esteve acima de 50 mg L<sup>-1</sup> de Ceq. Porém, após 30 minutos de tratamento do corante C.I. Vat Green 3 foram gerados produtos de degradação mais tóxicos que o produto comercial, com CE50 estimada inferior à 1 mg L<sup>-1</sup> de Ceq. Para a *P. subcapitata* os produtos de degradação gerados após 5 e 8 minutos também apresentaram menor toxicidade em relação ao produto comercial (Tabela 9), e após 30 minutos de tratamento do corante os produtos de degradação gerados também foram mais tóxicos que o produto comercial, pois a CI50 estimada foi inferior à 0,1 mg L<sup>-1</sup> de Ceq e a CI50 do produto comercial foi de aproximadamente 6 mg L<sup>-1</sup>.

**Tabela 9.** Toxicidade para *D. similis* e para *P. subcapitata* após o tratamento do corante C.I. Vat Green 3.

C.I. Vat Green 3		<i>D. similis</i>			<i>P. subcapitata</i>		
Efluente (%)	Ceq (mg L <sup>-1</sup> )	Imobilidade (%)			Inibição de crescimento (%)		
		Tempo de tratamento (min)			Tempo de tratamento (min)		
		5	8	30	5	8	30
0	0	0	0	0	0	0	0
0,17	0,1	0	10	0	- 29	4,5	58***
1,7	1	5	15	100	- 22	- 40	62***
17	10	20	20	100	25	3,3	100***
50	25	5	15	100	41	40	100***
100	50	20	40	100	-	-	-

Ceq – concentração equivalente do corante comercial utilizado no tratamento. (\*\*\*) Diferente significativamente do controle ( $\alpha = 0,1\%$ ).

O método cromatográfico para a quantificação deste corante ainda não foi desenvolvido. Não foi possível remover a cor do produto comercial contendo o corante C.I. Vat Green 3 e o tratamento foto-Fenton, nas condições estudadas, não foi considerado eficiente para a degradação deste corante. Para a melhor compreensão do que ocorreu durante o tratamento foto-Fenton e tentar explicar o aumento da toxicidade observado para os organismos em estudo, a seguir estão apresentadas informações e observações amparadas por referências bibliográficas. Os corantes Vat apresentam baixa solubilidade em água. No processo de tingimento estes corantes são reduzidos para a sua forma LEUCO, incolor, solúvel em água e com alta afinidade pela fibra têxtil. A forma reduzida do corante (LEUCO) quando se fixa à fibra é rapidamente reoxidado e o corante retorna a sua coloração característica (EPP, 1995). A oxidação pode ocorrer por meio do contato com um agente oxidante (Figura 1), tal como o peróxido de hidrogênio ou o próprio ar (FABER e ZANONI, 2010).



**Figura 3.** (a) Forma oxidada, colorida e insolúvel. (b) Forma reduzida, incolor e solúvel (LEUCO) do corante C.I. Vat Green 3 presentes no produto comercial Indatreno Verde Oliva.

O produto comercial Indantreno Verde Oliva (C.I. Vat Green 3) utilizado neste trabalho corresponde a uma mistura de corante LEUCO e apresenta como contaminante o corante oxidado na forma insolúvel e colorido, constituindo assim de uma amostra heterogênea (BASF, 1999). Quando a solução de corante C.I. Vat Green 3 foi submetida ao tratamento foto-Fenton a presença do peróxido utilizado no tratamento pode ter reoxidado parte do corante que estava em sua forma LEUCO, tornando este insolúvel e não disponível para o tratamento. Em contrapartida, o consumo do peróxido reduziu a eficiência da reação de Fenton e a consequente eficiência do tratamento. De acordo com Chang et al., (2009) os corantes de antraquinona são resistentes a oxidação química devido principalmente às elevada estabilidade dos anéis aromáticos constituintes do grupo cromóforo, diferentemente das ligações do tipo azo que são facilmente atacadas pelos radicais oxidativos. A redução da toxicidade observada nos 5 e 8 minutos de tratamento pode estar associada a precipitação do corante, reduzindo assim sua biodisponibilidade para os organismos aquáticos. Com relação à toxicidade após 30 minutos de tratamento, podem ter sido gerados produtos de degradação tóxicos formados a partir de uma pequena fração solúvel do corante.

