

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MINAS,
METALÚRGICA E DE MATERIAIS - PPGE3M**

**CATÁLISE ENZIMÁTICA E NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS
APLICADAS AO TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA DE
TINGIMENTO DE ÁGATAS COM CORANTES ORGÂNICOS**

CLÓVIA MAROZZIN MISTURA

Tese de doutorado

Porto Alegre

2019

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MINAS,
METALÚRGICA E DE MATERIAIS PPGE3M**

**CATÁLISE ENZIMÁTICA E NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS
APLICADAS AO TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA DE
TINGIMENTO DE ÁGATAS COM CORANTES ORGÂNICOS**

CLÓVIA MAROZZIN MISTURA
Química Bacharel, Mestre em Química Analítica

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGE3M), como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia. Área de concentração: Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalurgia Extrativa.

Orientador: Prof. Dr. Ivo André Hömrich Schneider

Porto Alegre

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Reitor: Rui Vicente Oppermann

Vice-Reitor: Jane Fraga Tutikian

ESCOLA DE ENGENHARIA

Diretor: Luiz Carlos Pinto da Silva filho

Vice-Diretora: Carla Schwengber Ten Caten

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MINAS,
METALURGICA E MATERIAIS**

Coordenação: Afonso Reguly

Vice-Coordenação: Andréa Bernardes

CIP - Catalogação na Publicação

Mistura, Clóvia Marozzin

CATÁLISE ENZIMÁTICA E NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS
APLICADAS AO TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA DE
TINGIMENTO DE ÁGATAS COM CORANTES ORGÂNICOS / Clóvia
Marozzin Mistura. -- 2019.

120 f.

Orientador: Ivo André Hömrich Schneider.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Escola de Engenharia, Programa de
Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de
Materiais, Porto Alegre, BR-RS, 2019.1. nanopartículas magnéticas. 2. ozonização. 3.
rodamina B. 4. ágatas. 5. efluentes orgânicos. I.
Schneider, Ivo André Hömrich, orient. II. Título.

Folha de aprovação:
CLÓVIA MAROZZIN MISTURA

**CATÁLISE ENZIMÁTICA E NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS
APLICADAS AO TRATAMENTO DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA DE
TINGIMENTO DE ÁGATAS COM CORANTES ORGÂNICOS**

Esta Tese foi analisada e julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Engenharia com ênfase em Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalurgia Extrativa e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora designada pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGE3M da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Prof. Dr. Ivo André Hömrich Schneider

Prof. Coord. Dr. Afonso Reguly

Aprovado em: 29/03/2019

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dr^a. Tania Mara Pizzolato – DQI/UFRGS

Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Silva – IMED

Prof. Dr. Jean Carlo Salome dos Santos Menezes - UPF



ATA Nº 490

ATA DE DEFESA DE TESE

Ao vigésimo nono dia do mês de março de 2019, às oito horas e trinta minutos, no Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, realizou-se a defesa da Tese de Doutorado de M. Sc. Clóvia Marozzin Mística, intitulada "Catálise Enzimática e Nanopartículas Magnéticas Aplicadas ao Tratamento de Efluentes da Indústria de Tingimento de Águas com Corantes Orgânicos". A Comissão Examinadora, presidida pelo orientador da candidata, Prof. Dr. Ivo André Homrich Schneider (PPGE3M/UFRGS), constituiu-se dos seguintes membros: Profa. Dra. Tânia Mara Pizzolato (DQI/UFRGS), Dr. Jean Carlo Salomé dos Santos Menezes (UPF) e Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Silva (IMED). Após a apresentação da candidata pelo Presidente da Comissão, a mesma expôs seu trabalho de tese, sendo, logo a seguir, arguida pelos membros da Comissão Examinadora. A candidata prestou esclarecimentos sobre sua tese, respondendo às perguntas formuladas. Às 11 horas e 20 minutos, a Comissão Examinadora procedeu ao julgamento do trabalho. Consultados individualmente, os membros da Comissão Examinadora justificaram e emitiram os seguintes pareceres: Profa. Dra. Tânia Mara Pizzolato APROVADO, Dr. Jean Carlo Salomé dos Santos Menezes APROVADO e Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Silva APROVADO. Desta forma e de acordo com o regimento interno do PPGE3M a tese foi APROVADA e considerada adequada para a concessão do título de "Doutor em Engenharia – Área de Concentração: Tecnologia Mineral, Ambiental e Metalurgia Extrativa". A candidata deve efetuar as correções indicadas pelos examinadores dentro do prazo regimental. O professor Ivo André Homrich Schneider agradeceu aos membros da Comissão Examinadora pela presença e colaboração recebida, quando foi lida a presente Ata, que vai assinada por todos os membros da Comissão Examinadora, orientador e aluna.

Ivo André H. Schneider
Prof. Dr. Ivo André Homrich Schneider

Jean Carlo Salomé dos Santos Menezes
Dr. Jean Carlo Salomé dos Santos Menezes

Tânia Mara Pizzolato
Profa. Dra. Tânia Mara Pizzolato

Rodrigo de Almeida Silva
Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Silva

Clóvia Marozzin Mística
M. Sc. Clóvia Marozzin Mística

“A mineração sozinha não é sustentável, ela não é inovadora, mas uma forma possível de ela ser sustentável é agregar valor em sua comunidade.”

Chris Moran

(Seminário Mineração e Sustentabilidade no Quadrilátero Ferrífero.
Ouro Preto. Julho de 2010)

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Ivo Schneider, pela orientação, coleguismo, amizade, paciência, apoio técnico e pelo crescimento e amadurecimento profissional e pessoal que me proporcionou desde os tempos de UPF;

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pela completa infraestrutura e qualidade dos recursos para realização do doutorado, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGEM) e ao Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental (LTM), às colaboradoras Beatriz e Paola pela eficiência e profissionalismo.

À Universidade de Passo Fundo (UPF), minha casa desde 1984, por fazer “Educação Com Ação”, aos colegas pela compreensão, à direção do Instituto de Ciências Exatas e Geociências (ICEG) pelo apoio, à Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (VRPPG) pela LPG;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio com a bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE);

Aos colegas pesquisadores do Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental (LTM), em especial Fernanda Vilasbôas e Cassiano Rossi do Amaral.

Ao colega, Jean Carlo pelas dicas técnicas, pela ajuda com os experimentos de ozonização e amizade e ao colega Rodrigo pela serenidade e sugestões;

À professora, eterna orientadora e grande amiga Tânia Mara Pizzolato que sempre esteve me aconselhando e sendo exemplo de profissional na minha formação desde o ensino médio;

Aos colegas da Ecoambiental, família que levo em grande estima, pela oportunidade de crescimento técnico, humano e espiritual e em especial a Andrea Lamaison Soares Bonfante, mais que uma sócia, uma colega, sempre uma irmã.

Os agradecimentos especiais vão aos meus pais (*in memoriam* Hilário e Julieta), pelo amor dedicado durante toda a minha vida, meu irmão Luciano, meu sobrinho Gabriel Felipe, principalmente ao meu companheiro de alegrias, lutas do dia a dia e sonhos, Fábio, minha sogra Dona Alice, que contrariando o mito popular, é como outra mãe, por sua serenidade e inteligência e aos familiares pela compreensão e estímulo aos estudos.

Aos meus estudantes que vem me incentivando, mesmo sem ter consciência, a buscar sempre mais conhecimento e me desafiando a me tornar uma profissional

melhor. Em especial à minha filha científica, Yasmin Vieira, que admiro não só como a profissional que se tornou, mas como amiga.

Ao Centro Tecnológico de Pedras, Gemas e Joias do Rio Grande do Sul da Universidade de Passo Fundo (CTPG&JRS-UPF), o Sindicato das Indústrias Joalheiras, Mineração, Lapidação, Beneficiamento, Transformação de Pedras Preciosas e Semipreciosas do Estado do Rio Grande do Sul (Sindipedras), o APL de Pedras, Gemas e Joias, a Associação dos Pequenos Pedristas de Soledade (Appesol), o Sindicato das Indústrias de Joalheria e Lapidação de Pedras Preciosas do Nordeste Gaúcho (Sindijoias), à Prefeitura Municipal de Soledade.

Às empresas de comercialização e beneficiamento de gemas de Soledade.

A Universidade de Santiago de Compostela (ETSE/IIT) pela acolhida e amizade, ajuda técnica e ensinamentos, ao professor Dr. Juan Manuel Lema Rodicio, Profa. Dr. Maria Tereza Moreira Vilar, Guilherme Henrique Rodrigues Braz, Yolanda Moldes Diz, Maria Mirón Gamallo, David Raabe, Crescenso Fornari, Andrés Pichel Gutiérrez, Paula Carrera Fernández, Sergio Santorio Aldariz, Maria Nieves Carballo Costa, Andrea Arias Cisterna, Riccardo Bevilacqua, Iana Camara Salim, Ramón Méndez Pampín, Alberto Liñares Lamas, Alba Pedrouso Fuentes, Thelmo A. Lu Chau, Iria Lema Garabatos, David Manuel Kennes Veiga, Lorena González Gil, Lucía Fernández Fernández, Lidia Paredes Barro, Gemma Eibes González, Adrián Arias Baño, Miguel Martínez Quintela, Gumersindo Garrido Fernández, Anuska Mosquera Corral, Antón Taboada Santos, Fernando Garcia Guaita, Chiara Pedizzi e tantos outros colegas na Espanha.

Especial agradecimento a Rosa Arcos Añón pela simpatia e eficiência, as mais que técnicas analíticas, as amigas Mónica Dosil Pías e Mar Orge Álvarez (MaryMonica).

Ao técnico científico do laboratório Ovídio Álvarez Penín pela ajuda com as análises de ecotoxicologia dos efluentes.

Ao Professor Dr. Carlos Vázquez-Vázquez, do laboratório Nanomag pelo fornecimento dos equipamentos, das nanopartículas e sistemas de fotólise utilizados nesta tese.

RESUMO

O setor de Gemas e Joias gaúcho é considerado uma indústria estratégica, através da comercialização do produto como gemas brutas, lapidadas, artefatos, joias, folheados e bijuterias. Destaca-se principalmente por seu potencial exportador e como importante fonte de emprego nas regiões onde se localiza constituído basicamente de pequenas e micro-empresas. A tendência atual de concentração das empresas de beneficiamento de gemas preciosas está no município de Soledade, onde o tingimento de ágatas em cores exóticas com corantes orgânicos vem ganhando espaço em detrimento do uso de corantes de sais inorgânicos. No entanto, este processo gera efluentes com carga poluente que pode ser tóxica, além de resíduos sólidos oriundo dos demais processos. Os corantes mais usualmente empregados do processo de tingimento das ágatas, são a Rodamina B - RhB, Verde Brilhante - VB, Cristal Violeta - CV e Laranja Básico 2 – LB. Neste trabalho avaliou-se a descoloração de efluentes com 8% (v/v) de Álcool Etílico (AE), contendo estes compostos, presentes nos efluentes sintéticos similares à indústria de tingimento de ágatas através do parâmetro cor, por ozonização assistida por UV, fotocatalise heterogênea com reagente adicional (H₂O₂), tratamento enzimático com *Trametes versicolor*, nanopartículas magnéticas e nanocompósitos. As soluções tratadas nestas condições foram avaliadas para toxicidade e comparados com a legislação vigente. Os melhores resultados foram obtidos pela fotocatalise heterogênea e ozonização/UV, obtendo uma descoloração dos corantes da ordem de 80 a 99,99%.

ABSTRACT

The Brazilian Gems and Jewellery sector is considered a strategic industry, through the commercialization of the product with raw gems, cut gemstones, artifacts, jewelry. It stands out mainly for its export potential and as an important source of employment in the regions where it is basically composed of small and micro enterprises. The current trend of concentration of gemstone processing companies is in the municipality of Soledade, where the dyeing of agates in exotic colors with organic dyes has been gaining ground over the use of inorganic salt dyes. However, this process generates effluents with pollutant charge that can be toxic, as well as solid waste from other processes. The most commonly used dyes in the agate dyeing process are Rhodamine B - RhB, Brilliant Green - VB, Crystal Violet - CV and Basic Orange 2 - LB. This work evaluated the discoloration of these compounds, present in synthetic effluents like the agate dyeing industry through the color parameter, by UV assisted ozonation, heterogeneous photocatalysis with additional reagent (H_2O_2), enzymatic treatment with *Trametes versicolor*, magnetic nanoparticles and nanocomposites. Solutions treated under these conditions were evaluated for toxicity and compared with current legislation. The best results were obtained by heterogeneous photocatalysis and ozonation / UV, obtaining a color discoloration of 80 to 99.99%.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Placas de ágata natural e artificialmente coloridas.	21
Figura 2 Mapa Gemológico da região sul do Brasil (PR, SC e RS)	24
Figuras 3 e 4 Exemplos de ágata bruta e ágata tingida e polida do RS.	26
Figura 5 Características dos corantes utilizados no tingimento de ágatas e sua representação química estrutural na forma sólida.	27
Figura 6 Levantamento de literatura publicada sobre os corantes em estudo.	27
Figura 7 ETE situada no SENAI em Soledade	30
Figura 8 Diagrama computacional de fita de Tv. O arranjo da estrutura do domínio é representado em códigos de cores diferentes (D1 – D3).	39
Figura 9 Representação da mediação para oxidação enzimática.	43
Figura 10 Representação esquemática da via sintética para nanopartículas de sílica modificadas com lacase	45
Figura 11 Representação esquemática de três tipos de materiais magnéticos nanoestruturados.	46
Figura 12 Conjugado NP-biomolecular (<i>por exemplo</i> , substrato) interagindo com uma proteína (<i>por exemplo</i> , enzima).	48
Figura 13 A) Representação do monômero de PAA e B) Representação do monômero de PEI	52
Figura 14 A) Representação de fragmento de PEI linear; B) ramificação típica e C) dendrímeros PEI	53
Figura 15 Esquema do reator SR1.....	55
Figura 16 Esquema do reator SR2.....	56
Figura 17 Esquema do reator SR3.....	57
Figura 18 Equipamentos utilizados para ozonização.	58

Figura 19 Esquema do SR4 de fotocatalise (homogênea e heterogênea) com lâmpada UV 254 nm .	59
Figura 20 Aspecto rosa avermelhado intenso dos efluentes contendo os corantes a) Simulado com 20 mg L ⁻¹ RhB; b) Simulado contendo 200 mg L ⁻¹ de RhB.....	61
Figura 21 Imagem da placa de determinação espectrofotométrica multipoços e equipamento de análise na região do visível BioTek®.	65
Figura 22 Reator de bancada utilizado no processo de degradação dos corantes, com nanopartículas magnéticas e suspensão da NPsm imobilizada em sílica funcionalizada.	67
Figura 23 Representação da condensação do TEOS.	69
Figura 24 Esquema ilustrativo de separação das NPsm do meio reacional via imantação após degradação do corante azul índigo em solução a 20 mg L ⁻¹ após 10 min. por NPsm@PEI.	71
Figura 25 Equipamento de análise de toxicidade Microtox® com kit de reagentes para realização do ensaio de toxicidade.	72
Figura 26. Cor relativa a RhB em função do tempo de irradiação UV com pH variando de 3 a 12 em um efluente sintético composto por 200 mg L ⁻¹ RhB e solução aquosa contendo álcool etílico a 8% (v/v), usando 1 g L ⁻¹ de TiO ₂ (a) ou 1 g L ⁻¹ de ZnO (b) como catalisador e temperatura de 30 °C sob agitação constante.....	75
Figura 27. Coloração de RhB restante (%) em função do tempo de irradiação UV variando a concentração do catalisador de 1 a 5 g L ⁻¹ em um efluente sintético com 200 mg L ⁻¹ de RhB solução aquosa com 8% de álcool etílico (v/v), usando TiO ₂ (a) e ZnO (b) como catalisadores, na temperatura de 30 °C e pH 10 sob agitação constante.....	76
Figura 28. Degradação da coloração de CV, RhB, LB e VB em função do tempo de irradiação UV na concentração do catalisador de 2,5 g L ⁻¹ em um efluente sintético composto por 200 mg L ⁻¹ de cada corante e solução aquosa contendo 8% de álcool etílico (v/v), usando ZnO e TiO ₂ como catalisadores sólidos, na temperatura de 30 °C e pH 10 sob agitação constante.	77

- Figura 29. Aspecto do efluente simulado com 200 mg L^{-1} de cada corante contendo a coloração de CV, RhB, LB e VB em solução aquosa com 8% de álcool etílico (v/v), e após tratado usando ZnO como catalisador sólido, na temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e pH 10 sob irradiação UV e agitação constante por 100 min.....78
- Figura 30 Degradação da cor do corante RhB com 200 mg L^{-1} no efluente contendo 8% de AE (v/v), tratado com ozonização (e radiação UV, em condições de pH 7,8 com diversas temperaturas reacionais mantidas com banho termostático.78
- Figura 31 Degradação da cor de amostra de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em H_2O : AE (92:8% v/v), com ozonização assistida por radiação UV ($200 \text{ O}_3 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), aspecto da cor inicial e após a temperaturas de 50 e $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 100 min.....79
- Figura 32 Degradação da cor de amostra de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em H_2O : AE (92:8% v/v), com ozonização assistida por radiação UV ($200 \text{ O}_3 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) a diferentes pHs por 100 min.79
- Figura 33 Degradação da cor de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em água:AE 8% (v/v) com ozonização assistida com radiação UV ($200 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ O}_3$) no tempo de 100 min.
- Figura 34 Degradação da cor de amostras de efluente simulado de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em H_2O : AE (92:8% v/v), em diversas concentrações de corante: H_2O_2 com radiação UV e ozonização assistida por UV ($200 \text{ O}_3 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), pH do meio reacional a 10,00, a temperatura constante de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 100 min.....81
- Figura 35 Degradação da cor de soluções simuladas contendo os corantes RhB, CV, VB e LB a 200 mg L^{-1} em água:AE 8% (v/v) com ozonização assistida com radiação UV ($200 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ O}_3$) no tempo de 100 min. pH 10 e temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$, concentração molar de corante 1:9 mols de H_2O_281
- Figura 36 Descoloração (%) da cor de soluções dos corantes em meio tampão fosfato, citrato com concentração de 200 mg L^{-1} com agitação constante de 150 rpm a $30 \text{ }^\circ\text{C}$82
- Figura 37 Ciclos de degradação do corante 20 mg L^{-1} VB em solução aquosa em tampão pH 5,0 acetato com TVL com 1000 U.L^{-1} com agitação a 150 rpm na temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, volume total de 10 mL e tempo de 10 dias. Controles sem a presença da enzima Tv nas mesmas condições.....83

- Figura 38 Degradação do corante 20 mg L⁻¹ VB em solução aquosa em tampão pH 5,0 acetato com TVI em Fesm@SiO₂ com 1000 U L⁻¹ com agitação a 150 rpm na temperatura de 30 °C, volume total de 10 mL e ciclo de 10 dias. Controles sem a presença da enzima Tv nas mesmas condições.....84
- Figura 39 Degradação do corante 200 mg L⁻¹ RhB em solução aquosa em tampão pH 7,0 fosfato com TVI em Fesm@SiO₂ com 1000 U L⁻¹ com mediador ABTS, agitação a 150 rpm na temperatura de 30 °C, volume total de 10 mL e tempo de 10 dias. Controles sem a presença da enzima Tv nas mesmas condições.....85
- Figura 40 NPsm para efluente simulado de 200 mg L⁻¹ 8% (v/v) água:AE de RhB com 0,07 mols L⁻¹ de NPm, 0,07 mols L⁻¹ de NPm (4,0 g L⁻¹) de concentração equivalente em Fe²⁺, 12 g L⁻¹ de H₂O₂ (0,35 mols L⁻¹), temperatura constante de 30 ± 2 °C, agitação a 100 rpm, volume total do reator 5 mL, tempo de reação de 70 h.....86
- Figura 41 NPsm PEI e PAA em processo Fenton e foto Fenton, concentração de 200 mg L⁻¹ RhB 8% (v/v) água:AE, pH 3,0 HCl_(aq), 0,07% e 0,14% NPm@PEI, 12 g L⁻¹ de H₂O₂ (0,35 mols L⁻¹), a 30 ± 2 °C, agitação magnética a 150 rpm, volume de reação de 4 mL, POA foto Fenton, UV, realizados controles sem UV e NP e sem H₂O₂, sistema monitorado por 180 min.86
- Figura 42 Aspectos do tratamento Fenton e foto Fenton com as NPsm.....87

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ACRÔNIMOS E ABREVIATURAS

UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UPF	Universidade de Passo Fundo
IMED	Instituto Metodista de Educação
UNOESC	Universidade do Oeste de Santa Catarina
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
PDSE	Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior
PPGE3M	Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais
LTM	Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental
CTPG&JRS	Centro Tecnológico de Pedras, Gemas e Joias do Rio Grande do Sul
ETSE	Escola de Tecnologia Superior de Engenharia da Universidade de Santiago de Compostela
USC	Universidade de Santiago de Compostela
IIT	Instituto de Investigações Tecnológicas da Universidade de Santiago de Compostela
NANOMAG	Departamento de Física Aplicada da Universidade de Santiago de Compostela
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT	Carbono Orgânico Total
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
FT	Fator de Toxicidade
LD	Limite de Detecção
PA	Grau de pureza de compostos Para Análise
pH	potencial hidrogeniônico
POA	Processo Oxidativo Avançado
POAs	Processos Oxidativos Avançados
SF	Fe ₂ SO ₄ Sulfato Ferroso
UV	Radiação Ultravioleta
ISO	Organização Internacional para Padronização (ISO do inglês: <i>International Organization for Standardization</i>)