#### **5.2.4 Toxicidade do corante tratado C.I. Food Yellow 3**

O C.I. Food Yellow 3 não apresentou toxicidade para *D. similis* após o tratamento (Tabela 10). Não foi possível obter curva dose-resposta para os ensaios de *P. subcapitata* com o corante tratado C.I. Food Yellow 3, pois nas concentrações mais baixas do corante tratado ocorreu o crescimento da população de *P. subcapitata* e nas maiores concentrações não ocorreu diferença significativa do controle, com exceção do corante tratado após 30 minutos onde foi observada toxicidade na amostra sem diluição. Para 5 e 8 minutos de tratamento não foi observada toxicidade para *P. subcapitata* (Tabela 10). A dificuldade de obtenção da curva dose-resposta no teste de *P. subcapitata* pode estar relacionada ao efeito de competição causado pelos nutrientes com o toxicante. Quando ocorre o aumento na concentração de nutrientes causado pela mineralização do corante há um favorecimento do crescimento da população de células que “mascara” o efeito de inibição causado pelo toxicante, conforme observado por Oturan et al., (2008). No entanto, a medida que se aumenta

a concentração do corante tratado, a concentração do toxicante se eleva, e torna-se possível “obsevar” toxicidade (MANUSADZIANAS et al., 2003).

**Tabela 10.** Toxicidade para *D. similis* e para *P. subcapitata* após o tratamento do corante C.I. Food Yellow 3.

C.I. Food Yellow 3		<i>D. similis</i>			<i>P. subcapitata</i>		
Efluente (%)	Ceq (mg L <sup>-1</sup> )	Imobilidade (%)			Inibição de crescimento (%)		
		Tempo de tratamento (min)			Tempo de tratamento (min)		
		5	8	30	5	8	30
0	0	0	0	0	0	0	0
0,17	0,1	0	0	0	-62,3*	-132,5**	-13,1
1,7	1	0	0	0	-71,9**	-300,0***	-31,3*
17	10	0	0	0	-42,1	-178,8***	-13,5
50	30	0	0	0	-7,0	-49,8	14,2
100	60	0	0	0	10,9	33,8	32,9*

Ceq – concentração equivalente do corante comercial utilizado no tratamento. (\*) Diferente significativamente do controle para  $\alpha = 5\%$ , (\*\*) para  $\alpha = 1\%$  e (\*\*\*) para  $\alpha = 0,1\%$ .

Após 30 minutos de tratamento do corante C.I. Food Yellow 3 a concentração esteve abaixo do limite de detecção ( $6,7 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e o carbono orgânico total restante foi de 25% (Tabela 11), assim a toxicidade do corante tratado observada para *P. subcapitata* pode ser atribuída à geração de produtos de degradação recalcitrantes e de difícil mineralização.

**Tabela 41.** Análise cromatográfica e do Carbono Orgânico Total após o tratamento do corante C.I. Food Yellow 3.

C.I. Food Yellow 3 (Pureza: 90%)			
Carbono Orgânico Total (mg L <sup>-1</sup> ) e (% mineralização)	Tempo de tratamento (min)		
	0	30	
	29,2	7,3 (74,8%)	
Concentração do corante (mg L <sup>-1</sup> ) e (% degradação)	5	8	30
	16,5 (70,5%)	4,9 (91,2%)	< 6,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ (~100%)

Fonte: Da Silva, et al., 2012. O limite de detecção para o método cromatográfico foi de  $6,7 \mu\text{g L}^{-1}$  e o limite de quantificação foi de  $20,3 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para a análise de carbono orgânico total (COT) os limites de detecção foram de  $0,40 \text{ mg L}^{-1}$  para  $C_{\text{total}}$  e  $0,22 \text{ mg L}^{-1}$  para  $C_{\text{inorgânico}}$ . Os limites de quantificação para COT foram  $1,22 \text{ mg L}^{-1}$  para  $C_{\text{total}}$  e  $0,67 \text{ mg L}^{-1}$  para  $C_{\text{inorgânico}}$ .

### 5.2.5 Toxicidade do corante tratado do C.I. Food Red 17

O C.I. Food Red 17 após 5 minutos de tratamento foi tóxico para *D. similis* (Tabela 14) com CE50 estimada menor que 10 mg L<sup>-1</sup> de Ceq. Como o valor de CE50 do produto comercial foi maior que 1000 mg L<sup>-1</sup> e 64% do corante do início do tratamento foi degradado após 5 minutos (Tabela 13), pode-se concluir que os produtos de degradação foram mais tóxicos que o corante comercial. Para *P. subcapitata* o corante C.I. Food Red 17 tratado também foi tóxico após 5 minutos, com CI50 estimada menor que 1 mg L<sup>-1</sup> de Ceq (Tabela 12). Como a CI50 do produto comercial foi 61,0 mg L<sup>-1</sup> é possível concluir que os produtos de degradação gerados também foram mais tóxicos que o corante comercial. A toxicidade do efluente após 5 minutos de tratamento do corante C.I. Food Red 17 pode ser devido à geração de produtos de degradação tóxicos no início do tratamento. À partir dos 8 minutos de tratamento não foi observada toxicidade para ambos os organismos.

**Tabela 12.** Toxicidade para *D. similis* e para *P. subcapitata* após o tratamento do corante C.I. Food Red 17.

C.I. Food Red 17		<i>D. similis</i>			<i>P. subcapitata</i>		
Efluente (%)	Ceq (mg L <sup>-1</sup> )	Imobilidade (%)			Inibição de crescimento (%)		
		Tempo de tratamento (min)			Tempo de tratamento (min)		
		5	8	30	5	8	30
0	0	0	0	0	0	0	0
0,17	0,1	0	0	0	10,4	1,7	0
1,7	1	0	0	0	92,6***	22,0	-5,67
17	10	100	0	0	97,4***	18,7	10,83
50	30	100	0	0	94,8***	10,0	24,90
100	60	100	0	0	99,1***	18,7	29,29

Ceq – concentração equivalente do corante comercial utilizado no tratamento. (\*\*\*) Diferente significativamente do controle ( $\alpha = 0,1\%$ ).

**Tabela 53.** Análise cromatográfica e do Carbono Orgânico Total após o tratamento do corante C.I. Food Red 17.

<b>C.I. Food Red 17 (Pureza: 80%)</b>			
<b>Carbono Orgânico Total (mg L<sup>-1</sup>) e (% de mineralização)</b>	<b>Tempo de tratamento (min)</b>		
	<b>0</b>		<b>30</b>
	30,2		9,10 (69,8%)
<b>Concentração do corante (mg L<sup>-1</sup>) e (% de degradação)</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>30</b>
	22,2 (64,1%)	5,95 (90,4%)	< 1,56 µg L <sup>-1</sup> (~100%)

Fonte: Da Silva, et al., 2012. O limite de detecção para o método cromatográfico foi de 1,56 µg L<sup>-1</sup> e o limite de quantificação foi de 4,74 µg L<sup>-1</sup>. Para a análise de carbono orgânico total (COT) os limites de detecção foram de 0,40 mg L<sup>-1</sup> para C<sub>total</sub> e 0,22 mg L<sup>-1</sup> para C<sub>inorgânico</sub>. Os limites de quantificação para COT foram 1,22 mg L<sup>-1</sup> para C<sub>total</sub> e 0,67 mg L<sup>-1</sup> para C<sub>inorgânico</sub>.

**Tabela 64.** Resumo dos valores de toxicidade dos produtos comerciais em comparação a toxicidade dos produtos de degradação gerados no final do tratamento foto – Fenton.