ASTM	Sociedade Americana de Métodos e Padrões, do inglês: <i>American Society for Test Method's</i>
Ma	Mestre
RS	Rio Grande do Sul
SENAI	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
Sindipedras	Sindicato das Indústrias de Joalheria e Lapidação de Pedras Preciosas do Nordeste Gaúcho
APPESOL	Associação dos Pequenos Pedristas de Soledade
Sebrae	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
PIB	Produto Interno Bruto
Cl	Cloro
Cl ⁻	Íon cloreto
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
•OH	Radical hidroxila
RO ₂ •	Radical peroxil
VIS	Visível
TiO ₂	Dióxido de Titânio
ZnO	Óxido de Zinco
O ₃	Ozônio
O _{3(g)}	Ozônio gasoso
Tv	<i>Trametes versicolor</i>
ELL	Enzima Lacase Livre
TVL	Enzima <i>Trametes versicolor</i> Livre
TVI	Enzima <i>Trametes versicolor</i> Imobilizada
WRF	fungos da podridão branca, do inglês: <i>White-Rot Fungi</i>
ELI	Enzima Lacase Imobilizada
Cu	Átomo de cobre
MCO	Enzimas multicobre oxidase, do Inglês: <i>Multi Copper Oxidase</i>
SML	Sistemas Mediadores de Lacase
PHAs	Hidrocarbonetos Poli Aromáticos (PHAs, do inglês: <i>Poly Aromatic Hydrocarbons</i>)
ABTS	2,2' Azino bis 3 ethil benzo tiazoline-6-ácido sulfônico di amônio
HBT	N-hidroxibenzotriazol

NPs	Nanopartículas
NPs@Fe	Nanopartículas de Ferro
NPsm	Nanopartículas magnetizadas
Fe	Ferro
Fe ²⁺	Íons Ferro II (ferrosos)
Fe ³⁺	Íons Ferro III (fêrricos)
Fe ₃ O ₄	Magnetita
γ-Fe ₂ O ₃	Maghemita
Fe _m	Ferro magnético
PEI	Poli Etileno Imina
PAA	Ácido Poli Acrílico
PVA	Álcool Polivinílico
Teflon®	É a marca registrada do PTFE Politetrafluoretileno da DuPont®
Tv	<i>Trametes versicolor</i>
λ	Comprimento de onda
CONSEMA	Conselho Estadual do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul
°C	Graus Celsius
APL	Arranjo Produtivo Local
kg	Quilograma
g	Gramma
mg	Miligramma
L	Litro
mL	Mililitro
%	Porcentagem
aq	Aquoso
IBGM	Instituto Brasileiro de Gemas e Metais Preciosos
nm	Nanômetros
V	Volumes
ℓ	Líquido
FeSO _{4(aq)}	Sulfato de Ferro II
mg	Miligramma
AEC	Antes da Era Comum
EUA	Estados Unidos da América

LMG	Leuco-verde malaquita do inglês: <i>Leuco-Malachite Green</i>
W	Watts
HID/HPL	<i>High Intensity Discharge/High Mercury Pressure</i>
AE	Álcool etílico
BV	Banda de Valência
BC	Bandas de Condução
V	Volts
TEOS	$C_8H_{20}O_4Si$, Tetra etil orto silicato/ortossilicato de tetraetilo, do Inglês: <i>Tetra Ethyl Orto Silane</i>
RhB	Corante Rodamina B
rpm	Rotações por minuto
LB	Corante Laranja Básico 2
VB	Corante Verde Brilhante ou Verde Malaquita
CV	Corante Cristal Violeta
VS	Corante Vermelho Sangue (sistema de 30% LB e 70% RhB)
η	Nanometro

ÍNDICE

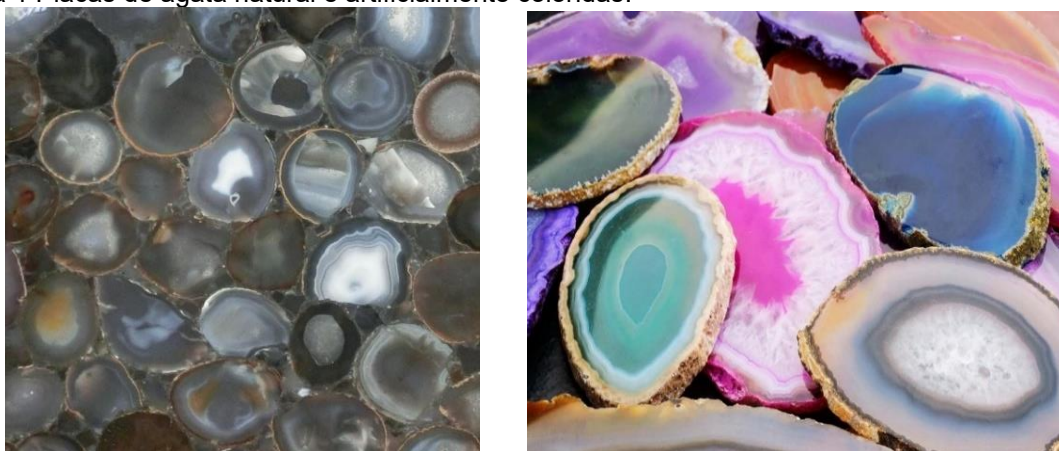
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 OBJETIVOS.....	23
3 REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1 GEMAS: OCORRÊNCIA, CARACTERÍSTICAS E HISTÓRICO.....	24
3.2 TINGIMENTO DE ÁGATAS COM CORANTES ORGÂNICOS	25
3.3 TINGIMENTO DE ÁGATAS E PRODUÇÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS.....	28
3.4 PROCESSOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADOS	31
3.4.1 Fotólise (H ₂ O ₂ /UV).....	32
3.4.2 Processo Fenton.....	33
3.4.3 Processo foto Fenton homogêneo e heterogêneo.....	34
3.5 OZONIZAÇÃO	35
3.6 FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA COM SEMICONDUTORES.....	36
3.7 DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA.....	36
3.7.1 Enzimas como Biocatalisadores e suas Aplicações	37
3.7.2 Lacases: Aspectos bioquímicos e microbiológicos e aplicações	38
3.7.3 Aplicação de lacases fúngicas.....	42
3.7.4 Imobilização enzimática.....	44
3.8 NANOPARTÍCULAS	45
3.8.1 Nanopartículas de Sílica (SiO ₂)	45
3.8.2 Nanocompósitos revestidos com polímeros	46
3.8.3 Nanopartículas de magnetita revestidas.....	49
3.9 ECOTOXICIDADE MICROTOX [®]	54
3.9.1 Microtox [®] Test System	54
4 MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1 MATERIAIS.....	55
4.1.1 Reagentes e equipamentos.....	55
4.1.2 Sistemas Reatores	55
4.2 MÉTODOS.....	59
4.2.1 Caracterização dos efluentes	59
4.2.2 Efluentes simulados (ES)	60
4.2.3 Determinação da cor dos efluentes por espectrofotometria do visível.....	61
4.2.4 Fotocatálise heterogênea utilizando semicondutores	61
4.2.5 Ozonização/UV	62
4.2.6 Catálise enzimática.....	63

4.2.7	Determinação da atividade de lacase.....	64
4.2.8	Degradação com enzima livre (TVL)	65
4.2.9	Mediador para degradação enzimática.....	66
4.2.10	Imobilização da enzima em nanopartículas de sílica.....	66
4.2.11	Preparação das nanopartículas.....	68
4.2.12	Preparação de nanopartículas magnéticas revestidas de TiO ₂	70
4.2.13	Processo Fenton, foto Fenton e nanopartículas magnéticas (NPsm) para a degradação da Rodamina B.....	70
4.2.14	Testes de Toxicidade	72
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
5.1	FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA	74
5.2	OZONIZAÇÃO/UV DO EFLUENTE SIMULADO	78
5.2.1	Avaliação da temperatura para ozonização de efluentes simulados de RhB78	
5.2.2	Ozonização/UV para diferentes pHs dos efluentes de RhB	80
5.2.3	Ozonização/UV com Peróxido de Hidrogênio.....	80
5.3	TRATAMENTO COM ENZIMA TVL.....	82
5.3.1	Degradação dos corantes com TVL em diversos pHs	82
5.3.2	Degradação dos corantes com TVL e imobilizada com NPsm	83
5.4	TRATAMENTO DO EFLUENTE COM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS .	85
5.4.1	Fenton com nanopartículas de magnetita.....	85
5.4.2	Foto Fenton com nanopartículas de magnetita	86
5.5	TOXICIDADE DO EFLUENTE BRUTO E TRATADO	88
6	CONCLUSÕES.....	90
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	92
8	REFERÊNCIAS	93
9	ANEXOS	118

1 INTRODUÇÃO

A produção de ágatas é um importante setor econômico no Estado do Rio Grande do Sul. A ágata é um tipo de quartzo, poroso e apresenta diversas colorações naturais (BRUM *et al.*, 1998; HEANEY e DAVIS, 1995). No entanto, devido a uma questão mercadológica, é submetida a processos de tingimento, utilizando corantes para agregar valor ao produto final (CARISSIMI *et al.*, 2000; KNECHT, 1957) - exemplares de placas de ágata natural e tingidas são apresentadas na Figura 1.

Figura 1 Placas de ágata natural e artificialmente coloridas.



Fonte: Autora.

O processo de tingimento gera um passivo ambiental devido ao volume de resíduos, que pode eventualmente não passar pelo tratamento e destinação adequada (SILVA, PETTER e SCHNEIDER, 2007; SILVA e SCHNEIDER, 2015). Ainda, os efluentes provenientes dos tingimentos, quando não corretamente tratados, podem acabar sendo dispostos em corpos hídricos interferindo na penetração da luz solar, retardando a fotossíntese, inibindo o crescimento da biota aquática e afetando a solubilidade de gases na água (BANAT *et al.*, 1996; FORGACS, CSERHÁTI e OROS, 2004).

Devido à legislação governamental mais rígida sobre a liberação de efluentes líquidos contaminados no meio ambiente (RS, 2017a), o tratamento de águas residuárias é um campo de pesquisa crescente. Consequentemente, há necessidade de tratamentos cada vez mais eficientes (BABUPONNUSAMI e MUTHUKUMAR, 2014) com a possibilidade de reuso no próprio processo de tingimento das ágatas. Além dos benefícios ambientais, há a redução dos custos operacionais (CANEPA, PEREIRA e LANNA, 1999), minimizando os gastos financeiros.

No caso de efluentes contendo corantes orgânicos, os métodos tradicionalmente empregados para o tratamento são a oxidação, a precipitação química e/ou adsorção (BARROS *et al.*, 2000; VASCONCELOS *et al.*, 2016). Podem apresentar as seguintes desvantagens: alto custo, baixa eficiência, produção subprodutos tóxicos (PUVANESWARI, MUTHUKRISHNAN e GUNASEKARAN, 2006) e, no caso da adsorção e precipitação, apenas a transferência dos contaminantes de uma fase para outra (KONSTANTINO e ALBANIS, 2004).

Tradicionalmente, o setor trata os efluentes com corantes orgânicos com o uso de hipoclorito de sódio (NaClO). O processo apresenta um baixo desempenho e pode formar compostos organoclorados (PIZZOLATO *et al.*, 2002). A alternativa são os Processos Oxidativos Avançados (POAs), com geração do radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$). Os POAs têm o potencial para degradar parcial ou totalmente compostos orgânicos (GOGATE e PANDIT, 2004). Pode-se utilizar da fotólise direta (DA SILVA *et al.*, 2017), processos homogêneos e heterogêneos baseados na reação de Fenton e foto Fenton (JAIN *et al.*, 2018) catálise heterogênea com assistência de radiação Ultravioleta (UV) ou não (NABEEL e WASEEM, 2018), catálise enzimática livre ou imobilizada (ASGHER, NOREEN e BILAL, 2017; DWIVEDI *et al.*, 2011) e utilização de nanomateriais magnéticos (KHARISOV *et al.*, 2012) e compósitos como suporte para catalisadores heterogêneos ou enzimáticos (BILAL *et al.*, 2017).

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do presente trabalho foi investigar e comparar o emprego da fotocatalise heterogênea, ozonização, catálise enzimática empregando enzima de Lacase *Trametes versicolor* (Tv) livre (TVL) e imobilizada (TVI) em nanopartículas magnéticas, nanocompósitos magnéticos com imobilização de TiO₂, Fe@PEI e Fe@PAA para tratamento do efluente líquido sintético contendo 4 corantes orgânicos utilizados no tingimento de ágatas.

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar o tratamento do efluente simulado (ES) contendo RhB através de fotocatalise heterogênea com o uso de TiO₂ e ZnO, otimizando parâmetros de pH do meio reacional, quantidade de catalisadores e tempo de irradiação UV;
- Avaliar o tratamento do efluente simulado contendo RhB através de ozonização assistida por radiação UV e aplicar os melhores parâmetros de tratamento (condição ótima de temperatura, pH, concentração corante/H₂O₂) para a descoloração de efluentes contendo RhB, CV, VB e LB;
- determinar a atividade das enzimas lacase Tv (*Trametes versicolor*) TVL (livre) e TVI (imobilizada) em nanopartículas magnéticas e avaliar o tratamento dos efluentes sintéticos contendo corantes RhB, CV, VB e LB;
- Avaliar os tratamentos Fenton e foto Fenton do ES de RhB utilizando 3 nanopartículas magnéticas (NPsm) revestidas com TiO₂, polietilenoimina (PEI) e ácido poliacrílico (PAA);
- Avaliar a ecotoxicidade com Microtox[®] dos efluentes brutos e tratados nas melhores condições;

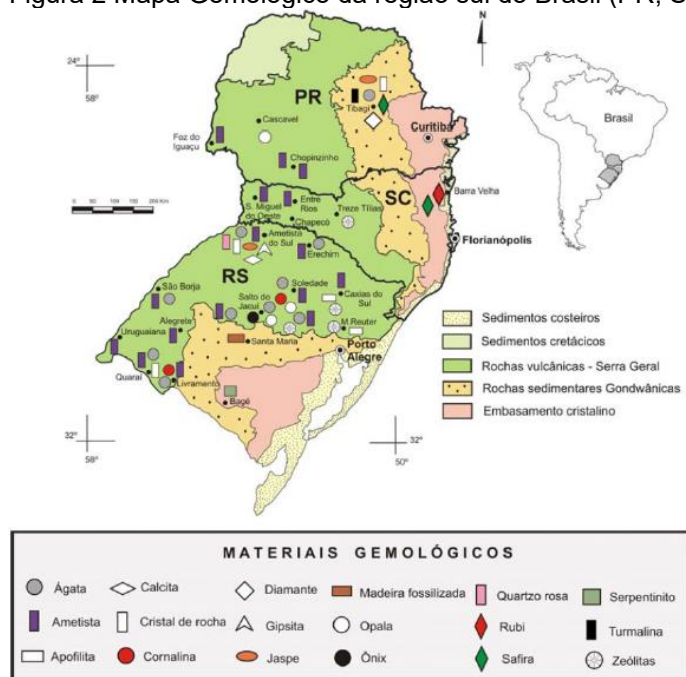
3 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão desta tese versa sobre a ocorrência dos geodos de ágatas, uso de corantes e geração de efluentes líquidos no processo do tingimento das ágatas e os processos aplicados no tratamento de efluentes contendo estes corantes. Abordará os fundamentos dos POAs como reações baseadas nos processos Fenton, foto Fenton, fotocatalise heterogênea, ozonização/UV, tratamentos enzimáticos, com nanopartículas e nanocompósitos magnéticos e de toxicidade Microtox® dos efluentes.

3.1 GEMAS: OCORRÊNCIA, CARACTERÍSTICAS E HISTÓRICO

Desde os primórdios da civilização, as gemas e joias têm sido objetos que caracterizam a humanidade, dando-lhe uma identidade, podendo destacar o indivíduo e o diferenciar em sua sociedade (LISBÔA, 2011; LISBÔA e BARROS, 2016; MANFRON *et al.*, 2017). Apesar de não existirem estatísticas de produção confiáveis, o Brasil é reconhecido como um dos principais produtores, tanto pela variedade quanto pela quantidade de gemas encontradas em seu subsolo (JUCHEM *et al.*, 2007). A Figura 2 apresenta o mapa gemológico da região Sul do Brasil.

Figura 2 Mapa Gemológico da região sul do Brasil (PR, SC e RS) .



Fonte: Modificado de Juchem (2007).

O Instituto Brasileiro de Gemas e Minerais Preciosos (IBGM), em 2018, estabelece um recorde nas exportações brasileiras da cadeia produtiva de gemas e joias, chegando a US \$ 1,5 bilhão de dólares americanos (CIDADE *et al.*, 2016; IBGM, 2019).

Atualmente, estima-se que o Brasil seja responsável pela produção de cerca de um terço do volume das gemas do mundo, excetuados o diamante, o rubi e a safira (IBGM, 2018). As variedades gemológicas do quartzo cristalino são muito abundantes no Brasil.

Com cerca de 30 mil habitantes, a cidade de Soledade, conhecida como a “capital das pedras preciosas”, tornou-se pólo industrial de minerais e gemas preciosas e o maior centro industrial e comercial devido à presença de diversas empresas do setor na região, na cidade foi registrado o maior volume de extração de ágata, estimado em 400 toneladas mês⁻¹ (HARTMANN, 2010; 2014). Em 2013, 170 empresas estavam ativas no setor (ZANATTA, 2014), e é o maior e principal local na extração, processamento e comercialização de pedras preciosas no RS. Atualmente, possui uma área industrial e comercial de ativo gemológico, responsável por grande parte de sua economia; 71% das empresas nessa área são exportadoras (BATISTI e TATSCH, 2012). A atividade é responsável por 32% do PIB da cidade e pela maior parte da oferta de emprego (6000 postos diretos e indiretos) na região (COSTA, 2016).

3.2 TINGIMENTO DE ÁGATAS COM CORANTES ORGÂNICOS

As ágatas do RS têm, como característica, uma estrutura bandeada (SAMPAIO e TUBINO, 1999). Os grãos de quartzo formam bandas fibrosas, produzindo diferentes graus de porosidade, característica física fundamental para a impregnação dos agentes responsáveis pela coloração artificial. Encontram-se ágatas que apresentam diversas colorações naturais, nas cores preta, vermelha e laranja. A ágata que predomina nestas jazidas é a “Umbú”, de coloração acinzentada e com bandeamento fraco ou imperceptível na maioria das vezes (DAMBROS, 1998). Afim de melhorar sua aceitação e aproveitando sua estrutura e possibilidade de coloração artificial e por uma questão mercadológica é submetida a processos de tingimento utilizando corantes para agregação de valor ao produto final, um exemplo está representado nas Figuras 3 e 4 a seguir (KNECHT, 1957; OLIVEIRA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2007).

Figuras 3 e 4 Exemplos de ágata bruta e ágata tingida e polida do RS.



Fonte: Oliveira *et al.* (2010).

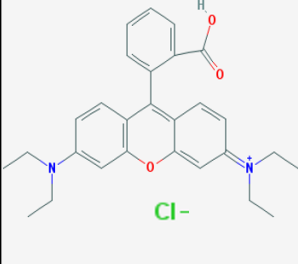
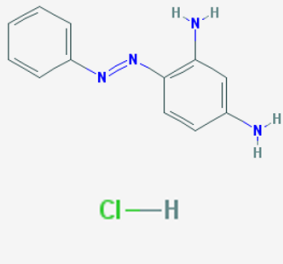
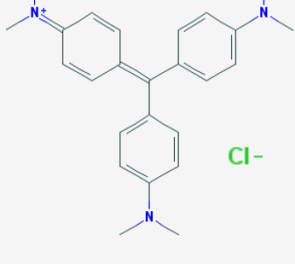
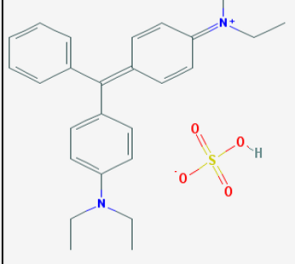
O tingimento de ágatas em cores exóticas obtidas com corantes orgânicos vem ganhando espaço em detrimento dos corantes de sais inorgânicos que têm basicamente duas desvantagens: a) necessidade de um tempo mais longo de processamento (2 a 5 semanas) entre o corte até o polimento e b) elevada carga poluente e tóxica dos sais empregados. Isto acaba gerando dificuldade de tratamento dos efluentes e a geração de uma quantidade grande de resíduos sólidos nos processos convencionais (ERICKSSON e BRUM, 2018).

Assim, devido a menor demanda de tempo (24 h), variedade de possibilidades de cores e menor complexidade de tratamento dos efluentes devido a novas tendências de processos e tecnologias mais ambientalmente amigáveis (JAIN *et al.*, 2018; NIDHEESH, ZHOU e OTURAN, 2018; RIZZO *et al.*, 2019; VERMA e SAMANTA, 2018), os compostos orgânicos estão em expansão como corantes.

Entre os corantes orgânicos, são utilizados principalmente estruturas que conferem cores intensas às ágatas tingidas com concentrações numa faixa de aproximadamente 20 a 33 g L⁻¹ em solução alcoólica (APPSOL, 2018; ERICKSSON e BRUM, 2017; SILVA, 2006). Os efluentes oriundos das águas de lavagens também apresentam coloração e elevada carga orgânica devido aos compostos presentes (CARISSIMI *et al.*, 2000; PIZZOLATO *et al.*, 2002; ROSA *et al.*, 2017). Corantes orgânicos utilizados no tingimento de ágatas são solúveis em água (H₂O), álcool metílico e AE e geralmente tóxicos (BARP, 2009; BRUM, 2011; ERICKSSON, BRUM e SILVA, 2013; SILVA *et al.*, 2007).

Os principais corantes orgânicos utilizados neste trabalho estão apresentados na Figura 5.

Figura 5 Características dos corantes utilizados no tingimento de ágatas e sua representação química estrutural na forma sólida.

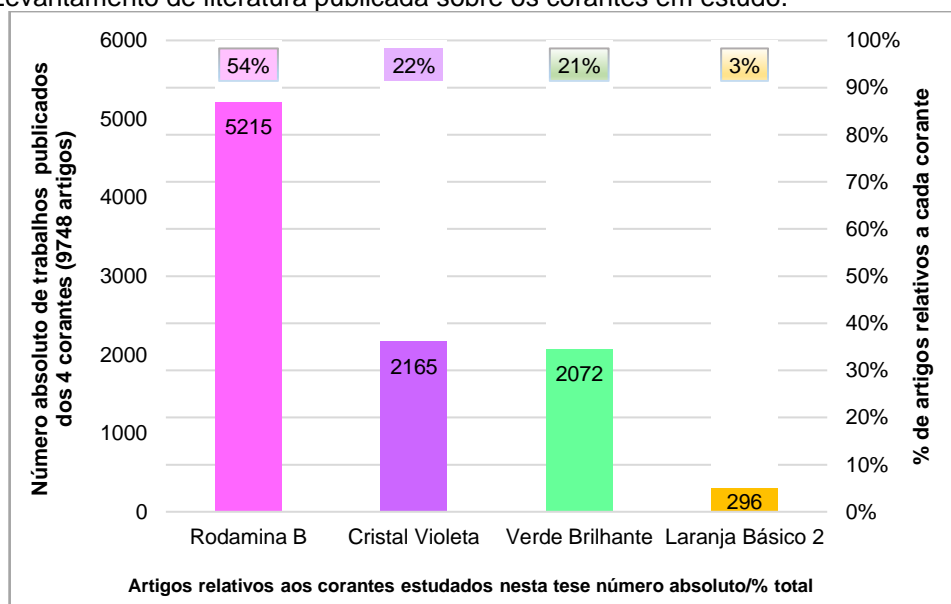
Rodamina B	Laranja Básico 2	Cristal Violeta	Verde Brilhante
CI nº. 45170 CAS nº. 81-88-9 Massa Molar: 479,017 Da λ_{\max} = 555 nm	CI nº. 11270 CAS nº. 532-82-1 Massa Molar: 248,714 Da λ_{\max} = 460 nm	CI nº. 42555 CAS nº. 548-62-9 Massa Molar: 407,99 Da λ_{\max} = 580 nm	CI nº. 42040 CAS nº. 633-03-4 Massa Molar: 482,64 Da λ_{\max} = 618 nm
RhB	LB	CV	VB
			

Fonte: CAS (2019); KIM *et al.* (2016); NIST (2019); PUBCHEM (2019).

Onde: CI = Índice Internacional de Cores; CAS = identificação de substâncias no *Chemical Abstracts Service*, divisão da *Chemical American Society*; Da = unidade de massa molar e λ_{\max} = comprimento de onda de absorção máxima em nm, adotado neste trabalho.

Dos corantes avaliados nesta tese, a distribuição de estudos publicados em artigos revisados por pares na língua inglesa inclusos no Portal de Periódicos CAPES, entre os anos de 2008 a fev. de 2019 está apresentada no gráfico da Figura 6, pela sua distribuição numérica acompanhados dos assuntos “degradação”, “águas residuais” e “corantes”.

Figura 6 Levantamento de literatura publicada sobre os corantes em estudo.



Fonte: Dados a partir do Portal de Periódicos CAPES (2019).

3.3 TINGIMENTO DE ÁGATAS E PRODUÇÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS

O processo de tingimento das ágatas com corantes orgânicos é feito em recipientes de plástico, onde as gemas são colocadas em soluções de etanol (aproximadamente 20-33 g de corante para 1 L de AE combustível). Depois de um período de três dias as peças são removidas da solução de AE e lavadas com água e surfactantes. Esse resíduo gerado, contendo concentrações residuais de corantes e AE, dentre outras substâncias, caracteriza o efluente em estudo. Ericksson e Brum (2016) avaliaram as formulações de tingimento utilizadas nas indústrias do setor em Soledade e obtiveram a informação da concentração uma média de 33 g L⁻¹ de cada corante para a solução de tingimento, o tempo utilizado, segundo os autores, é de 168 h para o processo a quente (corantes inorgânicos) e 240 h a frio (corantes orgânicos). No entanto, a concentração de cada um dos contaminantes presentes no efluente real é heterogênea e com uma diversa gama de compostos recalcitrantes e com toxicidade, o que torna seu tratamento para lançamento e reuso mais complexo (SANTOS, 2017; SINDELAR *et al.*, 2015).

As operações de tingimento de ágata e lavagem das pedras demandam a utilização de consideráveis volumes de água (OLIVEIRA, 2013; VILLAS-BÔAS, 2011; ZANATTA, 2014) e são responsáveis pela produção de efluentes líquidos com coloração e, normalmente, apresentam toxicidade (BARROS *et al.*, 2000; PIZZOLATO *et al.*, 2002; SANTOS, 2017). Estes efluentes são capazes de alterar as características físico-químicas e biológicas dos cursos d'água devido a seu caráter ácido ou básico, presença de cor acentuada, potencial hidrogeniônico (pH) extremo, presença de alta Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), elevadas concentrações de sólidos suspensos (SS), turbidez e compostos tóxicos (CHACKO e SUBRAMANIAM, 2011; KANU e ACHI, 2011; RODRIGUES, SANTOS e SCHNEIDER, 2016), o que leva à depleção do oxigênio dissolvido e modificações da biota local. Contêm compostos tóxicos, bem como íons de metais em níveis acima do permitido pelas legislações vigentes (SZALINSKA *et al.*, 2010; SZALINSKA *et al.*, 2006). Além disso, acredita-se que muitos corantes sejam carcinogênicos em si ou sintetizados a partir de substâncias cancerígenas conhecidas, como a benzidina (CLARKE e ANLIKER, 1980). A maior preocupação é que podem ser descartados e lançados sem tratamento e destinação adequada (SINDELAR *et al.*, 2015; VILASBÔAS, SANTOS e SCHNEIDER, 2017). Normalmente,

a cor é perceptível pelo olho humano em uma concentração de corante superior a 1 mg L⁻¹ e uma concentração média de 300 mg L⁻¹ foi relatada em efluentes de processos industriais de fabricação de têxteis (O'NEILL *et al.*, 1999).

Apesar de produzir ágatas com coloração permanente, o tingimento apresenta o inconveniente do alto custo envolvido no tratamento dos efluentes gerados (PIZZOLATO *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2007).

Entretanto, as águas residuárias das operações de lavagem dos geodos brutos e das placas após as operações de corte também contribuem. Assim, os efluentes gerados, em geral, apresentam em sua composição íons de metais, óleos, surfactantes e corantes orgânicos (MACHADO *et al.*, 2012; MISTURA, OLIVEIRA e VANZ, 2013; MISTURA, SCHNEIDER e VIEIRA, 2019).

O efluente da lavagem contendo corante pode apresentar concentrações de 20 até mais de 2000 mg L⁻¹ destes compostos, Carbono Orgânico Total (COT), DQO, concentração de surfactantes, acentuada coloração, além de significativa toxicidade e pH variado. Rotineiramente, as empresas que tratam o seu efluente utilizam oxidação química com hipoclorito de sódio (NaOCl), mas essa técnica pode resultar em reações indesejadas com a formação de compostos organoclorados (VIEIRA *et al.*, 2018; CARISSIMI e SCHNEIDER, 2010; BARROS *et al.*, 2006; CARISSIMI *et al.*, 2000).

De acordo com o artigo 10º da Resolução 355 do Conselho Estadual do Meio Ambiente (do Rio Grande do Sul - Consema) (RS, 2017a), os efluentes líquidos de fontes poluidoras não devem conferir mudança de coloração (cor verdadeira) ao corpo hídrico receptor.

O SENAI (Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial), com sede na cidade, a partir de 2005, através do financiamento FINEP/SEBRAE/APL, com o intermédio da Engenharia do Sistema FIERGS e da Prefeitura Municipal de Soledade projetou, implantou e iniciou as atividades de uma ETE (Estação de Tratamento de Efluentes) (Figura 7).

Em 2013 atendia a 21 empresas, coletando um volume mensal de 40 m³ de efluentes (MORAES, 2013).

Figura 7 ETE situada no SENAI em Soledade



Fonte: SENAI (2012).

Segundo dados das empresas que efetuam o tingimento, de julho a outubro de 2011, foram recolhidos pelo SENAI de Soledade 120,5 m³ de efluentes deste processo, relativos a 90 h de trabalho em 23 empresas registradas no programa, a ETE tem capacidade para tratar 100 m³ mensais segundo projeto (SENAI e APPSOL, 2011).

A ETE foi operada pelo SENAI Soledade, a primeira coleta ocorreu em 20 junho de 2012, através do “Projeto Empresa Legal”, responsável pelo tratamento convencional dos resíduos líquidos industriais das empresas da Associação de Pequenos Pedristas de Soledade (APPSOL, 2018):

Com a efetivação do Empresa Legal, os resíduos líquidos resultantes do processo de tingimento da ágata eram acondicionados em tanques de captação, localizados em cada uma das empresas de pedras do município, e não mais são descartados diretamente. Conforme um cronograma, esses resíduos líquidos passaram a ser recolhidos por um caminhão da frota municipal, portador de Licença de Operação de acordo com as normas da FEPAM, adequado e equipado com bomba, mangueiras e tanques para realizar a coleta e o transporte e conduzido por um motorista habilitado. O próximo passo é o encaminhamento do material para a ETE, onde realizava-se o tratamento com posterior destinação correta dos resíduos sólidos (APL, 2015).

A ETE funcionou até 2014, quando a estrutura no SENAI foi fechada e o tratamento dos efluentes passou novamente à responsabilidade de cada empresa. Em 2015 houve a coleta de 16 m³ em 6 empresas associadas da APPSOL e enviados para tratamento em uma terceirizada localizada em Guaporé (SENAI e APPSOL, 2011).

3.4 PROCESSOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADOS

As atuais técnicas existentes para a remoção de corantes de efluentes contendo corantes têm sérias restrições, como alto custo, formação de subprodutos perigosos ou requisitos intensivos de custo de energia (NIDHEESH *et al.*, 2018), portanto a busca por novas tecnologias para estes tratamentos é necessária, utilizando diferentes processos de degradação/oxidação e não transferência e massa como no caso da adsorção e tratamentos biológicos com produção de lodos.

Os principais processos empregados para a geração do radical $\bullet\text{OH}$ estão apresentados na Tabela 1, divididos em homogêneos e heterogêneos.

Tabela 1 Classificação de POAs convencionais e emergentes

Tipo de processo	Exemplo
Homogêneo	<p><u>Processos baseados em Fenton:</u></p> <p>Fenton: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$ Fenton como: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{3+} / \text{m}^{n+}$ Sono-Fenton: US / $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$ Foto-Fenton: UV / $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$</p> <p>Sono-foto-Fenton (cavitação)</p> <p>Eletroquímicos:</p> <p>Eletro-Fenton Eletro-coagulação Sono-eletro-Fenton Foto-eletro-Fenton</p> <p>Oxidação com água supercrítica Raios gama e feixe de elétrons Plasmas não térmicos</p> <p><u>Processos baseados em O_3</u></p> <p>O_3 $\text{O}_3 + \text{UV}$ $\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{O}_3 + \text{UV} + \text{H}_2\text{O}_2$</p>
Heterogêneo	<p>$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+} / \text{m}^{n+}$ - outros íons de metais e sólidos $\text{TiO}_2 / \text{ZnO} / \text{CdS}$ e outros semicondutores (dopados ou não) + UV $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^0 / \text{Fe}$ (nano ferro) magnéticos e não magnéticos $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^0$ nano-ferro imobilizado (diversos substratos)</p>

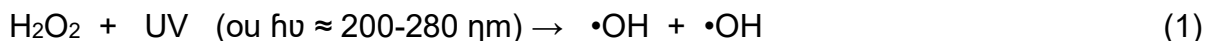
Fonte: Modificado de Babuponnusami e Muthukumar (2014); Jain et al. (2018); Rizzo et al. (2019) .

Os POAs estão assumindo importância na tecnologia ambiental como uma classe de processos que aceleram a oxidação e degradação de contaminantes inorgânicos e orgânicos na água, ar e solo. Os POAs têm sido extensivamente avaliados, principalmente devido à sua capacidade de degradar um grande número de substâncias persistentes através de procedimentos de custo relativamente baixo e de simples operação.

3.4.1 Fotólise (H₂O₂/UV)

Reações de foto-oxidação somente sob excitação eletrônica do substrato orgânico (molécula a qual se pretende degradar) são denominadas reações de fotólise direta e implicam, na maioria dos casos, em transferência eletrônica do substrato no estado excitado (C*) para uma molécula receptora, geralmente o oxigênio molecular em solução. Esta transferência eletrônica forma radicais catiônicos e aniônicos que podem tender a subsequente recombinação, inibindo futuras reações, ou ainda pode ocorrer hidrólise do radical catiônico, responsável por posteriores reações de oxidação. O substrato pode também ser quebrado pela incidência da radiação para formar radicais que reagem com o oxigênio molecular dissolvido formando radicais orgânicos peroxil (RO₂*). Estes radicais RO₂* são considerados os verdadeiros propagadores da reação, podendo levar à completa mineralização do substrato.

Radicais •OH provenientes de H₂O₂ são formados quando a solução aquosa de H₂O₂ é exposta a luz UV (200 a 280 nm). A Equação 1 que representa a reação pode ser descrita como fotólise do H₂O₂ (KARCI *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2014):



A fotólise direta, na maioria das vezes, não é capaz de promover a fotodegradação completa do substrato e geralmente provoca apenas algumas modificações na sua estrutura. No entanto, a sua utilização é bastante interessante quando a degradação por radical •OH não é eficiente (LEGRINI, OLIVEROS e BRAUN, 1993). A degradação de corantes, por exemplo, é possível através de diferentes processos fotoquímicos que necessitam de uma fonte de luz artificial ou luz solar natural, sendo que a maioria destes métodos requer períodos de longo tratamento com fótons de alta energia e raramente alcançam a completa degradação

do poluente. Fontes de baixa energia (por exemplo, a radiação solar natural) não podem ser utilizadas eficientemente no tratamento da maioria dos resíduos, sendo necessária radiação com maior energia, especialmente na região do UV-C (KONSTANTINOUC e ALBANIS, 2004; TEIXEIRA e CANELA, 2007). Assim, é recomendável que os processos de fotodegradação precisem ser associados à fotólise direta ou a outros sistemas. Alguns estudos comparativos demonstram essa necessidade de associação de processos. No entanto, demonstram também que, em algumas condições específicas (NOGUEIRA *et al.*, 2007) o processo de fotólise direta é mais eficiente que os processos indiretos.

3.4.2 Processo Fenton

Estudos mais recentes demonstraram que o mecanismo de oxidação pelos reagentes de Fenton ocorre devido à reatividade do radical $\cdot\text{OH}$ gerado em uma solução ácida por uma decomposição catalítica do H_2O_2 . Na presença de íons Fe^{2+} (ferroso), o peróxido é dividido em $\text{OH}^- + \cdot\text{OH}$, onde substratos orgânicos estão sujeitos a ataques via radical livre pelo radical $\cdot\text{OH}$. A geração do radical inicia com o contato do H_2O_2 com o sulfato ferroso (SF).

O $\cdot\text{OH}$ gerado oxida compostos presentes (FENTON, 1894; TEIXEIRA e JARDIM, 2004). O procedimento requer o ajuste de pH do efluente entre 3,0 e 6,0; adição de íons ferro como catalisador (como uma solução de SF); adição lenta de H_2O_2 (se o pH for elevado, os íons ferro precipitam como $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e decompõe cataliticamente o H_2O_2). Os radicais $\cdot\text{OH}$ e peridroxila ($\text{HOO}\cdot$) formados são oxidantes muito efetivos e são espécies que apresentam tempo de vida muito curto. O radical $\cdot\text{OH}$ é um dos oxidantes mais potentes, abaixo somente do fluoreto (F^-). A velocidade da reação é limitada pela velocidade de geração do radical $\cdot\text{OH}$ que está diretamente relacionado à concentração dos íons ferro II, e, embora em menor extensão, pelo tipo de efluente a ser tratado.

Tipicamente, a razão molar de íons Fe^{2+} : H_2O_2 é de 1:5 a 10 (m/m) e a concentração de íons ferro é menor que 25-50 mg L^{-1} . Esses valores podem utilizar um tempo excessivo de reação (10-24 h). Isto ocorre quando os produtos de oxidação (por exemplo, ácidos orgânicos) sequestram os íons ferro e o removem do ciclo catalítico. A reação química do $\cdot\text{OH}$, ou a reatividade do radical, na água pode ser por

adição: quando o $\bullet\text{OH}$ se adiciona a um composto insaturado (alifático ou aromático) para formar como produto um radical livre; abstração do hidrogênio: quando um radical orgânico livre e água são formados; transferência de elétron: quando íons de alta valência, ou um átomo ou radical livre são formados se um íon mononegativo é oxidado; interação radical: quando um $\bullet\text{OH}$ reage com outro $\bullet\text{OH}$, ou com um radical diferente para formar um produto estável.

A reação de Fenton tem sido muito estudada e, em muitos casos, eficientemente utilizada em tratamento de águas residuais para a degradação de substâncias orgânicas (BAUTISTA *et al.*, 2008; NEYENS e BAEYENS, 2003).

3.4.3 Processo foto Fenton homogêneo e heterogêneo

A reação de Fenton é fortemente aumentada na presença de radiação UV, processo este conhecido como foto Fenton. É sabido que a luz pode estimular a decomposição de compostos em radicais que são, geralmente, extremamente ativos e, conseqüentemente, podem reagir com compostos orgânicos. Este radical é produzido efetivamente pela exposição do H_2O_2 , em meio aquoso, à radiação UV com $\lambda < 250$ nm. A exposição de substâncias orgânicas à radiação UV provoca uma intensiva oxidação de compostos orgânicos (HOU *et al.*, 2011).

O processo foto Fenton homogêneo quando promove a exposição de substâncias orgânicas, como os corantes desta tese, à radiação UV, provoca uma intensiva oxidação destes compostos (HERMOSILLA *et al.*, 2015; KANG e HWANG, 2000; NOGUEIRA *et al.*, 2007; PEREZ *et al.*, 2002; SILVA, OLIVEIRA e NOGUEIRA, 2004).

Processos em sistemas heterogêneos que potencializam a formação do radical $\bullet\text{OH}$ nas reações de H_2O_2 e UV com reagente de Fenton, envolvem absorção de UV por óxidos de metais semicondutores como, por exemplo, os óxido de Zinco (ZnO) e dióxido de titânio (TiO_2) suspenso na água e agindo como um catalisador (AMIRI, AYATI e GANJIDOUST, 2016; CHONG *et al.*, 2010; GOMATHI DEVI, NARASIMHA MURTHY e GIRISH KUMAR, 2009; SAHOO, GUPTA e SASIDHARAN PILLAI, 2012; VINU e MADRAS, 2011; ZANGENEH *et al.*, 2015). Os processos heterogêneos foram testados, obtiveram bons resultados de degradação, foram publicados (MISTURA, 2019), não sendo recomendados para a aplicação pretendida

nesta tese, pois na concepção objetiva, o efluente para reuso deve passar pelo menor número de etapas no tratamento na pequena empresa.

3.5 OZONIZAÇÃO

A utilização do ozônio gasoso ($O_{3(g)}$) como reagente para desinfecção e tratamento de águas remonta a década de 1950 (SULZER, 1958).

Entre vários processos de oxidação para tratamento de efluentes, a ozonização mostrou-se eficiente contra poluentes (BILIŃSKA, GMUREK e LEDAKOWICZ, 2017; HOLKAR *et al.*, 2016; KHAMPARIA e JASPAL, 2017; PAŹDZIOR *et al.*, 2017), o ozônio pode ser aplicado como gás, portanto, não aumenta o volume de águas residuais e lodos (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 1999). Quando o $O_{3(g)}$ é transferido para dissolução no meio líquido, no caso a água, o O_3 dissolvido reage com os compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo quaisquer patógenos.

A reação inicial do $O_{3(g)}$ com o grupo de cromóforos de corantes em águas residuárias, é a quebra nestes compostos orgânicos de duplas ligações de carbono, nitrogênio ($-C = C-$, $-N = N-$) e anéis aromáticos, em alguns casos a quantidade de O_3 produzido não é suficiente para degradar todos os compostos do efluente tratado (TURHAN e OZTURKCAN, 2013).