Corante	Organismo	Toxicidade do produto comercial CE50 e CI50 Mg L <sup>-1</sup>	Toxicidade final do corante tratado (30 min) CE50 e CI50 Mg L <sup>-1</sup> Ceq	Concentração do corante após (30 min)	COT remanescente após 30 min	Conclusão
<b>C.I. Reactive Black 5</b>	<i>D. similis</i>	40	30-60	< 9,2 µg L <sup>-1</sup>	28%	Formação de subprodutos mais tóxicos que o corante original
	<i>P. subcapitata</i>	30	<0,1			
<b>C.I. Acid Orange 7</b>	<i>D. similis</i>	86	>60	< 3,04 µg L <sup>-1</sup>	69%	Formação de subprodutos, de toxicidade similar ao corante original
	<i>P. subcapitata</i>	>100	>60			
<b>C.I. Food Red 17</b>	<i>D. similis</i>	>1000	>60	< 1,56 µg L <sup>-1</sup>	30%	Formação de subprodutos, de toxicidade similar ao corante original
	<i>P. subcapitata</i>	61	>60			
<b>C.I. Food Yellow 3</b>	<i>D. similis</i>	>1000	>60	< 6,7 µg L <sup>-1</sup>	25%	Formação de subprodutos, de toxicidade similar ao corante original
	<i>P. subcapitata</i>	72	>60			
<b>C.I. Vat Green 3</b>	<i>D. similis</i>	7	<1	*	*	Formação de subprodutos mais tóxicos que o corante original
	<i>P. subcapitata</i>	6	<0,1			

Ceq – concentração equivalente de corante comercial utilizado no tratamento. COT – Carbono orgânico total. \* Não determinado.

Baseado nos resultados apresentados neste trabalho é possível concluir que alguns dos corantes tratados pelo foto-Fenton foram mais tóxicos que os produtos comerciais, como no caso dos corantes tratados: C.I. Reactive Black 5 para *P. subcapitata* e C.I. Vat Green 3 para *D. similis* e *P. subcapitata*. Alguns dos corantes tratados geraram subprodutos de toxicidade similar a dos produtos comerciais; são estes: C.I. Reactive Black 5 para *D. similis* e os corantes C.I. Acid Orange 7, C.I. Food Red 17 e C.I. Food Yellow 3 para ambos os organismos. De acordo com as concentrações dos corantes obtidas por meio das análises de cromatografia líquida de alta eficiência, é possível afirmar que o tratamento foto - Fenton foi eficiente na degradação de todos os corantes, com exceção do corante C.I. Vat Green 3. Os valores de carbono orgânico remanescente do tratamento dos corantes podem ser associados aos produtos de degradação gerados e de difícil mineralização; e estes são os possíveis responsáveis pela toxicidade final observada para os organismos em estudo. Diversos autores também relataram que durante tratamentos oxidativos avançados podem ser gerados produtos de degradação de toxicidade superior às substâncias iniciais alvo do tratamento tais como: compostos fenólicos (SANTOS et al., 2004; PÉREZ-MOYA et al., 2007; KARCI et al., 2012), fármacos (GONZÁLEZ et al., 2007; TROVÓ et al., 2009; KLAMERTH et al., 2010), herbicidas (OTURAN et al., 2008) entre outros contaminantes emergentes.

---

## 6. CONCLUSÃO

---

De acordo com a classificação do GHS para os corantes têxteis o C.I. Vat Green 3 foi considerado tóxico para a vida aquática considerando o perigo de exposição aguda e muito tóxico para a vida aquática com efeitos duradouros considerando o perigo de exposição crônica, o C.I. Reactive Black 5 e o C.I. Acid Orange 7 foram considerados nocivos para a vida aquática considerando o perigo de exposição aguda e nocivos para a vida aquática com efeitos duradouros considerando o perigo de exposição crônica. Os corantes alimentícios não apresentaram toxicidade aguda até a concentração de  $1 \text{ g L}^{-1}$  e não puderam ser classificados com relação ao perigo de exposição aguda, contudo para o perigo de exposição crônica os corantes C.I. Food Yellow 3 e C.I. Food Red 17 foram considerados nocivos para vida aquática com efeitos duradouros.

Os corantes têxteis foram mais tóxicos quando comparados aos corantes alimentícios, com destaque para o corante têxtil C.I. Vat Green 3 considerado o mais tóxico para os organismos testados. Os produtos de degradação gerados no início do tratamento foto - Fenton de corantes podem ser mais tóxicos que o corante em si. Para o tratamento de corantes do tipo Vat pode haver a necessidade de modificações no tratamento foto-Fenton, visto que este não foi eficiente para a degradação e remoção da toxicidade do corante C.I. Vat Green 3.

O acompanhamento do foto - Fenton com ensaios de toxicidade foi uma ferramenta importante para verificação da toxicidade dos produtos intermediários e finais gerados durante o tratamento. Este trabalho é relevante na medida em que auxilia nas tomadas de decisão relacionadas ao descarte de efluentes após tratamentos oxidativos avançados e também na necessidade de aperfeiçoamento destes tratamentos para remoção da toxicidade dos corantes.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ABIQUIM. Associação Brasileira da Indústria Química, disponível em: [www.abiquim.org/corantes/cor.asp](http://www.abiquim.org/corantes/cor.asp). Acesso em: 04 de Jun. de 2010.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 12713, 2 ed. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea) 2009, 21p.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 13373, 2 ed. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Cladocera, Crustacea) 2010, 15p.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12648, 2 ed. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae) 2011, 24p.

ARSLAN-ALATON, I.; GURSOY, B. H.; SCHMIDT, J. E. Advanced oxidation of acid and reactive dyes: Effect of Fenton treatment on aerobic, anoxic and anaerobic processes. **Dyes and Pigments**, n. 78, p. 117-130, 2008.

BAE, J. S.; FREEMAN, H. S.; KIM, S. D. Influences of new Azo dyes to the aquatic ecosystem. **Fibers and Polymers**, n.7, p. 30-35, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução N° 430** - Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005. 2011. 8p.

BASF. **Leuco Vat Dyes preparation in granule form**. GANG, F., KRÜGER, R., MIEDERER, P., SCHLÜTER, H., SCHULTZ, P., WOLF, M. R. N° US5888254, 30 de Mar. de 1999.

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

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental [http://www.cetesb.sp.gov.br/tecnologia/producao\\_limpa/documentos/ervejas\\_refrigerao.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/tecnologia/producao_limpa/documentos/ervejas_refrigerao.pdf). Acesso: 31 de Março de 2012.

CHRISTIE, R. M. Colour Chemistry, Cambridge: Royal Society of Chemistry Paperbacks. 2001, 215p.

CHANG, S.; CHUANG, S.; LI, H.; LIANG, H.; HUANG, L. Comparative study on the degradation of I.C. Remazol Brilliant Blue R and I.C. Acid Black 1 by Fenton oxidation and Fe<sup>0</sup>/air process and toxicity evaluation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, p.1279–1288, 2009.

CLEVERS, M.; WEYERS, A. Algal growth inhibition test: does shading of coloured substances really matter? **Water Research**, v.37, p.2718–2722, 2003.

COLLINS, P., DOWNHAM, A. Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 35, p. 5-22, 2000.

COLOUR INDEX INTERNATIONAL. <http://www.colour-index.org/>.

Acesso: 19 de Dezembro de 2011.

DA SILVA. **Influência da estrutura de corantes azo na cinética de degradação por processos foto-fenton e ferro zero e na toxicidade**, 2012, 76 p. Dissertação de (Mestrado), Instituto de química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Araraquara, São Paulo.

ECHA. European Chemicals Agency. Guidance on information requirements and chemical safety assessment - Chapter R.10: Characterization of dose

[concentration]-response for environment. **Guidance for the implementation of REACH**, 2008, 65p.

EPA. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROGRAM. EPA/600/P-01/003F NCEA-I-1200. The Foundation for Global Action on Persistent Organic Pollutants: A United States Perspective. Office of Research and Development Washington, DC 20460, 2002, 167p.

EPA. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROGRAM. EPIWEB v. 4.1. <http://www.epa.gov/oppt/exposure/pubs/episuitedi.htm>. Acesso: 12 de Maio de 2011.

EPP, D. N. A World of color: investigating the chemistry of Vat Dyes. **Journal of Chemical Education**, v. 72, p. 726-727, 1995.

ENVIRONMENTAL CANADA. EPS 1/RM/25. Biological test method: Test of reproduction and survival using the Cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. Ottawa, 2007, 100p.

FABER, M. **Tratamento fotocatalítico de corante ácido usando filmes finos de vidro/TiO<sub>2</sub> e degradação Fotoeletrocatalítica de corante vat sobre eletrodos de filmes finos de Ti/TiO<sub>2</sub>**. 2012. 117p. Tese de doutorado, Instituto de química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Araraquara, São Paulo.