O princípio do método é que o O_3 pode se decompor em oxigênios em várias espécies produzindo radicais, (como radical $\cdot OH$, $\cdot OH_3$, $\cdot OH_4$ e super $\cdot O_2^-$). Os radicais são oxidantes fortes e reagem com várias substâncias. A partir de pesquisas anteriores, demonstrou-se que a taxa de decomposição do O_3 está correlacionada com temperatura, pH e concentração de compostos orgânicos e inorgânicos, concentrações de 0,2 a 3,5 mg L⁻¹ para tratar o corante Índigo e o uso de H_2O_2 melhora a degradação do corante (BADER e HOIGNÉ, 1976; 1981).

A ozonização tem a vantagem da geração *in situ* de oxidantes, o que nem sempre é possível para POAs envolvendo O_3 , peróxidos, fotocatalise (ADAMEK *et al.*, 2013; FENG *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2012; MISTURA e GOBBI, 2014; RUPPERT, BAUER e HEISLER, 1994; SONNTAG, 2008). A maior desvantagem da ozonização é o seu custo, pois este tratamento necessita da geração *in situ* ou insuflação constante de $O_{3(g)}$ devido à sua curta meia-vida de 10 min. em água em um pH 7 (GOSAVI e SHARMA, 2014). Este curto tempo de meia vida pode ser suplementarmente reduzido devido à presença de corante (HERRMANN, 1999). A

estabilidade do O_3 também é afetada pela presença de sais, pH e temperatura (ALVES, 2000). A decomposição do O_3 é mais rápida sob condições alcalinas de $pH > 8,5$. Assim, o monitoramento contínuo do pH do efluente é necessário (LIN e LIU, 1994).

3.6 FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA COM SEMICONDUTORES

Dentre as maneiras de se gerar o radical responsável pelas reações de fotodegradação está o uso de semicondutores fotoativados. A fotocatalise heterogênea utiliza semicondutores para catalisar a reação de foto oxidação de forma eficiente e rápida (HUANG, DONG e TANG, 1993; LEGRINI *et al.*, 1993; NOGUEIRA e JARDIM, 1998). A fotocatalise heterogênea é um POA atraente, uma vez que o processo pode ser conduzido usando catalisadores de baixo custo e é uma tecnologia promissora no tratamento de efluentes industriais e na descontaminação ambiental (ZIOILLI e JARDIM, 1998). O processo é baseado na irradiação de um fotocatalisador, geralmente um semicondutor inorgânico junto com radiação UV que pode ser fornecida por uma fonte de energia renovável (AHMED *et al.*, 2016; HERRMANN, 1999; MUHD JULKAPLI, BAGHERI e BEE ABD HAMID, 2014).

As taxas de oxidação e eficiência do sistema fotocatalítico UV/TiO₂ e UV/ZnO dependem muito dos parâmetros de operação que governam a cinética da descoloração.

Alguns desses parâmetros são temperatura, pH, concentração do semicondutor sólido e tempo de incidência de luz.

Esses parâmetros aumentam ou reduzem a taxa de reação, dependendo da complexidade estrutural do poluente e das tendências hidrofóbicas (CHONG *et al.*, 2010).

3.7 DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA

No século XXI, o setor produtivo industrial busca processos para melhorar também seus tratamentos de resíduos a partir da transição de conceitos tradicionais baseados em compostos e processos químicos para alternativas catalíticas mais verdes, sustentáveis e ambientalmente mais corretas, tanto na escala laboratorial quanto industrial (ZAMPIERI, 2013).

Também pode-se utilizar bactérias no tratamento biológico de efluentes de corantes mesmo tendo ter pouca adaptabilidade e aplicação limitada, mas podendo ser utilizado em uma ampla gama de águas residuais de corantes (KULLA *et al.*, 1983).

Em processos naturais de biodegradação, os fungos são os únicos organismos capazes de mineralizar completamente a lignocelulose, material polimérico aromático natural e recalcitrante, (lignina/celulose), o mais abundante disponível no mundo material. Os fungos produzem enzimas para quebrar polissacarídeos, celulose e hemicelulose, como a lignina (SENTHIVELAN, KANAGARAJ e PANDA, 2016b).

3.7.1 Enzimas como Biocatalisadores e suas Aplicações

As enzimas são catalisadores biológicos que atuam sob condições brandas de temperatura, pH e pressão, atingindo tempos de reação bastante superiores aqueles obtidos em presença de catalisadores químicos convencionais (GOSAVI e SHARMA, 2014). Este comportamento permite uma redução no custo final do processo e evita a formação de subprodutos indesejáveis e mais tóxicos que os originais. Além disso, devido à sua elevada especificidade ao substrato, estereosseletividade e regioespecificidade (ARROYO, 1998; CABRAL, AIRES-BARROS e GAMA, 2003), maior rendimento do processo pode ser atingido, com a obtenção de produtos biodegradáveis reduzindo a quantidade de resíduos gerados. Nesse contexto, o enfoque biotecnológico vem se apresentando como uma opção promissora para sua exploração em diversos tipos de reações (MENDES *et al.*, 2011).

Enzimas são uma classe particularmente versátil de catalisadores. O potencial único das enzimas ainda está longe de ser totalmente explorado, de fato, as estimativas geralmente concordam que <1% dos microrganismos no meio ambiente foram cultivados até hoje e tiveram suas enzimas identificadas. Muitas enzimas estão comercialmente disponíveis, mas os preços podem variar significativamente, dependendo do grau de dificuldade em isolar a enzima e/ou se está disponível a partir de clonagem. A maioria das enzimas usadas atualmente na síntese orgânica e na indústria pode ser produzida em larga escala. Algumas apresentam condições econômicas para serem usadas na produção industrial (HANEFELD, GARDOSSI e MAGNER, 2009).

A catálise de base biológica oferece inúmeros benefícios, juntamente com potenciais aplicações biotecnológicas e ambientais (HALL e BOMMARIUS, 2011).

Destaca-se a vantagem que os processos catalíticos de base biológica são mais eficientes energeticamente do que as metodologias convencionais (CAÑAS e CAMARERO, 2010), sob um processamento moderado, gerando poluição residual secundária insignificante ou desprezível (SHELDON, 2011).

Os fungos da podridão branca (WRF, do inglês: *White-Rot Fungi*) estão entre os poucos grupos de microrganismos capazes de degradar completamente compostos recalcitrantes como os corantes orgânicos.

Em particular, fungos ligninolíticos e suas enzimas oxidativas inespecíficas que têm sido responsáveis pela descoloração de diferentes compostos corantes sintéticos. Assim, o uso de tais fungos está se tornando uma alternativa promissora para substituir ou complementar as tecnologias atuais de remoção de corantes (PUVANESWARI *et al.*, 2006).

As enzimas são catalisadores versáteis com um número crescente de aplicações em biotecnologia. Suas propriedades as tornaram possíveis de serem usadas em processos de tratamento de resíduos e poluentes, e podem ser vantajosas em relação aos tratamentos convencionais já que proporcionam menor consumo de energia. As enzimas oxidoreduzíveis são importantes nos métodos de tratamento de água e esgoto, pois catalisam reações de transferência de elétrons, ou seja, reações de oxirredução. Essas reações são essenciais nos processos de tratamento porque ao promover a redução de alguns compostos, geram a oxidação de moléculas de interesse (DEMARCHE *et al.*, 2012).

3.7.2 Lacases: Aspectos bioquímicos e microbiológicos e aplicações

Como o tratamento de efluentes, tanto industriais como domésticos, é uma obrigatoriedade ambiental, a lacase, dado o seu poder de oxidação, tem sido estudada e aplicada em processos de biorremediação.

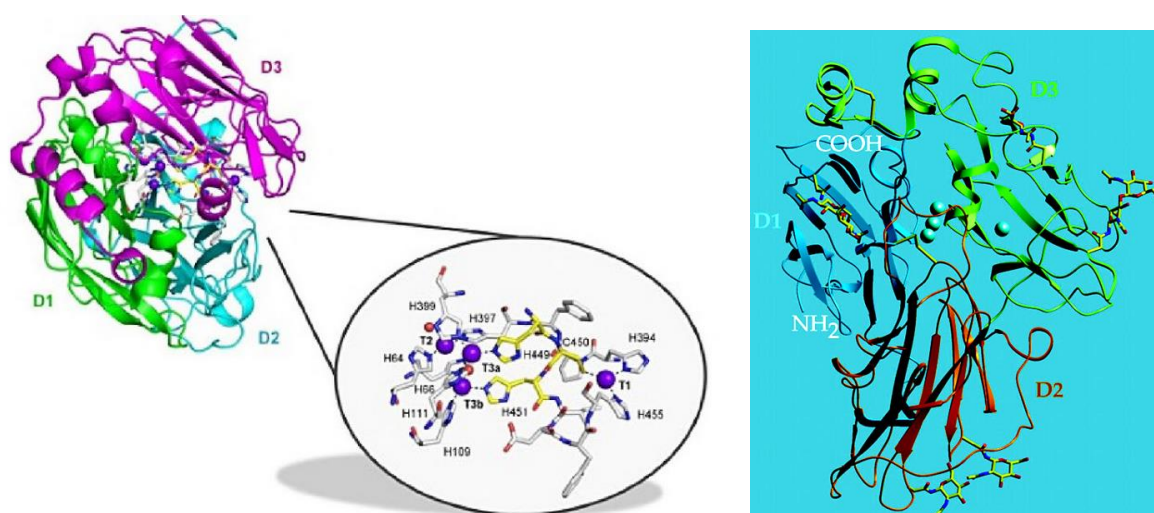
As lacases (p -difenoil: dioxigênio oxidoreduzível, benzenodiol; EC 1.10.3.2) pertence ao grupo de enzimas chamadas de proteínas de cobre azul ou oxidases de cobre azul, são um grupo de enzimas oxidativas cuja exploração como biocatalisador na síntese orgânica foi negligenciada no passado, provavelmente porque não estavam comercialmente disponíveis (KAMESHWAR, BARBER e QIN, 2018).

Lacases são das poucas enzimas estudadas desde o final do século XIX, foi estudada pela primeira vez em 1883 no trabalho de Yoshida (1883) ao analisar a árvore de laca japonesa (*Rhus vernicifera*), produzidas principalmente por basidiomicetos de degradação branca, mas são também detectadas em fungos de degradação parda e mole, em 1896 Bertrand e Laborde demonstraram que as lacases são enzimas fúngicas basicamente. As massas molares relativas estão em torno de 60-100 kDa (PERALTA-ZAMORA *et al.*, 1999; YADAV e YADAV, 2015).

É comercialmente importante, altamente estudada, representando o principal subgrupo das enzimas multicobre oxidase (MCO), pertence ao grupo das oxidases de cobre azuis, chamadas de cupro-proteínas azuis ou apenas oxidases azuis, amplamente distribuídas em plantas, fungos e bactérias, são polifenóis oxidases que catalisam a oxidação de vários compostos, têm funções biológicas diversificadas, incluindo as antagonistas, como seu envolvimento na biossíntese da lignina (em plantas), bem como a degradação deste mesmo polímero (em fungos e bactérias), assim, tornou-se uma candidata a catalisar a oxidação de vários compostos existentes em efluentes ambientais (DWIVEDI *et al.*, 2011).

As lacases, com representação na Figura 8, são glicoproteínas diméricas ou tetraméricas, geralmente apresentam quatro átomos de cobre (Cu) circunvizinhos por monômero.

Figura 8 Diagrama computacional de fita de Tv. O arranjo da estrutura do domínio é representado em códigos de cores diferentes (D1 – D3).



Fonte: Piontek, Antorini e Choinowski (2002).

Na Figura 8, os íons de cobre estão representados como esferas verdes. Carboidratos e ligações dissulfeto são incluídos como modelos de compostos químicos. As aplicações práticas do uso da lacase têm levado a uma busca por fontes da enzima a partir de WRF e ao uso de mediadores que promovem ou facilitam a ação enzimática.

Para realizar a função catalítica, a lacase depende dos átomos de Cu, os quais são distribuídos entre 3 diferentes centros de ligação e são classificados em 3 tipos, cobre 1 ou azul, tipo 2 ou cobre normal e tipo 3 ou centros de Cu binucleares acoplados, diferenciados por possuírem características específicas que os permitem desempenhar papel importante no mecanismo catalítico da enzima (SENTHIVELAN, KANAGARAJ e PANDA, 2016a). Lacases são usadas em uma variedade de aplicações, como para remover compostos tóxicos de sistemas aquáticos e terrestres, para produzir e tratar bebidas, como ferramentas analíticas, como biossensores para estimar a quantidade de fenóis em sucos naturais ou a presença de outras enzimas (PISCITELLI *et al.*, 2010). As lacases foram utilizadas com sucesso na forma imobilizada, bem como dissolvidas em solventes orgânicos, na indústria têxtil, é utilizada desde a lavagem de fibras, corantes e branqueamento, tratamento da DQO de efluentes, oxidação do corante índigo (FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, SANROMÁN e MOLDES, 2013; GIANFREDA, XU e BOLLAG, 1999; MOREIRA *et al.*, 2017; PISCITELLI *et al.*, 2010).

Ela é capaz de oxidar fenóis e aminas aromáticas através da redução de oxigênio molecular a água por um sistema multicobre, resultando na oxidação do hidrogênio do substrato. O centro catalítico consiste em três tipos de Cu com diferentes funções: tipo 1 (cobre azul) catalisa a transferência de elétrons, tipo 2 ativa o oxigênio molecular e tipo 3, um dímero de Cu, é responsável pela captação de oxigênio (THURSTON, 1994; MAYER; STAPLES, 2002).

Lacases possuem diversas aplicações biotecnológicas. Yadav e Yadav (2015) revisaram as aplicações de enzimas ligninolíticas para a deslignificação de materiais lignocelulósicos, remoção de poluentes orgânicos recalcitrantes, tratamento de águas residuais, descoloração de corantes, tratamento de solo, conversão de frações de carvão de alto peso molecular em frações de carvão de baixa massa molar, que poderiam ser usadas como um estoque de alimentos para a produção de produtos químicos de base, biopulping e bio-branqueamento nas indústrias de papel e polimerização enzimática nas indústrias de polímeros. A lacase também provou ser

eficaz na descoloração de efluentes com determinados corantes, como o Azure B, VB, Vermelho Congo, CV, Azul Remazol Brilhante R, entre outros (LI *et al.*, 2014; SATHIYA *et al.*, 2007). Por fim, é também descrito que os WRF têm também aplicação no que diz respeito à degradação de compostos fenólicos, corantes sintéticos, herbicidas e pesticidas, revelando-se assim importantes na biorremediação de solos (EIBES *et al.*, 2015; FAN *et al.*, 2013).

Para um melhor aproveitamento da característica de degradação das lacases, pode-se utilizar mediadores que aceleram a reação. Para corantes, pode-se utilizar compostos que melhoram a reação redox, dentre eles ABTS (Sal de 2,2' Azino bis 3 etil benzo tiazoline-6-ácido sulfônico di amônio), 4-aminofenol, vanilina, ácido 4-hidróxi 3 metoxi benzoico (ácido vanílico), álcool veratrílico, 1 naftol e 2 naftol. Os melhores resultados encontrados por Khammuang e Sarntima (2009) para degradação de corante RhB na concentração de 0,1 mmol L⁻¹ foram obtidos com uso de ABTS como mediador, em 32 °C, obtendo uma descoloração de 80% com atividade da enzima lacase de 20 U L⁻¹ em pH 4,5 em ciclo de 48 h.

Estudos sobre estratégias de imobilização de lacase para o tratamento de contaminantes químicos foram fornecidos pois melhoram sua recuperação e otimizam sua utilização (MINUSSI *et al.*, 2007; SINGH *et al.*, 2018).

Jadhav e Singhal (2013) utilizaram a lacase conjugada com polissacarídeos para promover a degradação de corantes da indústria têxtil, alcançando 53% de descoloração (HOLKAR *et al.*, 2016). Em revisão sobre a degradação de fármacos, foram estudados compostos tais como anti-inflamatórios e hormônios estrogênicos, com lacase do fungo *Myceliophthora thermophila*, obtendo remoções entre 80 e 100% (STADLMAIR *et al.*, 2018). Outros autores alcançaram eficiente degradação de fármacos utilizando lacase (MARCO-URREA *et al.*, 2010). Esta enzima também foi utilizada na oxidação de compostos fenólicos (ZHANG *et al.*, 2017).

Basicamente, todos os usos variados da lacase podem ser atribuídos a uma propriedade da enzima: sua capacidade de produzir radical livre a partir de um substrato adequado. As reações secundárias resultantes são responsáveis pela versatilidade das lacases em resultar em produtos variados (BARBOSA *et al.*, 2013). O uso de lacases na biorremediação também tem sido proposto, novamente presumivelmente devido a essa reação básica de produção de radicais livres (GUIMARÃES *et al.*, 2017; KAMESHWAR *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2018).

3.7.3 Aplicação de lacases fúngicas

Mais recentemente, foi demonstrado que a lacase estava envolvida na formação de radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e radical $\bullet OH$ através da oxidação de hidroquinonas derivadas de lignina na presença de Fe^{3+} e um agente quelante (ANTOŠOVÁ e SYCHROVÁ, 2016). Essas espécies reativas de oxigênio são consideradas na forte atividade degradativa dos WRF que produzem as lacases (IKEHATA, BUCHANAN e SMITH, 2004).

Além da ligninólise, a lacase fúngica promove a oxidação de difenóis, como catecol e hidroquinona, bem como vários monofenóis e aminas aromáticas, a radicais livres que subsequentemente sofrem mais oxidação enzimática a quinonas e seus acoplamentos oxidativos (THURSTON, 1994).

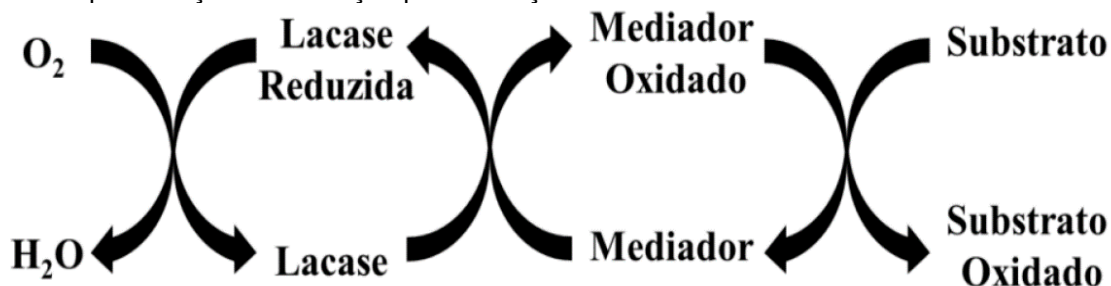
No entanto, a lacase não catalisa a oxidação da tirosina, que é um subproduto único para tirosinase; portanto, essas duas enzimas podem ser diferenciadas por esta reação. A massa molar do composto interfere na capacidade catalítica da enzima, pois compostos de elevada massa têm maior dificuldade de aceder ao centro ativo da enzima. Para esta limitação, utilizam-se os intermediários na oxidação de compostos não fenólicos, assim surgiram os mediadores e seu conceito (FERNANDES, 2015).

Os Sistemas Mediadores de Lacase (SML) são descritos como sistemas reacionais em que são utilizadas moléculas de pequena massa molar passíveis de serem oxidadas pela lacase, gerando radicais com elevado potencial redox, que promovem a oxidação de outros compostos, normalmente não fenólicos.

A lacase também tem seu substrato, N-bis (3,5-dimetoxi-4-hidroxibenzilideno-hidrazina) siringaldazin.

Sabe-se também que lacase pode mediar a oxidação de xenobióticos não-fenólicos tais como Hidrocarbonetos Poli Aromáticos (PHAs, do inglês: *Poly Aromatic Hydrocarbons*) dentre outros como representado na Figura 9 (RIVERA-HOYOS *et al.*, 2013), a oxidação de um mediador redox, que foi introduzido pela primeira vez por Bourbonnais e Paice (1990) utilizam compostos como ABTS, HBT (*N*-hidroxibenzotriazol), o 3-hidroxianthra-nilato, 1-hidroxibenzotriazol (CAÑAS e CAMARERO, 2010), fenol, anilina, Ácido 4-hidroxibenzóico, álcool 4-hidroxibenzílico e alguns compostos não aromáticos contendo grupos sulfidril, como metionina, cisteína e glutatona reduzida (KHAMMUANG e SARNTHIMA, 2009).

Figura 9 Representação da mediação para oxidação enzimática.



Fonte: Modificado de Khammuang e Sarnthima (2009).

Semelhante as lipases e manganês oxidases, o uso de lacase para processos industriais e fins ambientais foi inicialmente estimulado por seu potencial de aplicação especial à indústria de celulose e papel, especialmente a descoloração dos efluentes da planta de branqueamento, bem como remoção do fenol de águas residuais através de oxidação enzimática e precipitação (BOLLAG e LEONOWICZ, 1984; MESSERSCHMIDT, 1993). Estudos sobre descoloração de corantes industriais usando preparações brutas de lacase (RODRÍGUEZ COUTO, 2009), bem como na remoção de alquilfenóis por meio de acoplamento oxidativo (sem adição de mediadores) (ANTOŠOVÁ e SYCHROVÁ, 2016) também foram relatados. Na sua revisão, Capille (2017) observou a capacidade de produção da enzima lacase em meios sólidos e líquidos e verificou que o fungo *Pleurotus ostreatus* descoloriu de 92% do corante CV numa concentração de 20 mg L⁻¹. Obteve a descoloração completa do CV por *Agrobacterium radiobacter* numa concentração de 10 mg L⁻¹, porém quando aumentou a concentração 10 vezes a capacidade de descoloração foi reduzida (CAPILLE, 2017).

O uso da enzima livre tem a vantagem de menor risco de contaminação, não apresentando o custo adicional do suporte e não tendo perda de atividade enzimática devido ao processo de imobilização (ASGHER *et al.*, 2017).

A maioria dos processos fermentativos industriais convencionais utiliza células livres em suspensão, porém o uso de microorganismos imobilizados permite o aumento da produtividade devido a maior concentração destas células (COVIZZI, 2007).

3.7.4 Imobilização enzimática

O termo surgiu pela primeira vez na literatura no início do século XX e se referia às enzimas ligadas diretamente aos suportes. Atualmente, este termo foi estendido para incluir tanto imobilizações diretas nos suportes quanto as imobilizações suportadas com agentes intermediários (CABRAL *et al.*, 2003; HANEFELD *et al.*, 2009).

As primeiras pesquisas sobre imobilização de células microbianas surgiram a partir das observações da capacidade de alguns microrganismos se fixarem naturalmente em superfícies de diferentes ambientes, desde caules de árvores como no caso de microrganismos fitopatogênicos, até cateteres hospitalares em se tratando de bactérias oportunistas. A colonização da superfície por formação de biofilmes é uma estratégia universal das bactérias para a sobrevivência e pode ocorrer naturalmente, como no caso das bactérias formadoras da cárie ou até mesmo em instalações industriais (JUNTER e JOUENNE, 2004).

Desde a década de 1960 as enzimas imobilizadas têm sido empregadas em diversos segmentos, incluindo a síntese de compostos bioativos e de novos biopolímeros, construção de biossensores, terapia enzimática e processos em indústrias tradicionais como óleos e gorduras, curtumes, papel e celulose, têxtil e cosméticos. Atualmente a catálise enzimática é o principal foco de pesquisas direcionadas à seleção de suportes que permitam uma imobilização eficiente das enzimas ou células (como alternativa de menor custo) centralizando a atenção na estrutura e superfície do suporte, assim como nas condições de imobilização das enzimas, procurando formular um biocatalisador que aumente a estabilidade da enzima e sua atividade catalítica em relação a sua forma livre (LIU *et al.*, 2012) (MENDES *et al.*, 2011).

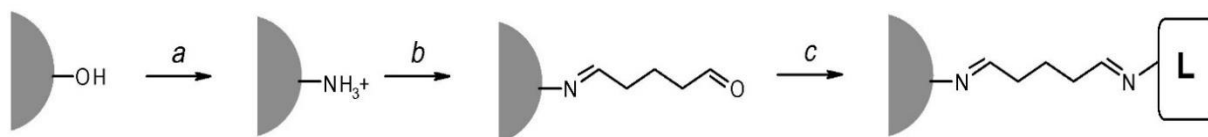
A maioria dos trabalhos foram realizados na imobilização de células bacterianas. Eventualmente, leveduras e fungos filamentosos receberam atenção crescente (ARROYO, 1998; BILAL *et al.*, 2017).

A imobilização das células microbianas refere-se aos sistemas ou técnicas que consistem em um confinamento físico ou localização das células de microrganismos em uma região definida de espaço, onde são mantidas as atividades catalíticas em processos de operação contínua ou descontínua, que permite a sua reutilização econômica (BILAL *et al.*, 2017; FREEMAN e LILLY, 1998). Enzimas

imobilizadas são definidas como enzimas fisicamente confinadas ou localizadas numa certa região definida no espaço com retenção de sua atividade catalítica, as quais podem ser usadas repetidamente e continuamente (ASGHER *et al.*, 2017; DURÁN *et al.*, 2002).

Utiliza-se, em geral um agente de acoplamento bi funcional, no caso citado foi o glutaraldeído (GALLIKER *et al.*, 2010), que permite a conjugação eficiente da lacase de Tv na superfície das nanopartículas conforme esquema apresentado na Figura 10.

Figura 10 Representação esquemática da via sintética para nanopartículas de sílica modificadas com lacase



a) modificação de APTES, b) ativação de glutaraldeído, c) acoplamento de enzimas; L: lacase.

Fonte: Galliker *et al.* (2010).

Atualmente a catálise enzimática é o principal foco de pesquisas direcionadas à seleção de suportes que permitam uma imobilização eficiente das enzimas ou células (como alternativa de menor custo) centralizando a atenção na estrutura e superfície do suporte (MENDES *et al.*, 2011), assim como nas condições de imobilização das enzimas, procurando formular um biocatalisador que aumente a estabilidade da enzima e sua atividade catalítica em relação a sua forma livre (ZHANG *et al.*, 2017), o emprego de diferentes solventes, condições de pHs e temperaturas extremas (HANEFELD *et al.*, 2009).

3.8 NANOPARTÍCULAS

3.8.1 Nanopartículas de Sílica (SiO₂)

Com base em resultados promissores de degradação de compostos xenobióticos por enzimas imobilizadas em diversos suportes, a atividade catalítica enzimática tem sido testada com suportes de nanopartículas de sílica (SiO₂), (CABANA, JONES e AGATHOS, 2007). A escolha do material suporte é motivada

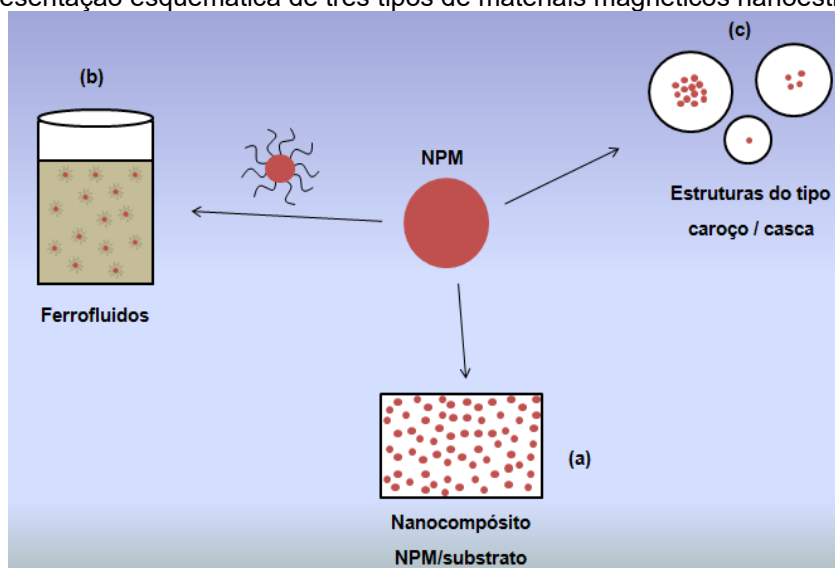
basicamente pelos seguintes fatores: (a) grande razão superfície-volume do suporte de sílica e que permite a imobilização de uma maior quantidade de enzima numa quantidade relativamente baixa de material suporte; b) o baixo custo relativo das nano e micropartículas à base de sílica; (c) abundância da sílica no meio natural. Os nanomateriais produzidos têm um potencial relevante para o uso de plantas de purificação de efluentes (GALLIKER *et al.*, 2010).

3.8.2 Nanocompósitos revestidos com polímeros

Imobilização de Enzimas em Suportes Poliméricos e/ou Magnéticos.

A Figura 11 é uma representação esquemática de alguns tipos desses materiais, tais como: compósitos do tipo NPM/matriz, os quais são caracterizados por nanopartículas magnéticas (NPsm) incorporadas numa matriz polimérica orgânica ou inorgânica (Figura 11.a), NPsm funcionalizadas e dispersas num líquido carreador, formando ferrofluidos (Figura 11.b) e compósitos do tipo caroço/casca (“*core/shell*”), os quais são constituídos por NPsm recobertas com um material não magnético (Figura 11.c) (CAIADO, 2014).

Figura 11 Representação esquemática de três tipos de materiais magnéticos nanoestruturados.



Fonte: Caiado (2014).

Constituídos por: nanopartículas magnéticas (NPsm) incorporadas numa matriz polimérica orgânica ou inorgânica (a), NPM funcionalizadas e dispersas num líquido carreador, formando ferrofluidos (b) e NPsm recobertas com um material não magnético, formando estruturas do tipo caroço/casca (c).

Os compósitos sintetizados do tipo caroço/casca e constituídos por nanopartículas de magnetita recobertas com sílica aminofuncionalizada a partir dos grupos amino reativos existentes na superfície das esferas magnéticas de Fe₃O₄@SiO₂ são possíveis através de uma série de reações para imobilizar um oligonucleotídeo na superfície das mesmas (JOHNSON *et al.*, 2014).

O desenvolvimento da nanotecnologia forneceu uma gama de diversos suportes em nanoescala que podem ser potencialmente aplicados para a imobilização enzimática. Entre os diferentes tipos de suporte, as nanopartículas magnéticas (NPsm) receberam atenção crescente porque podem ser facilmente recuperadas do meio de reação pela aplicação de um campo magnético externo (MOLDES-DIZ, *et al.*, 2018).

O processo de degradação enzimático sozinho não é capaz de dar conta da remoção dos corantes dos efluentes estudados nesta tese, mas com a utilização de outros processos em combinação podem melhorar a performance de tratamento.

Essa associação entre os processos pode permitir uma maior eficiência de remoção de poluentes com o enquadramento do efluente nos padrões de lançamento vigentes (incluindo ecotoxicidade). Pode proporcionar também dados para a elaboração de um protótipo de tratamento compacto, explorando a maior taxa de processo e reduzindo requisitos de área para a implementação do reator para reuso.

Quando se utiliza POAs através de sistemas heterogêneos (como, por exemplo, semicondutores nanoparticulados em suspensão), a efetividade do processo fotocatalítico - visto corresponder a um processo de catálise heterogênea - dependerá essencialmente da área superficial do semicondutor, que é variável diretamente ligada ao tamanho da partícula utilizada. Desta forma, fotocatalisadores em escala nanométrica são bastante interessantes, pois tais materiais possuem alta área superficial específica (MOURÃO *et al.*, 2009).

As aplicações de partículas de ferro nano-zerovalentes no tratamento de águas residuais não se limitam à escala laboratorial, mas também são usadas para remediação de solo em escala industrial/piloto de locais contaminados com corantes

orgânicos, compostos aromáticos com grupo nitro, fenóis e moléculas orgânicas halogenadas (KHARISOV *et al.*, 2012; KHARISSOVA *et al.*, 2013).

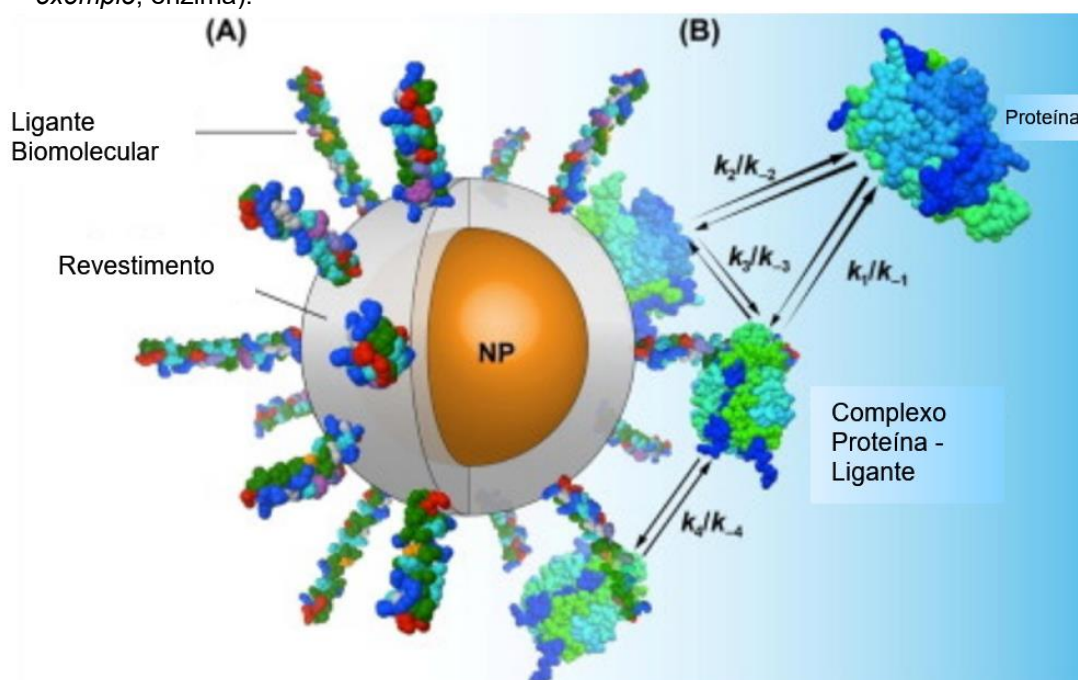
Embora as partículas de ferro nano-zerovalentes tenham várias vantagens, as dificuldades de oxidação, agregação e separação do sistema de degradação são algumas das desvantagens associadas a elas. Para superar estes problemas, diferentes métodos de revestimento foram adotados para aumentar o desempenho de partículas de ferro nano-zerovalentes no tratamento de águas residuais.

O método de revestimento mais conhecido inclui a dopagem de outros metais, encapsulação na matriz, modificação da superfície e emulsificação (CARVALHO *et al.*, 2013). A conjugação com suporte e modificação de superfície pode evitar a agregação e aumentar a dispersibilidade das partículas de ferro nano-zerovalentes (SINGH e ARORA, 2011). Por outro lado, o encapsulamento do ferro nano-zerovalente na matriz e a conjugação com o substrato proporcionaram a efetiva separação das partículas de ferro nano-zerovalentes do sistema de degradação (MADHURA *et al.*, 2018).

Uma explicação que é frequentemente oferecida para aumentar a atividade enzimática associada a NPs é a alteração estrutural ou a estabilização da conformação ativa na imobilização das enzimas nas interfaces das NPs.

Na Figura 12, representa-se: (A) Anatomia de um bioconjugado polivalente de NPs, o núcleo com revestimento orgânico e biomoléculas conjugadas.

Figura 12 Conjugado NP-biomolecular (*por exemplo*, substrato) interagindo com uma proteína (*por exemplo*, enzima).



Fonte: Adaptado de Fernandes (2015).

O NP tem ~ 10 nm de diâmetro e o revestimento tem ~ 2 nm de espessura. Em (B) são levadas em consideração as taxas potenciais associadas a etapas de conjugação do agente biológico na interface das NPs (uma proteína e seu ligante peptídeo cognato conjugado ao NP).

Uma das principais vantagens do uso de NPsm é que elas podem facilitar a recuperação do biocatalisador a partir do meio de reação, aplicando um campo magnético. A eficiente separação magnética da enzima implicaria um estresse mecânico muito baixo sobre a nanopartícula em comparação com a centrifugação ou filtração (KALKAN *et al.*, 2012). Há estudos recentes em que a separação magnética tem sido considerada, principalmente para o crescimento de algas (TU *et al.*, 2015), recuperação de componentes magnéticos (ZHENG, WANG e LU, 2015), processos de solidificação e cristalização (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2015) e reações fotocatalíticas (OKUMURA *et al.*, 2015).

A utilização de processos mais eficientes e econômicos que os processos clássicos de degradação com catalisadores livres tais como no leito fluidizado nos quais os biocatalisadores estão submetidos a condições de atrito e pressão que diminuem sua vida útil. Nesta direção a utilização de suportes com propriedades magnéticas (biocatalisadores com núcleos magnéticos) assistidos por um campo magnético aplicado externamente permite controlar o movimento das partículas magnéticas sólidas o que origina uma maior preservação do suporte, menor queda de pressão no leito, maior facilidade de transporte, aumento das velocidades do fluido e a posterior recuperação do biocatalisador do meio de reação (CARVALHO, 2012; KHARISOV *et al.*, 2012).

3.8.3 Nanopartículas de magnetita revestidas

Entre os materiais nanoestruturados magnéticos estão a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), materiais magnéticos comumente utilizados devido suas fortes propriedades magnéticas e baixa toxicidade, permitindo aplicações no campo da biotecnologia e medicamentos. Particularmente, há um grande interesse no uso de nanopartículas em diversas aplicações nas áreas médica, biomédica e industrial, uma vez que esses materiais apresentam baixa toxicidade e respondem de forma eficiente a um campo magnético externo (GUPTA e GUPTA, 2005). Com o recente desenvolvimento da nanotecnologia, as nanopartículas magnéticas de óxidos de ferro

(NPsm) ganharam atenção crescente devido à sua alta razão superfície-volume, o que as torna boas candidatas como suporte para a imobilização enzimática. No entanto, considerando que as nanopartículas de óxido de ferro expostas, provavelmente perderão seu magnetismo e estabilidade devido à sua alta reatividade química e oxidação no ar, a dispersão de NPsm pode ser promovida fornecendo um revestimento de superfície adequado, principalmente associado a substâncias orgânicas como surfactantes, polímeros e biomoléculas ou substâncias inorgânicas como sílica e óxidos metálicos (WU, HE e JIANG, 2008).

Além do aumento da estabilidade das NPsm, o uso de uma técnica de revestimento de polímero em monocamada adequada permite a sua conjugação com enzimas. Vários trabalhos de pesquisa relataram maior estabilidade enzimática após a imobilização em NPsm de Fe_3O_4 revestidas de sílica (LIU, W. *et al.*, 2014), partículas nanomagnéticas encapsuladas em sílica, NPsm revestidas com uma camada ultrafina de sílica foram mais úteis como nanosuporte magnético (MOLDES-DIZ, *et al.*, 2018; TSANG *et al.*, 2006). Para a degradação do Bisfenol A, (MOLDES-DIZ, *et al.*, 2018) conseguiram um aumento da atividade catalítica e estabilidade do nanobiocatalisador com enzima de *Trametes versicolor* imobilizada em NPsm (nanopartículas superparamagnéticas) de $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$, recuperação simples e rápida do catalisador através de campo magnético externo ao sistema (GIESE, 2018).

A atividade enzimática pode se beneficiar muito do uso de nanocompositos sólidos. Os suportes maiores oferecem boa acessibilidade enzimática, mas partículas compostas de mais de 1 μm podem sofrer desgaste significativo.

Trabalhos sobre o uso de suportes não porosos com tamanhos (produtos comerciais) de 1–10 μm com um grau satisfatório de resistência ao atrito estão bem documentados. No entanto, a exploração de suportes enzimáticos de tamanho ainda menor vale a pena, uma vez que um apoio que atinja o regime nanométrico teoricamente não apresentará nenhum problema de atrito (MANGALAMPALLI, DUMALA e GROVER, 2018). Notou-se que tais compósitos, se utilizados, são quase impossíveis de separar num bioreactor por meios convencionais (conduzindo a entupimento de filtros e válvulas pelos finos compósitos) (JOHNSON *et al.*, 2014).

A separação eficiente dos suportes de enzima sólidos suspensos do meio usando um campo magnético externo é, portanto, de grande interesse. Assim, há trabalhos sobre o uso de corpos magnéticos para separar e recuperar enzimas (LIU

et al., 2016; MOLDES-DIZ *et al.*, 2018; TSANG *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2017).

A viabilidade da separação magnética foi avaliada em descoloração de corantes, a retenção do nanobiocatalisador (lacase imobilizada em NPsm revestidas com sílica - Fe₃O₄@SiO₂) degradou o Verde Metil com recuperação de 99% do nanocatalisador. A biotransformação foi de alta eficiência.

Os produtos de biotransformação mostraram menos toxicidade do que o composto original e aumentaram a biodegradabilidade. Além dos experimentos em escala laboratorial, o reator proposto foi ampliado para um volume de 100 L e o desempenho ambiental e a análise de custo foram estimados (MOLDES-DIZ *et al.*, 2018).

Suportes Poliméricos com Propriedades Magnéticas - Enzimas Imobilizadas

Huang e seus colaboradores (2005) realizaram um estudo com microesferas de quitosana magnética preparadas utilizando-se glutaraldeído como reagente de ligação cruzada para a imobilização de enzimas. A quitosana foi escolhida por ser um polímero natural e um suporte ideal para imobilização de enzimas (OLLER, MALATO e SÁNCHEZ-PÉREZ, 2011). Sendo utilizado com material de apoio, os transportadores magnéticos podem ser facilmente separados do meio da reação e efetivamente controlados pela aplicação de um campo magnético. Assim, a eficiência de catalisadores e propriedades de estabilidade da enzima pode ser muito melhorada.

A reutilização de enzimas imobilizadas é um dos aspectos mais importantes para aplicações industriais. A capacidade de reutilização foi examinada usando lacase imobilizada repetidamente 30 vezes em 1 dia (KALKAN *et al.*, 2012).

Quando a enzima é imobilizada, o caráter hidrofóbico/hidrofílico do suporte tem influência na atividade da mesma. A imobilização melhora a atividade e a estabilidade da enzima, sendo a escolha do tipo de imobilização e o caráter hidrofóbico/hidrofílico do suporte importantes para o desempenho da atividade da enzima. A propriedade da superfície de apoio influencia significativamente a atividade da enzima. Não importa qual é o mecanismo de ativação, a enzima requer uma ativação interfacial ou uma mudança conformacional para abrir a “tampa” que protege o sítio ativo, fundamentalmente para alcançar a hidrólise é a acessibilidade do substrato. Quanto maior a afinidade da superfície do suporte para o substrato, maior

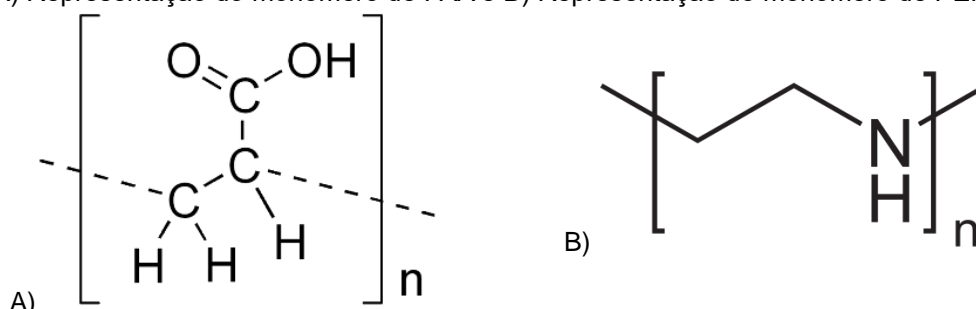
o contato com a enzima imobilizada (GUPTA e GUPTA, 2005; HANEFELD *et al.*, 2009).