FERRAZ, E. R. A.; UMBUZEIRO, G. A.; DE ALMEIDA, G.; CALOTO-OLIVEIRA, A.; CHÉQUER, F. M. D.; ZANONI, M. V. B.; DORTA, D. J.; OLIVEIRA, D. P. Differential Toxicity of Disperse Red 1 and Disperse Red 13 in the Ames Test, HepG2 Cytotoxicity Assay, and Daphnia Acute Toxicity Test. **Environmental Toxicology** (aceito para publicação).

GANESH, R.; BOARDMAN, G.; MICHELSEN, D. Fate of azo dyes in sludges. **Water Research**, v. 28, n.6, p. 1367-1376, 1994.

GONZÁLEZ, O., SANS, C., ESPLUGAS, S. Sulfamethoxazole abatement by photo-Fenton Toxicity, inhibition and biodegradability assessment of intermediates, **Journal of Hazardous Materials**, v.146, p.459–464, 2007.

GOTTLIEB, A., SHAW, C., SMITH, A., WHEATLEY, A., FORSYTHE, S. The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation, **Journal of Biotechnology**, v.101, p.49-56, 2003.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes Têxteis. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000.

GREENE, J. C., BAUGHMAN, G. L. Effects of 46 Dyes on Population Growth of Freshwater Green Alga *Selenastrum capricornutum*. **Textile Chemistry and Colorist**, v.28, n., 4. 1996.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURFTON, R. B. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, v. 11. n. 7, p. 714-719, 1977.

HORVAT, A. J. M.; PETROVIĆ, M.; BABIĆ, S.; PAVLOVIĆ, D. M.; ASČPERGER, D.; PELKO, S.; MANCE, A. D.; KASĀTELAN-MACAN, M. Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, 2012.

HUISMAN, J., JONKER, R. R., ZONNEVELD, C., WEISSING, F. J. Competition for light between phytoplankton species: experimental tests of mechanistic theory. **Ecology**, n. 80, v. 1, p. 211–222, 1999.

HUNGER, K. Industrial Dyes: chemistry, properties and applications, Frankfurt: Wiley – V.C.H. 2003, 685p.

IATP. Institute for Agriculture and Trade Policy. Acesso: 20 de Março de 2012. <http://www.iatp.org/documents/smart-guide-to-food-dyes-buying-foods-that-can-help-learning>, 2009, 4p.

KALLQVSTA, T.; MILACICB, R.; SMITALC, T.; THOMASA, K. V.; VRANESD, S.; TOLLEFSEN, K. E. Chronic toxicity of the Sava River (SE Europe) sediments and river water to the algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Water Research**, v.42, p.2146 – 2156, 2008.

KARCIA, A., ARSLAN-ALATON, I., OLMEZ-HANCI, T., BEKBÖLET, M. Transformation of 2,4-dichlorophenol by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV-C, Fenton and photo-Fenton processes: Oxidation products and toxicity evolution, **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.230, p.65– 73, 2012.

KLAMERTH, N., RIZZO, L., MALATO, S., MALDONADO, M. I., AGÜERA, A., FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Degradation of fifteen emerging contaminants at  $\mu\text{g L}^{-1}$  initial concentrations by mild solar photo-Fenton in MWTP effluents, **Water Research**, v.44, p.545 – 554, 2010.

KOBYLEWSKI, S., JACOBSON, M. F. Food Dyes: A Rainbow of Risks. Center for Science in the Public Interest. Acesso: 20 de Março de 2012 <http://cspinet.org/new/pdf/food-dyes-rainbow-of-risks.pdf>, 2010, 68p.

KUMMROW, F., UMBUZEIRO, G. A. 2- Fenilbenzotriazóis (PBTA): Uma nova classe de contaminantes ambientais. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 401-406, 2008.

LIMA, R.; BAZO, A.; SALVADORI, D.; RECH, C.; DE PALMA OLIVEIRA, D.; UMBUZEIRO, G. A. Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source. **Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 626, p. 53-60, 2007.

LINCOLN, T.; ZEIGER, E. Plant Physiology. 3rd. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2002, 690p.

LIU, H.; YU, H.; GIESY, J. P.; SUN, Y.; WANG, X. Toxicity of HC Orange No. 1 to *Daphnia magna*, Zebrafish (*Brachydanio rerio*) embryos, and goldfish (*Carassius auratus*). **Chemosphere**, n. 66, p. 2159–2165, 2007.

MAEZONO, T.; TOKUMURA, M.; SEKINE, M.; KAWASE, Y. Hydroxyl radical concentration profile in photo-Fenton oxidation process: Generation and consumption of hydroxyl radicals during the discoloration of azo-dye Orange II. **Chemosphere**, n. 82, p 1422-1430, 2011.

MANUSADZIANAS, L., BALKELYTE, L., SADAUSKAS, K., BLINOVA, I., POLLUMAA, L. KAHRU, A. Ecotoxicological study of Lithuanian and Estonian wastewaters: selection of the biotests, and correspondence between toxicity and chemical-based indices, **Aquatic Toxicology**, v.63, p.27-41, 2003.

MARMITT, S. PIROTTA, L. V. STULP, S. Aplicação de fotólise direta e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a efluente sintético contendo diferentes corantes alimentícios. **Quim. Nova**, V. 33, N. 2, p. 384-388, 2010.

NAGEL-HASSEMER, M. E.; CARVALHO-PINTO, C. R. S.; MATIAS, W. G.; LAPOLLI, F. R. Removal of coloured compounds from textile industry effluents by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation and toxicity evaluation. **Environmental Technology**, n. 1, p. 1 – 8, 2011.

NOGUEIRA, R. F. P.; GUIMARÃES, J. R. Photodegradation of dichloroacetic acid and 2,4-dichlorophenol by ferrioxalate/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system. **Water Research**, v. 34, n. 3, p. 895-901, 2000.

NORBERT-KING, T. J. **A linear interpolation method for sublethal toxicity: the Inhibition Concentration (ICp) approach** (Version 2.0). USEPA, Dulunth Minnesota., Tech. Rept. 03-93, National Effluent Toxicity Assessment Center, 1993, 25p.

NOVOTNY, C.; NICOLINA DIAS; KAPANEN, A.; MALACHOVA, K.; VANDROVCOVA, M.; ITAVAARA, M.; LIMA, N. Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo- and anthraquinone dyes. **Chemosphere**, v. 63, p. 1436-1442, 2006.

OECD. Organization for Economic Common Development. OECD series on emission scenario documents. **Emission scenario document on textile finishing industry Europe**, 2004, 77p.

OLIVEIRA, D. P.; KUHLMANN, M. L.; UMBUZEIRO, G. A. Evaluation of the Presence of Mutagenic Dyes in Sediments from Cristais River. **Soil & Sediment Contamination**, v. 15, n. 5, p. 455-462, 2006.

OLIVEIRA, P.; CARNEIRO, P.; RECH, C.; ZANONI, M.; CLAXTON, L.; UMBUZEIRO, G. Mutagenic Compounds Generated from the Chlorination of Disperse Azo-Dyes and Their Presence in Drinking Water. **Environ. Sci. Technol.** v. 40, p. 6682-6689, 2006.

OSUGI, M.; UMBUZEIRO, G. A.; ANDERSON, M.; ZANONI, M. Degradation of metallophthalocyanine dye by combined processes of electrochemistry and photoelectrochemistry. **Eletrochimica Acta**, v. 50, p. 5261-5269, 2005.

OSUGI, M.; UMBUZEIRO, G. A.; DE CASTRO, F. J. V.; ZANONI, M. V. B. Photoelectrocatalytic oxidation of remazol turquoise blue and toxicological assessment of its oxidation products. **Journal of Hazardous Materials**, v. B137, p. 871–877, 2006.

OTURAN, N., TRAJKOVSKA, S., OTURAN, M. A., COUDERCHET, M., AARON, J. J. Study of the toxicity of diuron and its metabolites formed in aqueous medium during application of the electrochemical advanced oxidation process “electro-Fenton”, **Chemosphere**, v.73, p.1550–1556, 2008.

POYATOS, J. M.; MUÑO, M. M.; ALMECIJA, M. C.; TORRES, J. C.; HONTORIA, E.; OSORIO, F. Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art. **Water, Air and Soil Pollutants**, n.205, p.187–204, 2010.

PRATO-GARCIA, D., BUITRÓN., G. Evaluation of three reagent dosing strategies in a photo-Fenton process for the decolorization of azo dye mixtures. **Journal of Hazardous Materials**, v. 217– 218, p. 293– 300, 2012.