O ácido poli acrílico (PAA, do inglês: *Poly Acril Acid*) é um polímero do ácido acrílico, biocompatível, solúvel em água e em solventes polares. Pode ser homopolímero ou entrecruzado com outros alquenos. Em solução aquosa é aniônico, muitas cadeias laterais do PAA perdem os prótons e adquirem cargas negativas, isto confere a capacidade de absorver e reter a água, atuando como hidrogel (MELO *et al.*, 2016)(MADRAS, SMITH e MCCOY, 1996). Tem extensas aplicações como agente espessante em tintas, no campo dos adesivos, em formulação de produtos farmacêuticos, cosméticos e da agricultura (CHAN e CHU, 2001).

Sua obtenção se dá por polimerização de ácidos acrílicos via radicais livres, apresentando estrutura de cadeia alquílica com grupos polares -COOH. Além disso, o PAA é capaz de formar ligações com alguns grupos químicos, especialmente nos grupos carboxílicos, os quais podem reagir com cátions metálicos polivalentes para formar ligações cruzadas, bem como, sua cadeia alquila pode melhorar a miscibilidade em matrizes poliméricas.

O PAA (Figura 13) é um polieletrólito fraco, no qual o grau de ionização é controlado pela força iônica do meio e pelo pH. Em pH abaixo de 4,0 é virtualmente não dissociado, já em pH acima de 8,0 as cadeias poliméricas encontram-se com cargas elétricas em virtude da presença do grupo carboxila ao longo das cadeias (CHAN e CHU, 2001).

Figura 13 A) Representação do monômero de PAA e B) Representação do monômero de PEI

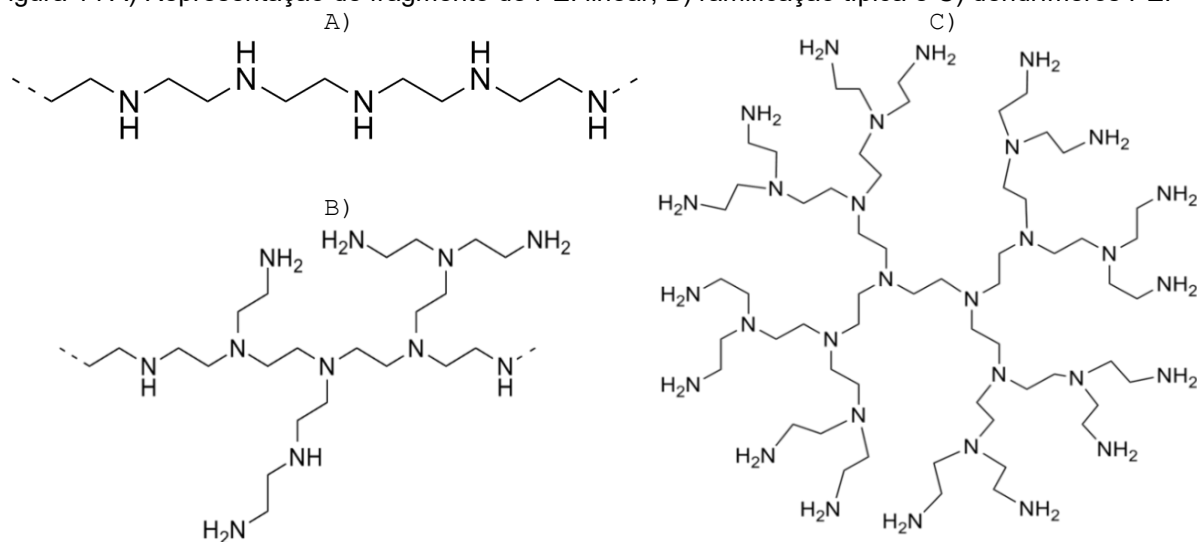


Fonte: Melo *et al.* (2016).

Poli Etileno Imina (PEI) ou Poliaziridina, PEI é um polímero com a unidade composta pelo monômero -C₂H₅N-. As polietilenoiminas lineares contêm aminas secundárias, em contraste com as PEI ramificadas que contêm grupos amino primários, secundários e terciários. Estes grupos amino podem ser protonados.

Formas dendrímicas (dendrimeros são macroméculas sintéticas, complexas e muito organizadas, com estrutura tridimensional regular e altamente ramificada. São tipicamente simétricas ao redor de um núcleo) totalmente ramificadas também foram relatadas (Figuras 13 e 14).

Figura 14 A) Representação de fragmento de PEI linear; B) ramificação típica e C) dendrímeros PEI



Fonte: Modificado de Vancha (2004).

O PEI é produzido em escala industrial e encontra muitas aplicações geralmente derivadas de seu caráter policatiónico. PEIs lineares são sólidos à temperatura ambiente, enquanto os PEIs ramificados são líquidos em todas as massas moleculares. Polietilenoiminas lineares são solúveis em água quente, em pH baixo, em metanol, etanol ou clorofórmio. São insolúveis em água fria, benzeno, éter etílico e acetona.

A polietilenoimina encontra muitas aplicações em produtos como: detergentes, adesivos, agentes de tratamento de água e cosméticos, agente floculante com sílica e como um agente quelante com a capacidade de complexar íons metálicos, como zinco e zircônio. Existem também outras aplicações de PEI altamente especializadas como na cultura de células de suporte para aumentar a interação. PEI é um polímero catiónico; as superfícies externas carregadas negativamente das células são atraídas para suportes revestidos em PEI, facilitando a fixação mais forte das células ou enzimas (CARVALHO, 2012; VANCHA *et al.*, 2004).

3.9 ECOTOXICIDADE MICROTOX®

3.9.1 Microtox® *Test System*

Este teste é baseado no uso de bactérias luminescentes do tipo *Vibrio Fischeri*, que produzem luz como um subproduto do seu metabolismo. A inibição do metabolismo, pela toxicidade do meio, resulta na diminuição da luminescência. Quanto maior a toxicidade, menor é a produção de luminescência. O Sistema Microtox® é utilizado como o método padrão para avaliação da qualidade da água, pelo Organização Internacional para Padronização (ISO do inglês: *International Organization for Standardization*), (ISO 11348-1; 2 e 3:2007), Sociedade Americana de Métodos e Padrões, (ASTM do inglês: *American Society for Test Method's*) (ASTM D5660-96) e incluídos no *Standard Methods* para Análise de amostras de água e efluentes (ASTM, 2019).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Reagentes e equipamentos

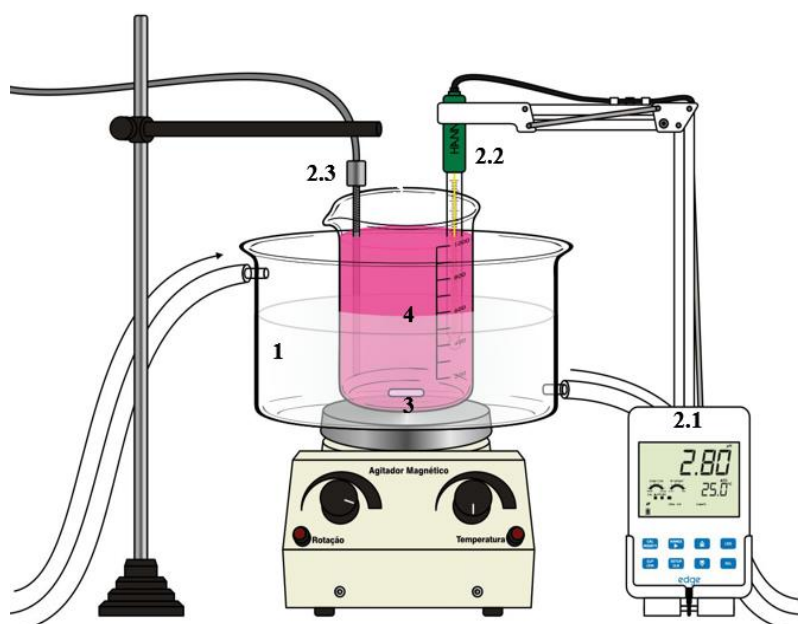
Os reagentes e solventes utilizados neste trabalho foram grau p.a. (Para Análise), estes e os equipamentos estão listados no Anexo 1. Em cada descrição de métodos a partir do item 4.2 estão detalhados os reagentes e equipamentos utilizados em cada etapa.

4.1.2 Sistemas Reatores

Os ensaios experimentais de fotólise (Figura 15), fotocatálise, ozonização e foto ozonização foram realizados com quatro tipo de sistemas de reatores:

Sistema reator SR1

Figura 15 Esquema do reator SR1



Onde:

- 1) Banho termostático com controle de temperatura através de termopar;
 - 2.1) pHmetro
 - 2.2) eletrodo combinado de vidro
 - 2,3) termopar de controle de temperatura do pHmetro;
 - 4) Recipiente de armazenamento da amostra;
- * Todo sistema foi montado em capela de exaustão.

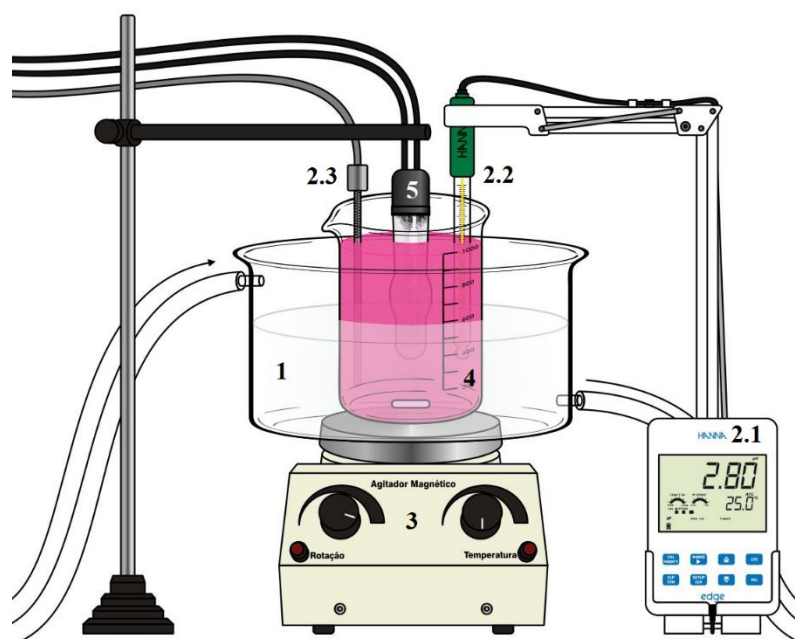
Fonte: Modificado de Vieira *et al.* (2018).

Sistema reator SR2

Neste reator, o sistema pode ser utilizado para fotólise homogênea e heterogênea e foto Fenton, montado com proteção externa da fuga de radiação UV com folhas de alumínio metálico, acoplado um sistema de controle de temperatura por banho termostático e de pH por potenciômetro com eletrodo de vidro com termopar.

O SR2 tem capacidade de 2 L (Figura 16), é equipado com lâmpadas UV, no comprimento de onda de 365 nm (CAMPOS *et al.*, 2001). Radiação UV é fornecida por uma fonte luminosa de 125 W HID/HPL (do inglês: *High Intensity Discharge/High Mercury Pressure*), Philips®. O bulbo externo da lâmpada foi removido enquanto o recipiente preenchido de mercúrio e argônio foi mantido, de forma a permitir a sua imersão visando a exposição total das amostras à radiação, a fonte foi condicionada em um tubo de quartzo (MISTURA *et al.*, 2019).

Figura 16 Esquema do reator SR2



Onde:

- 1) Banho termostático com controle de temperatura através de termopar;
- 2.1) pHmetro
- 2.2) eletrodo combinado de vidro
- 2.3) termopar de controle de temperatura do pHmetro;
- 4) Recipiente de armazenamento da amostra;
- 5) Bulbo de lâmpada UV em invólucro de quartzo;

O sistema de isolamento ótico da radiação UV com folhas de alumínio metálico reflexivo foi montado para proteção dos operadores.

* Todo sistema foi montado em capela de exaustão.

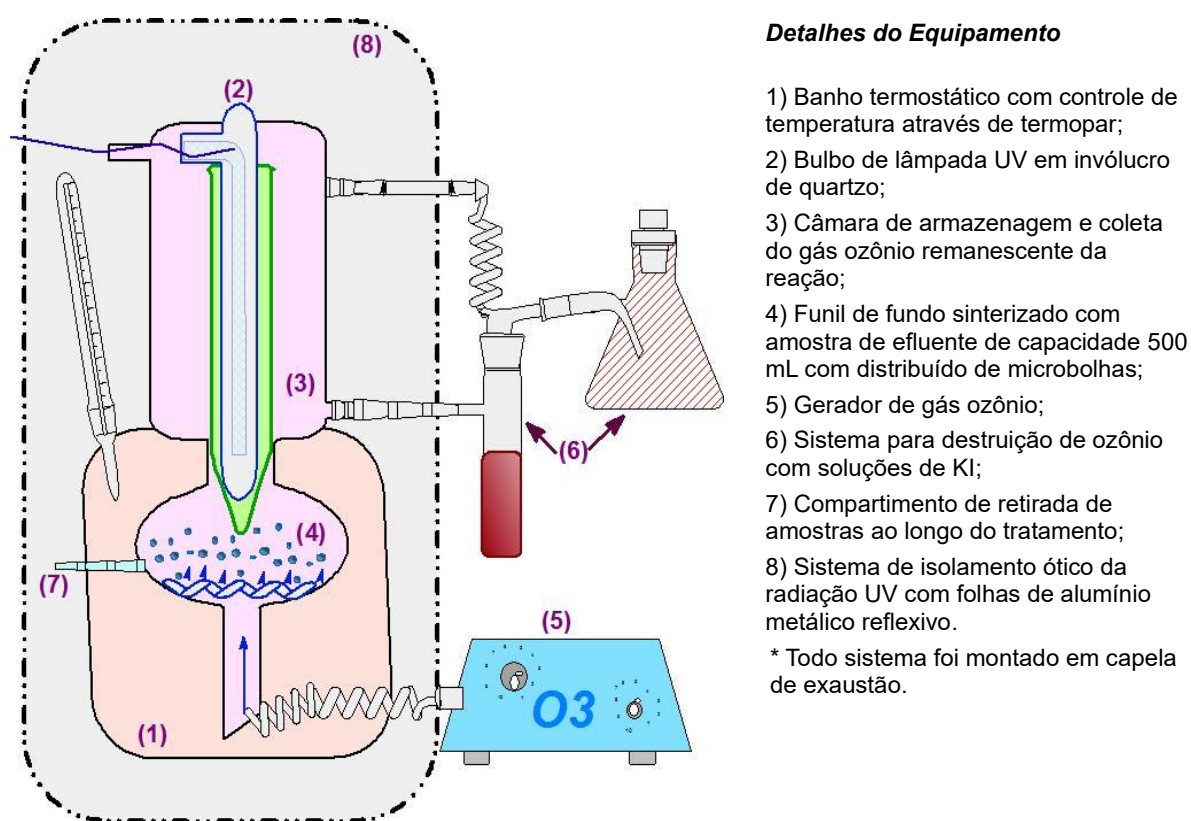
Fonte: Modificado de Vieira *et al.* (2018).

Sistema reator SR3

Sistema semiautomático montado em capela de exaustão com proteção externa da fuga de radiação UV com folhas de alumínio metálico, foi acoplado a um sistema Controlador Lógico Programável (CLP) para controle de tempos e

temperaturas. O sistema reator SR3 é equipado com uma coluna de vidro do tipo funil de fundo sinterizado para percolação de microbolhas do gás O_3 , diâmetro interno de 12 cm com capacidade para retenção de 1,5 L de efluente, quantidade útil de amostra de 500 mL de efluente, equipado com banho termostático regulável automatizado com termopar, agitação magnética, lâmpada de irradiação UV protegida por recipiente de quartzo, sistema de inserção de reagentes ao longo dos tratamentos, compartimento de coleta de amostras, acoplamento através de mangueiras de Teflon® e silicone industrial do equipamento de produção de gás O_3 (que pode ser compacto ou industrial) este esquema é representado na Figura 17).

Figura 17 Esquema do reator SR3



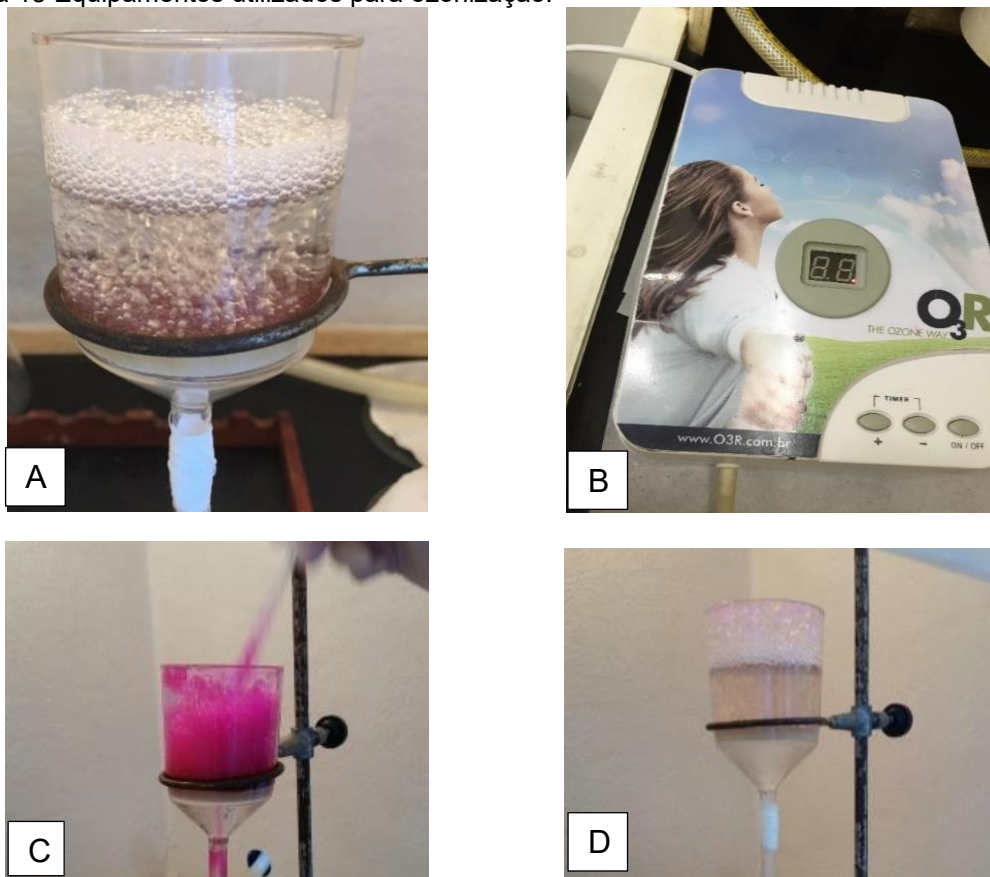
Fonte: Autora.

Um fluxo contínuo e controlado de $200 \pm 8 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de gás foi produzido no gerador de O_3 .

Um difusor na parte inferior da coluna garante a distribuição adequada das bolhas de gás produzidas mais homogeneamente. Os experimentos foram realizados dentro de uma câmara de exaustão (capela) utilizando-se todos os dispositivos de segurança recomendados (Figura 18). O gás O_3 não utilizado é retirado do reator de

coluna através do tubo de Teflon® e borbulhado em soluções aquosas a 10% e Iodeto de potássio (KI) a 2% (m/v) em 2 frascos de passagem e reação em sequência, onde a solução de KI reage com o excesso de O₃.

Figura 18 Equipamentos utilizados para ozonização.