PRIYA, B., UMA, L., AHAMED, A. K., SUBRAMANIAN, G., PRABAHARAN, D. Ability to use the diazo dye, C.I. Acid Black 1 as a nitrogen source by the marine cyanobacterium *Oscillatoria curviceps* BDU92191, **Bioresource Technology**, v.102, p.7218–7223, 2011.

REIFE, A.; FREEMAN, H. S. **Environmental chemistry of dyes and pigments**, New York: John Wiley, 1996, 329p.

RIEDL, J.; ALTENBURGER, R. Physicochemical substance properties as indicators for unreliable exposure in microplate-based bioassays. **Chemosphere**, v. 67, p. 2210–2220, 2007.

RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. **Water Research**, n. 45, p. 4311-4340, 2011.

ROBINSON, T.; MCMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 247-255, 2001.

SANTOS, A., YUSTOS, P., QUIÑTANILLA, A., GARCIA-OCHOA., CASAS, J. A., RODRÍGUEZ., J.J. Evolution of toxicity upon wet catalytic oxidation of phenol, **Environ. Sci. Technol.** v.38, n. 1, p.133-138, 2004.

SANTOS, A.; YUSTOS, P.; RODRÍGUEZ, S.; GARCIA-OCHOA, F.; DE GRACIA, M. Decolorization of textile dyes by wet oxidation using activated carbon as catalyst, **Ind. Eng. Chem. Res.** v. 46, p. 2423–2427, 2007.

SBMCTA. Protocolo para Derivação de Critérios de Qualidade da Água para proteção da Vida Aquática no Brasil. Workshop realizado durante **IX Congresso Brasileiro de Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese Ambiental**, promovido pela Sociedade Brasileira de Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese Ambiental, Realizado no período de 16 a 20 de novembro de 2009, em Jundiaí, São Paulo, Brasil.

SIJM, T. H. M. D., SCHÜÜRMAN, G., DE VRIES, P., OPPERHUIZEN, A. Aqueous solubility, octanol solubility, and octanol/water partition coefficient of nine hydrophobic dyes, **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 1109–1117, 1999.

SOON, A. N.; HAMEED, B. H. Heterogeneous catalytic treatment of synthetic dyes in aqueous media using Fenton and photo-assisted Fenton process. **Desalination**, n.269, p.1–16, 2011.

TROVÓ, A. G., NOGUEIRA, R. F. P., AGÜERA, A., FERNANDEZ-ALBAB, A. R., SIRTORI, C. MALATO, S. Degradation of sulfamethoxazole in water by solar photo-Fenton. Chemical and toxicological evaluation, **Water Research**, v.43, p. 3922–3931, 2009.

UMBUZEIRO, G.A.; ROUBICEK, D. A.; RECH, C. M ; SATO, M. I. Z.; CLAXTON, L. D. Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures. **Chemosphere**, v. 54, p. 1589-1597, 2004.

UMBUZEIRO, G. A., FREEMAN, H. S., WARREN, S. H., OLIVEIRA, D. P. TERAÓ, Y., WATANABE, T., CLAXTON, L. D. The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais river. **Chemosphere** 60 p.55–64, 2005.

UNITED NATIONS. **Globally Harmonized System for the Classification and Labeling of Chemicals (GHS)**. Parte 4, p. 213-242. 2009.

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

VINITNANTHARAT, S., CHARTTHE, W., PINISAKUL, P. Toxicity of reactive red 141 and basic red 14 to algae and waterfleas. **Water Science & Technology**, v.58, n.6, 2008.

ZANONI, M.; SENE, J.; ANDERSON, M. Photoelectrocatalytic degradation of Remazol Brilliant Orange 3R on titanium dioxide thin-film electrodes. **J. Photochem. Photobio.** v. 157 p. 55–63, 2003.

ZOLLINGER, H. **Color chemistry: synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments**, 2nd ed. New York: V.C.H. Publishers, 1991.

WANG, C.; YEDLER, A.; LIENERT, D.; WANG, Z.; KETTRUP, A. Ozonation of an azo dye C.I. Remazol Black 5 and toxicological assessment of its oxidation products. **Chemosphere**, v. 52, p.1225-1232, 2003.

# ANEXO I

## CARTAS – CONTROLE DOS ORGANISMOS-TESTE