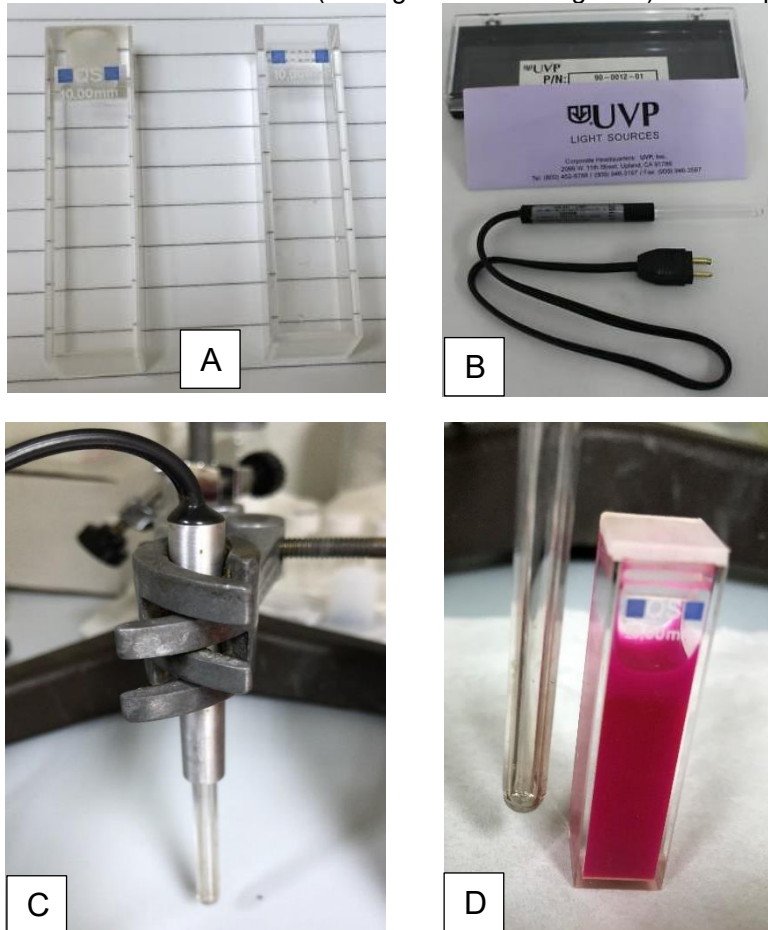
A) Detalhe do Sistema SR1 da Ozonização com funil de vidro sinterizado; B) Gerador de gás ozônio portátil utilizado para reações de degradação com capacidade de 200 mg O₃ h⁻¹ L⁻¹; C) Aspecto do efluente bruto de solução de RhB e D) Aspecto do efluente tratado de solução de RhB. Fonte: Autora.

Sistema reator SR4

Este sistema foi montado em capela de exaustão com proteção externa da fuga de radiação UV de folhas de alumínio. É equipado com recipientes de quartzo do tipo cubetas de capacidade de 4 e 1 mL de amostras com tampas de Teflon®. A temperatura de reação é a ambiente, agitação é manual, a lâmpada de irradiação UV é do tipo caneta e está presa a um suporte universal através de agarradores. Como fonte de radiação UV utilizou-se uma lâmpada do tipo caneta que foi acondicionada ao lado da cubeta que continha o sistema reacional, sempre na mesma distância de

0,5 cm. A Lâmpada UV *pen ray* UVP Light Sources® tem emissão na faixa do espectro eletromagnético em 254 nm (Figura 19).

Figura 19 Esquema do SR4 de fotocatalise (homogênea e heterogênea) com lâmpada UV 254 nm .



A) Cubetas de quartzo de capacidade 4 mL de amostra; B) Lâmpada de UV do tipo caneta para irradiação das amostras; C) Forma de irradiação das amostras com a lâmpada de UV do tipo caneta; D) Amostra de solução de RhB. Fonte: Autora.

Este sistema SR4 foi disponibilizado pelo laboratório Nanomag da Faculdade de Física da USC em Santiago de Compostela, Espanha.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Caracterização dos efluentes

As amostras foram analisadas em triplicata, incluindo os brancos nos laboratórios da UPF, CTPG&JRS, LTM/UFRGS e USC (ETSE, IIT, NONOMAG).

Os parâmetros utilizados para caracterizar os efluentes simulados (ES) foram: diminuição da intensidade da cor medida espectroscopicamente e a toxicologia avaliada pelo teste Microtox[®].

O parâmetro de cor recomendado pela legislação do estado do RS para lançamento de efluentes em corpos hídricos receptores (RS, 2006) é que o efluente não deve conferir cor ao recurso hídrico. Os procedimentos foram realizados em conformidade com a *American Public Health Association* (APHA, 2017).

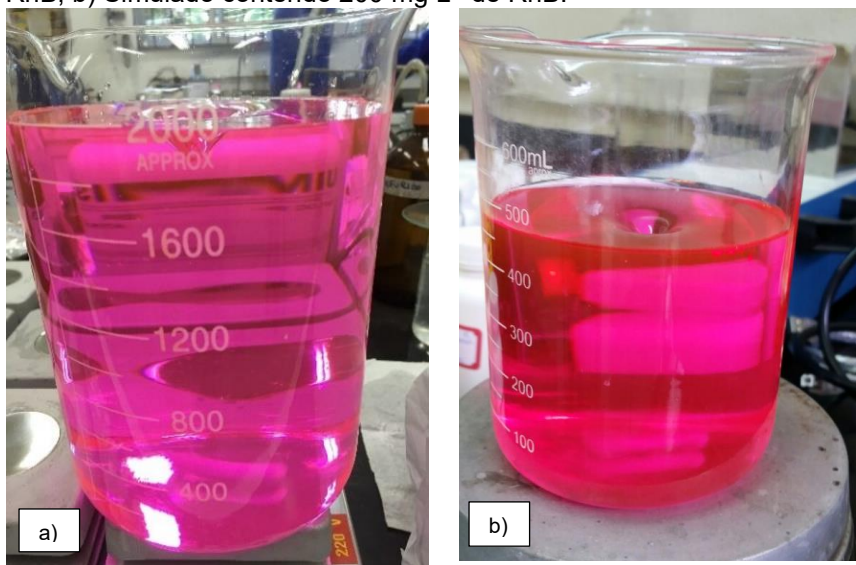
A absorvância no comprimento de onda máximo (λ_{\max}) foi medida usando um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu[®] UV 1800), cada corante sendo determinado em seu λ específico na mesma análise, (RhB = 555; CV = 580; VB = 618 e LB = 460 nm).

Quanto à toxicidade, segue-se o que determina para este parâmetro a Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) número 430 (CONAMA, 2011), através do Fator de Toxicidade (FT) que é o número adimensional que expressa a menor diluição do efluente que não causa efeito deletério agudo aos organismos, num determinado período de exposição, nas condições de ensaio. O Artigo 18 da legislação preconiza que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de ecotoxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente. Assim considerou-se um FT de 1 como o adequado para este trabalho.

4.2.2 Efluentes simulados (ES)

Foram preparadas e caracterizadas amostras simuladas de efluentes contendo concentrações conhecidas dos corantes a serem estudados separadamente, as soluções de efluentes simulados foram preparadas com as concentrações de álcool etílico (AE) avaliadas em trabalhos anteriores (ERICKSSON e BRUM, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2016), dissolvendo os corantes em água ultrapura e 8% (v/v) de AE simulando o efluente com os corantes orgânicos em estudo como utilizados no tingimento industrial das ágatas, o aspecto dos ES está apresentado nas imagens da Figura 20.

Figura 20 Aspecto rosa avermelhado intenso dos efluentes contendo os corantes a) Simulado com 20 mg L⁻¹ RhB; b) Simulado contendo 200 mg L⁻¹ de RhB.



Fonte: Autora.

4.2.3 Determinação da cor dos efluentes por espectrofotometria do visível

A cor e o comprimento máximo de absorção dos corantes nos efluentes foi medida pela absorbância em varredura conjunta no comprimento de onda (λ) entre 400 e 700 nm. As curvas analíticas foram preparadas com concentrações conhecidas para determinação da absorção em espectrofotômetro na região do espectro visível no comprimento de onda de máxima absorção de cada corante.

4.2.4 Fotocatálise heterogênea utilizando semicondutores

Os estudos foram realizados com uma solução aquosa dos corantes, variáveis operacionais avaliadas foram pH, proporção de catalisadores dióxido de titânio e óxido de zinco (TiO₂ e ZnO) e tempo de irradiação UV. Também realizaram-se amostras controle para avaliar a adsorção que possa ocorrer entre o corante e o catalisador sólido, numa amostra sem irradiação UV, apenas o contato da solução corante com o catalisador sob a mesma temperatura e pH utilizados nas reações.

Os sólidos de TiO₂ (pureza acima de 97%; anatase/rutilo, 80:20 m/m) e ZnO (99,7% wurtzita) foram utilizados como catalisadores sólidos em pó. NaOH e HCl p.a., usados para ajustes de pH. A água ultrapura utilizada foi obtida a partir de sistema Milli-Q®.

Os corantes foram dissolvidos em AE p.a. e preparados numa solução simulada de 8% em água:AE v/v, para fornecer as seguintes cores: rosa = Rodamina B (RhB); roxo = cristal violeta (CV); verde = verde brilhante (VB); vermelho (também chamado vermelho sangue, VS) por uma composição de 30% m/m de Laranja Básica 2 (LB) e 70% Rodamina B (RhB) (SILVA, 2006).

Os efluentes sintéticos (ES) foram preparados nas seguintes condições: ES(a) solução aquosa contendo 8% em água:AE v/v e 200 mg L⁻¹ de RhB; e ES(b) solução aquosa contendo 8% em água:AE v/v e 200 mg L⁻¹ de cada um dos 4 corantes (RhB; CV, VB e LB).

O tempo de reação da catálise heterogênea foi de 100 min., assistido pela radiação UV. As amostras foram coletadas em intervalos de 5 min.; os catalisadores sólidos foram retirados do reator por filtração utilizando sistema de vácuo de poliestireno com membrana de poliéster-sulfona 0,22 µm e o efluente foi adequadamente diluído e avaliado em espectrofotômetro UV-Vis. O sistema foi mantido a 30 °C por meio de um banho termostático durante os experimentos. Estes procedimentos foram aplicados para avaliar o efeito do pH e concentrações de catalisador. O ajuste do pH foi realizado com soluções tampão ou ácidas e básicas adequadas.

Tem sido relatado que pequenas mudanças incrementais na temperatura não afetam significativamente a taxa de reações fotocatalíticas e temperatura ótima de reação para fotomineralização são ditas na faixa de 20 °C a 80 °C (MALATO *et al.*, 2009) (GOMATHI DEVI *et al.*, 2009), portanto neste trabalho a temperatura de 30°C foi estabelecida para os ensaios.

Optou-se por avaliar diversos pHs (3 a 12) para a degradação da cor de uma amostra simulada de corante RhB contendo 200 mg L⁻¹ em solução água e AE a 8% (v/v) com 1 g L⁻¹ de cada um dos dois catalisadores sólidos (TiO₂ e ZnO).

4.2.5 Ozonização/UV

A descoloração dos efluentes pela ozonização foi determinada através da absorvância no máximo comprimento de onda (λ max) dos corantes. O tratamento foi continuado até o valor de absorvância atingir a menor descoloração detectada. O meio reacional foi ozonizado com 208 ± 6 mg L⁻¹ h⁻¹ de gás O_{3(g)}.

Os experimentos de ozonização/UV (MACHADO *et al.*, 2012; TURHAN e TURGUT, 2009), para a solução de corantes, avaliando a influência da temperatura no meio reacional, utilizados efluentes simulados preparados em solução de água e AE a 8% (v/v) com 200 mg L⁻¹ de corante RhB, com pH de 7,8. Este efluente foi submetido a ozonização no sistema reator SN3 com radiação UV por 100 min. (MARTINS *et al.*, 2012). O objetivo foi de avaliar a temperatura de melhor eficiência para a transferência de massa de gás ozônio para o sistema de reação. As descolorações dos efluentes foram estudadas em 20, 30, 40 e 50 °C com o uso de banho termostático. A melhor temperatura de degradação de cor foi utilizada nos testes de descoloração com efluente em solução simulada.

Para avaliar a degradação de RhB com diferentes pHs, soluções do corante com 200 mg L⁻¹ foram testadas em tampões de pH (3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 10,0 e 12,0) até 100 min. e a cor foi avaliada. Foram testados para a reação de ozonização/UV da solução do efluente simulado em H₂O:AE 8% (v/v). O pH que apresentou melhores resultados foi utilizado para a continuidade dos experimentos

Os parâmetros da temperatura do meio reacional e o pH de melhor degradação da cor de RhB foram utilizados para os próximos ensaios, foram testadas as proporções do agente oxidante auxiliar: concentração de H₂O₂ variando-se de 1:0; 1:5; 1:6; 1:7; 1:8; 1:9, 1:10 e 1:15 mols L⁻¹ de mols de corantes para mols L⁻¹ de H₂O₂ (quantidade de matéria por litro de meio reacional).

Foram testadas em relação ao corante no efluente simulado e tempo de exposição UV de 100 min. Um teste de controle do método foi usado apenas com gás O₃ e outro com apenas H₂O₂, ambos com radiação UV.

Foram realizados testes de toxicidade Microtox® para estes efluentes simulados e foi repetido para os efluentes tratados na melhor condição.

4.2.6 Catálise enzimática

A enzima utilizada na degradação é a lacase obtida e isolada do fungo *Trametes versicolor* ($\geq 0,5$ result 1,03 U mg⁻¹ da Sigma-Aldrich Co® Life Science Alemanha) na forma livre (ELL) e imobilizada em suportes sólidos (ELI).

4.2.7 Determinação da atividade de lacase

A unidade (U) de atividade da enzima é definida como a quantidade em $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cátion do ácido 2,2'-azino-bis -3- etil benzo tiazolina -6- sulfônico (ABTS⁺) formado por min. no meio reacional.

A atividade (U L^{-1} ou U mL^{-1}) de lacase foi determinada por ensaio enzimático (BARBOSA, DEKKER e HARDY, 1996; BARBOSA *et al.*, 2013), através do uso do substrato ABTS, onde são dissolvidos 7,3 mg de ABTS em 50 mL em tampão (ácido cítrico/citrato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) pH 3,0, protegido da luz e guardado em geladeira a 4 °C até o uso.

A formação do radical catiônico (ABTS⁺) foi avaliada por espectrofotometria em equipamento de microplacas (BioTek® Winooski, Vermont).

A absorvidade molar foi determinada em 420 nm ($\epsilon_{420} = 30.800 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) em tampão McIlvaine (MCILVAINE, 1921) (80 mmol L^{-1} de ácido cítrico e 40 mmol L^{-1} Na_2HPO_4 ; pH 3,0) a 30 °C por 7 min. (ZIMMERMANN *et al.*, 2011).

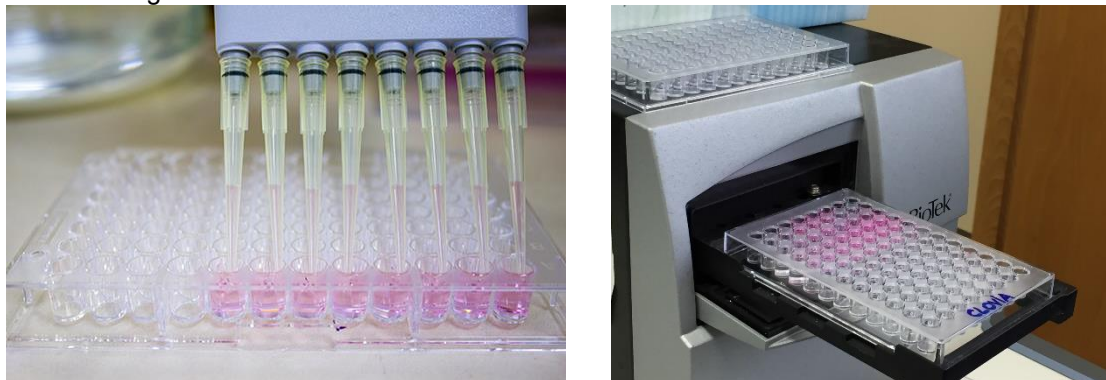
A determinação dos parâmetros cinéticos foi realizada de acordo com a equação de Michaelis-Menten, em função da concentração de ABTS ($1,17\text{-}750 \mu\text{mol L}^{-1}$). Os dados obtidos da cinética enzimática foram ajustados usando uma rotina de ajuste quadrático não linear para fornecer os valores K_M e V_{max} (MOLDES-DIZ, *et al.*, 2018).

Antes de iniciar a análise de atividade deve-se deixar todos os reagentes preparados, pois a reação é muito rápida. A solução de ABTS foi colocada no recipiente/reservatório apropriado para a micropipeta de multicanais que foi preparada com ponteiros nas posições necessárias à análise.

Para cada amostra, 4 tubos (T1) com tampa foram acomodados no suporte de tubos. Alíquotas de 980 μL de solução pH 3,0 (tampão) foram adicionadas em cada tubo com tampa, seguido de 20 μL de amostra contendo a enzima. Fechados e agitados por 4 segundos em agitador mecânico de tubos (Figura 21).

Destes tubos (T1), foram retiradas alíquotas de 20 μL e transferidas para os tubos (T2), que foram novamente fechados e agitados por 4 segundos em agitador mecânico de tubos.

Figura 21 Imagem da placa de determinação espectrofotométrica multipoços e equipamento de análise na região do visível BioTek®.



Fonte: Autora.

Dos tubos T2 foram retiradas duas ou três amostras de 50 μL (dependendo da duplicata ou triplicata necessária), e transferidos para os espaços na microplaca de acrílico para a análise espectrofotométrica.

A cada espaço da microplaca (poços) contendo as amostras, foram adicionados 150 μL de solução de ABTS, com a própria pipeta multicanal o sistema foi homogeneizado 3 vezes e a placa levada para o espectrofotômetro. O equipamento realiza automaticamente a agitação constante durante o procedimento (SHIN e LEE, 2000). O volume final dos ensaios enzimáticos foi de 1 mL.

4.2.8 Degradação com enzima livre (TVL)

Foram produzidas amostras de ES, soluções de RhB, CV, VB e LB contendo 200 mg L^{-1} de cada corante preparado em tampão (ácido acético/acetato de sódio 0,2 mL L^{-1}) de pH 5,08 devido a atividade da enzima ser afetada por pHs muito extremos (RAMÍREZ-MONTOYA *et al.*, 2015). Estas diluições foram preparadas a partir da solução estoque de corantes de 1 g L^{-1} em água que foram mantidas ao abrigo da luz e sob refrigeração a 4 $^{\circ}\text{C}$ e o volume final dos frascos reatores de vidro âmbar foi completado até 5 mL. Foram preparadas duplicatas e o controle do método sem a presença da enzima Tv.

Para avaliar a resposta da degradação dos corantes ao pH do meio tampão, foram preparadas amostras com concentração de 200 mg L^{-1} de cada corante, uma amostra controle em água ultrapura, deixadas reagir com agitação constante a 30 $^{\circ}\text{C}$ por 48 h e avaliada a descoloração por espectrofotometria.

Para o procedimento de degradação das amostras simuladas de corantes com Tv livre (TVL), a atividade da enzima foi determinada antes do início dos experimentos. A solução estoque da enzima foi mantida na geladeira a 4 °C em frasco âmbar, a leitura de atividade seguiu o protocolo segundo Moreira *et al.* (2017) descrito em item anterior. O meio utilizado foi o tampão acetato preparado de concentração de 0,1 mol L⁻¹ com ácido acético e acetato de sódio tri hidratado (C₂H₃NaO₂.3 H₂O). Os reatores (tubos de vidro âmbar) de capacidade 5 mL foram transferidos para agitador mecânico com controle de temperatura mantido em 30 °C durante o experimento.

Para controle da degradação foi acompanhada a diminuição da absorbância dos 4 corantes conforme as curvas analíticas apropriadas e foi medida a atividade da enzima TVL no tempo inicial da reação e em até 10 dias.

4.2.9 Mediador para degradação enzimática

O uso de mediador para a degradação do corante com a enzima livre baseou-se na metodologia de Khammuang e Sarnthima (2009). A amostra de solução de RhB foi preparada com 0,01 mmol L⁻¹ e a concentração de mediadores HBT e ABTS no sistema foi de 0,05 e de 0,25 mmol L⁻¹ respectivamente. O meio reacional foi mantido a 30 ± 2 °C em agitador mecânico a 150 rpm.

Para avaliar a degradação com a enzima TVL e uso de mediador deve-se avaliar a atividade da solução estoque preparada da enzima anteriormente. A amostra é transferida para reator de 5 mL de vidro âmbar com o correspondente a 20 U L⁻¹ de atividade enzimática de lacase TVL. Quando a enzima foi utilizada imobilizada, os reatores utilizados têm capacidade de 10 mL.

4.2.10 Imobilização da enzima em nanopartículas de sílica

Para a imobilização da enzima lacase de Tv em nanopartículas de sílica foi utilizado o procedimento de produção das nanopartículas pelo método de Stöber. O material foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura pelo grupo Nanomag da USC (GALLIKER *et al.*, 2010). A introdução de grupos amino (-NH₃⁺) primários na superfície destas partículas foi realizado utilizando o amino-propil-trietoxi-silano (APTS). O agente de acoplamento bi funcional foi o glutaraldeído.

A uma suspensão de 200 mg de nanopartículas funcionalizadas com amino em 9,75 mL de tampão fosfato 67 mmol L⁻¹ (pH 7) foram adicionados 250 µL de glutaraldeído (50% em água). O sistema reacional foi mantido em agitação magnética durante 60 min.

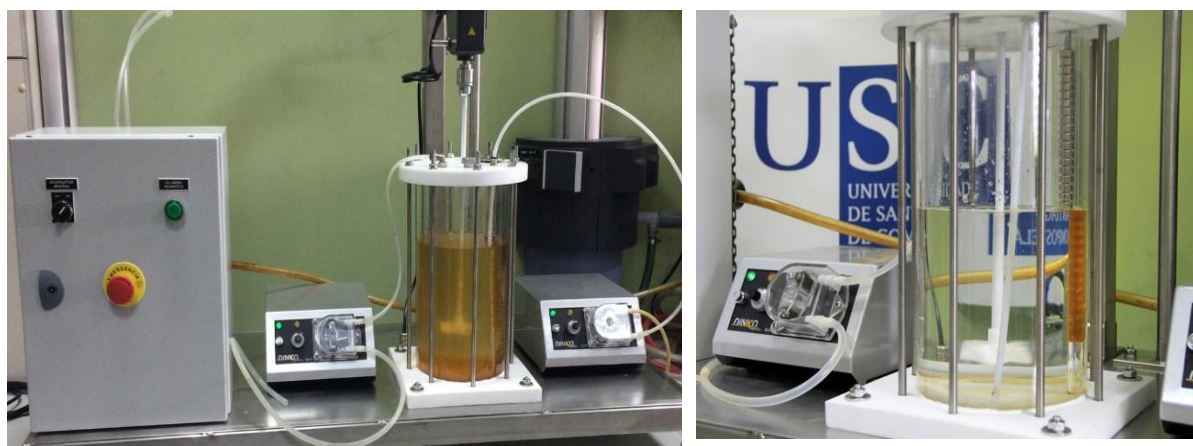
As nanopartículas ativadas com glutaraldeído produzidas foram lavadas com três ciclos de centrifugação/ressuspensão utilizando o mesmo tampão. O estoque da solução contendo lacase foi diluída diretamente em um tampão fosfato (NaH₂PO₄: 90 mmol L⁻¹, ácido cítrico: 50 mmol L⁻¹; pH 5,0). A atividade das nanopartículas funcionalizadas e imobilizadas com lacase imobilizada foi medida pelo método descrito em 4.2.7.

A imobilização da Lacase em nanopartículas de magnetita foi realizada de modo que a enzima imobilizada pudesse ser usada repetidamente nos ciclos de tratamento de descoloração do efluente de corantes.

Foi comparada a atividade da enzima livre com a enzima imobilizada em suporte de sílica e nanopartículas de magnetita com camada de SiO₂ (NPsFe@SiO₂).

Para os estudos de degradação dos ciclos de atividade da enzima lacase de TVL e imobilizada em NPsFe foi adotado o procedimento de protocolo do Laboratório do ETSE na USC. Soluções dos corantes VB e RhB com 20 mg L⁻¹ em tampão acetato pH 5,01 com 0,1 mol L⁻¹ foram tratados em 10 ciclos de 24 h de oxidação enzimática (10 dias). Nesta pesquisa, foi utilizado um reator sequencial em batelada (SBR) acoplado a um separador magnético interno (MOLDES-DIZ *et al.*, 2018) (Figura 25).

Figura 22 Reator de bancada utilizado no processo de degradação dos corantes, com nanopartículas magnéticas e suspensão da NPsm imobilizada em sílica funcionalizada.



A) Equipamento com a vareta de ímãs imersa e agitação ligada para reação de degradação;

B) Equipamento sem a presença das NPsm com a vareta de ímãs recolhida.

Fonte: Moldes-Diz *et al.* (2018).

O separador consiste em um conjunto de ímãs toroidais permanentes magnetizados axialmente, distribuídos ao longo de um bastão de aço não magnético, uniformemente espaçados com polaridade alternada, que fornecem um campo magnético externo.

A enzima TVL foi preparada a partir de estoque contendo atividade de 11.534 U L⁻¹ de Tv. Foram adicionadas aos reatores de vidro âmbar de capacidade 10 mL (duplicata) a quantidade necessária para que o meio tenha 1000 U L⁻¹ de TVL, foram preparados para cada corante também controles sem a presença da enzima (duplicatas A e B). As amostras tiveram a atividade da enzima medida quando homogeneizado o meio com os corantes.

Os reatores foram dispostos em agitador mecânico em 150 rpm e temperatura controlada de 30 ± 2 °C por 24 h (ciclo). Ao encerrar o ciclo, os reatores foram retirados do agitador e a atividade da enzima foi medida, são devolvidos os 200 µL utilizados para a determinação de atividade, ao reator.

Ao mesmo sistema adicionam-se as mesmas concentrações de corantes VB e RhB, medem-se as atividades e reinicia-se o ciclo oxidativo de 24 h. Repete-se este procedimento até completar a quantidade de ciclos pretendidos.

4.2.11 Preparação das nanopartículas

A preparação das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro revestidas com sílica porosa (NPsmFe₃O₄@SiO₂) foi realizada pela coprecipitação de sais de Fe (NIKU-PAAVOLA *et al.* 1990) e Fe (III) (MASSART, 1981) em duas etapas.

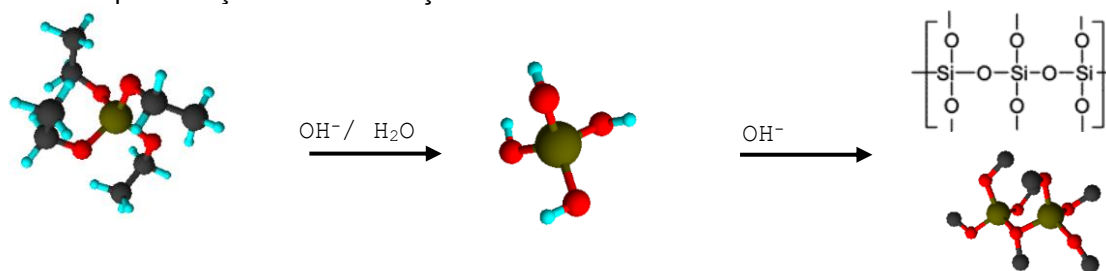
Etapa 1: síntese do núcleo magnético e formação do revestimento de sílica. O procedimento seguiu a metodologia descrita por Tsang *et al.* (2006) e foi realizado no Laboratório Nanomag da Universidade de Santiago de Compostela (MOLDES-DIZ, *et al.*, 2018).

As nanopartículas de óxido de ferro (Fe₃O₄) foram obtidas pela técnica de microemulsão água-óleo (oleico). Para formação da microemulsão adicionou-se tolueno (100 g) sob agitação vigorosa para criar uma suspensão bem distribuída. FeCl₂.4H₂O e FeCl₃.6H₂O foram dissolvidos em água ultrapura e a solução foi adicionada lentamente à suspensão de tolueno com Brometo de Cetil Trimetil Amônio (BCTA) sob atmosfera de nitrogênio gasoso (N_{2(g)}). Depois de adicionar as soluções

de sais de ferro, o sistema foi agitado continuamente durante 4 h, adicionou-se lentamente 1 mL de solução de hidróxido de amônio (NH_4OH 35% m/v). No meio reacional forma-se um precipitado preto, indicativo da produção de Fe_3O_4 magnético (magnetita). Após 16 h acrescentou-se álcool isopropílico para precipitar as nanopartículas (CHEN *et al.*, 2017). O material obtido foi centrifugado (9000 rpm por 15 min.) e lavado com álcool isopropílico por quatro vezes em água ultrapura para uma concentração final de 8% (m/v).

Etapa 2: A formação do revestimento de sílica porosa (dióxido de silício SiO_2) nas nanopartículas se dá após 2 h da adição o $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$, quando adiciona-se o tetra etil orto silicato/ortossilicato de tetraetilo (TEOS, do Inglês: *Tetra Ethyl Ortho Silane*) lentamente ao meio reacional, ainda em atmosfera de $\text{N}_2(\text{g})$, mantendo o meio inerte por mais 1 hora. A alta solubilidade do TEOS no tolueno assegura que o mesmo esteja bem disperso no sistema de microemulsão. A formação do revestimento de gel de SiO_2 ocorre na interface entre água e tolueno. O excesso de solução de $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$, previamente adicionada assegurou que o sistema tenha $\text{pH} \approx 8,5$ que se faz necessário para catalisar os processos de hidrólise e condensação. A reação química relacionada é representada na Figura 22.

Figura 23 Representação da condensação do TEOS.



Onde: os átomos na representação verdes são silícios, vermelhos são oxigênios, pretos são carbonos e azuis são hidrogênios. Fonte: Modificado de Chan e Chu (2001).

O sólido de TiO_2 (> 99,9%; anatase, $3,8 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ~300 nm) foi utilizado como reagente para preparação das nanopartículas de ferro para utilização como catalisador e fotocatalisador sólido em emulsão.

Soluções de NaOH e HCl p.a., usados para ajustes de pH. A água ultrapura utilizada foi obtida a partir de sistema Milli-Q®.

As nanopartículas com revestimento polimérico de PEI e PAA foram obtidas do laboratório de nanomateriais Nanomag da Faculdade de Física da USC.

4.2.12 Preparação de nanopartículas magnéticas revestidas de TiO₂

Para utilização de nanocomposito de nano Fe^{x+}, foi preparada a NPsm da seguinte forma: Agitaram-se 2,11 mL de uma suspensão aquosa de Ferro Fluido contendo 48,11 mg mL⁻¹ com 5,6 mL de metanol e 2,29 mL de suspensão de TiO₂, a 4,35% m/v, o meio reacional final de capacidade 20 mL completados com solução de pH 1,8 de HCl, agitou-se o sistema vigorosamente por 5 min. e o mesmo foi levado para centrifugação a 9.000 rpm durante 10 min., as nanopartículas formaram-se através da precipitação de um sólido escuro e sua magnetização foi comprovada utilizando-se um ímã para separar o sólido na suspensão. O sistema foi lavado com 4 alíquotas de 3 mL de solução aquosa de HCl 25% (m/v) e separadas a cada lavagem, o sobrenadante foi descartado, o sólido foi ressuspenso em tampão (dihidrogenofosfato de sódio - NaH₂PO₄/ hidrogenofosfato dissódico - Na₂HPO₄ 0,2 mol L⁻¹) pH 7,0 e sua concentração em Fe@TiO₂ foi medida em 4 g L⁻¹, a suspensão foi acondicionada sob refrigeração até o seu uso como catalisador.

4.2.13 Processo Fenton, foto Fenton e nanopartículas magnéticas (NPsm) para a degradação da Rodamina B

Estes experimentos foram realizados na ETSE/USC. Foram utilizadas 3 tipos de nanopartículas magnéticas para a realização do experimento (NPsm de Fe₃O₄ baseados em Fe²⁺).

Os NPsm utilizadas foram revestidas com TiO₂ (NPsm@TiO₂), ácido poliacrílico (NPsm@PAA) e polietilenoimina (NPsm@PEI).

Foram avaliadas 3 NPsm pelo processo Fenton para efluente simulado de 200 mg L⁻¹ de RhB com 0,07 mol L⁻¹ de NPm (4 g L⁻¹) de concentração equivalente em Fe²⁺, 12 g L⁻¹ de H₂O₂ (0,35 mol L⁻¹), temperatura constante de 30 ± 2 °C, agitação a 100 rpm, volume total do reator 5 mL, tempo de reação de 70 h (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Pelos resultados obtidos, optou-se para realizar a comparação de degradação dos processos de Fenton e foto Fenton para a NPsm com melhores resultados. Os processos de Fenton e foto Fenton foram realizados nas condições de concentração de 200 mg L⁻¹ Rodamina B com 8% (v/v) água:AE pH 3,0 HCl_(aq), 0,07% e 0,14% para a NPsm@PEI que apresentou o melhor resultado na comparação de degradação pelo

Fenton ($0,14 \text{ mol L}^{-1}$) de cada nanopartículas de magnetita em concentrações equivalentes em Fe^{x+} (Fe^{2+} e Fe^{3+}), 12 g L^{-1} de H_2O_2 ($0,35 \text{ mol L}^{-1}$), a $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, agitação magnética a 150 rpm, em um volume de reação de 4 mL.

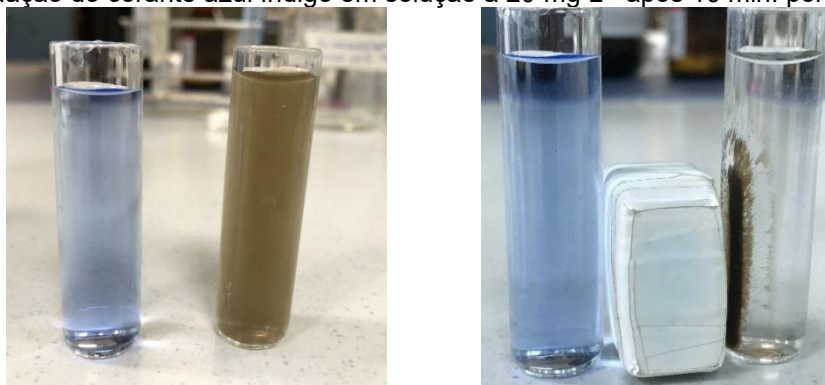
A reação foi monitorada durante 180 min. Para o POA foto Fenton, ainda o meio foi irradiado com UV conforme o SR4.

Os controles da degradação da solução foram mantidos sem as NPsm, com e sem adição de H_2O_2 .

A lâmpada de UV usada emite no comprimento de onda (λ) 254 nm. A descoloração foi monitorada por um espectrofotômetro em comprimento de onda $\lambda = 562 \text{ nm}$.

As NPsm foram separadas do meio reacional para coleta de amostras de monitoramento utilizando-se ímãs como apresentado no esquema da Figura 23.

Figura 24 Esquema ilustrativo de separação das NPsm do meio reacional via imantação após degradação do corante azul índigo em solução a 20 mg L^{-1} após 10 min. por NPsm@PEI.



Fonte: Autora.

Prepararam-se amostras de efluentes simulados (ES) de solução dos corantes RhB, CV, CV e LB com 200 mg L^{-1} , em H_2O : AE (92:8% v/v), mediu-se o pH, as amostras foram tratadas no sistema reator SR3, aplicou-se radiação UV a temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 100 min. Acompanhou-se a degradação da cor através de espectrofotometria.

Foram fixadas as variáveis da reação de Fenton, as quais apresentaram melhor eficiência no sistema proposto conforme trabalhos anteriores (MISTURA e OLIVEIRA, 2008; RODRIGUES, 2015).

O sistema apresenta torneiras para coleta de amostras a fim de acompanhar as reações avaliadas, um termopar acoplado a um banho termostático para poder-se

variar a temperatura de um banho maria envolvendo o recipiente onde está o equipamento.

4.2.14 Testes de Toxicidade

Ecotoxicidade aguda (Microtox®)

A avaliação de ecotoxicidade para o organismo teste foi realizado pelo laboratório do Instituto de Investigações Tecnológicas (ITT) da Escola Superior de Engenharia (ETSE) da Universidade de Santiago de Compostela (USC) a partir do protocolo próprio em equipamento Microtox® M500 e seguindo o que refere o Teste de Toxicidade com bactéria luminescente: método de ensaio (CETESB, 2001).

Figura 25 Equipamento de análise de toxicidade Microtox® com kit de reagentes para realização do ensaio de toxicidade.



Fonte: Autora.

As amostras devem ter uma faixa de pH de pH ajustada entre 4,5 a 9 para os testes e devem ser preparadas anteriormente com HCl ou NaOH_(aq) 5% (m/v); cubetas de quartzo próprias do equipamento (Figura 25).

O ensaio é realizado a 15 °C e com uma salinidade padronizada correspondente a 2% de NaCl_(aq) e a inibição da luminescência com um luminímetro a 490 nm é medida.

Os reagentes empregados fazem parte do *kit* do equipamento e constituem-se do cultivo liofilizado da bactéria marinha *Photobacterium phosphoreum*, armazenada sob refrigeração de -20 °C; solução de reconstituição, contendo água

ultrapura livre de bactérias, solução de ajuste osmótico de $\text{NaCl}_{(aq)}$ com 22% para ajustar a pressão osmótica da amostra; diluente de solução a 2% de $\text{NaCl}_{(aq)}$.

Após acrescentar o efluente nas diluições conhecidas e preparar o teste com o microorganismo reativado, faz-se a leitura aos 5, 15 e 30 min. do tempo de exposição. Sempre foi realizado um teste branco do método para comparação. Os resultados são expressos em % de EC50 (Efeito deletério para 50% da bioluminescência) para cada diluição e tempo de exposição.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente capítulo apresenta os resultados e a discussão sobre estes, considerando as etapas metodológicas abordadas previamente no item 3.2, em métodos.

5.1 FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA

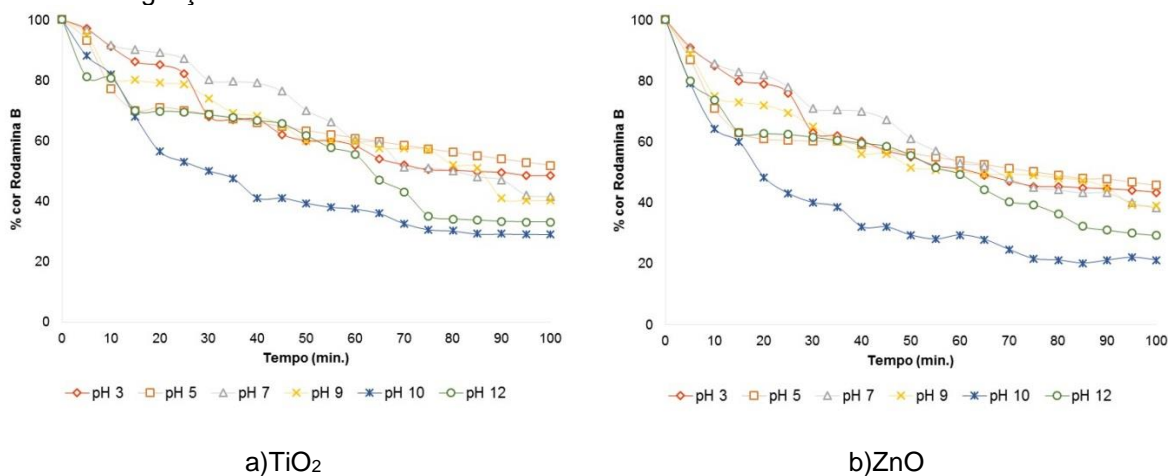
As taxas de oxidação e eficiência do sistema fotocatalítico UV/TiO₂ e UV/ZnO dependem dos parâmetros de operação que regem a cinética da descoloração. Alguns desses parâmetros são temperatura, pH, concentração do semicondutor sólido e tempo de incidência de luz. Esses parâmetros aumentam ou reduzem a taxa de reação, dependendo da complexidade estrutural do poluente e suas tendências hidrofóbicas (CHONG et al., 2010). Relatou-se que as mudanças incrementais na temperatura não afetam significativamente a taxa de reações fotocatalíticas e a temperatura melhor de reação para o fotomineralização é de 20 a 80 °C (MALATO et al., 2009) (DEVI et al., 2009), portanto, neste trabalho foi estabelecida a temperatura de 30 °C para todos os experimentos.

Em um sistema fotocatalítico heterogêneo, o pH é um dos parâmetros operacionais mais importantes, uma vez que a adsorção do composto orgânico na superfície do fotocatalisador e para a reação de degradação depende da superfície e quantidade do fotocatalisador e o estado de ionização do composto orgânico.

Assim, a adsorção de compostos orgânicos carregados positivamente é facilitada em um pH básico, enquanto para as espécies carregadas negativamente é favorável um pH ácido na superfície do catalisador, assim é difícil padronizar o pH condições para a degradação de uma classe específica de compostos orgânicos. Recomenda-se que estratégias apropriadas de controle de pH sejam implementadas em cada condição de processo fotocatalítico de tratamento, a fim de obter uma solução mais adequada caso a caso (MUHD JULKAPLI et al., 2014) (RAJESHWAR et al., 2008).

A Figura 26 apresenta o efeito dos diversos pHs do meio na descoloração de uma solução alcoólica (8%) de rodamina com 200 mg L⁻¹.

Figura 26. Cor relativa a RhB em função do tempo de irradiação UV com pH variando de 3 a 12 em um efluente sintético composto por 200 mg L⁻¹ RhB e solução aquosa contendo álcool etílico a 8% (v/v), usando 1 g L⁻¹ de TiO₂ (a) ou 1 g L⁻¹ de ZnO (b) como catalisador e temperatura de 30 °C sob agitação constante.



Fonte: Autora.

Os resultados demonstram que a melhor eficiência foi obtida em pH 10 para uma remoção da cor desse efluente. Isso está de acordo com a literatura sobre o melhor desempenho de descoloração de corantes com carga positiva (rodamina B, laranja básico 2, violeta cristal, verde brilhante) em pH básico (LEE *et al.*, 2016) (ZANGENEH *et al.*, 2015).

Foram realizados estudos de adsorção nos catalisadores sólidos e os resultados demonstram que a adsorção dos corantes não é significativa para esses efluentes dessas soluções nessas condições, apresentando resultados inferiores a 0,03%. Para os testes de controle de degradação, considerando apenas o catalisador ou apenas a irradiação UV, não houve descoloração acima de 0,006%. Considerando tais resultados, é seguro afirmar para estes estudos, que o processo de descoloração esteja associado apenas à formação de radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$) pelo processo UV/TiO₂ ou UV/ZnO. Como esperado, o catalisador de ZnO produziu melhores resultados que o TiO₂, pois, em comparação, possui uma energia menor de *gap* de banda e também é capaz de fornecer uma maior energia de oxidação (RAJESHWAR *et al.*, 2008) (SIULEIMAN *et al.*, 2014) (SCHRAUBEN *et al.*, 2012).

A concentração do fotocatalisador é outro parâmetro crítico que determina a taxa de degradação de compostos orgânicos (WANG *et al.*, 2016), pois depende do volume da solução a ser tratada e da concentração inicial do composto orgânico.

Foi amplamente observado que a taxa de degradação aumenta com o aumento da quantidade do catalisador. Isso ocorre devido à disponibilidade de sítios

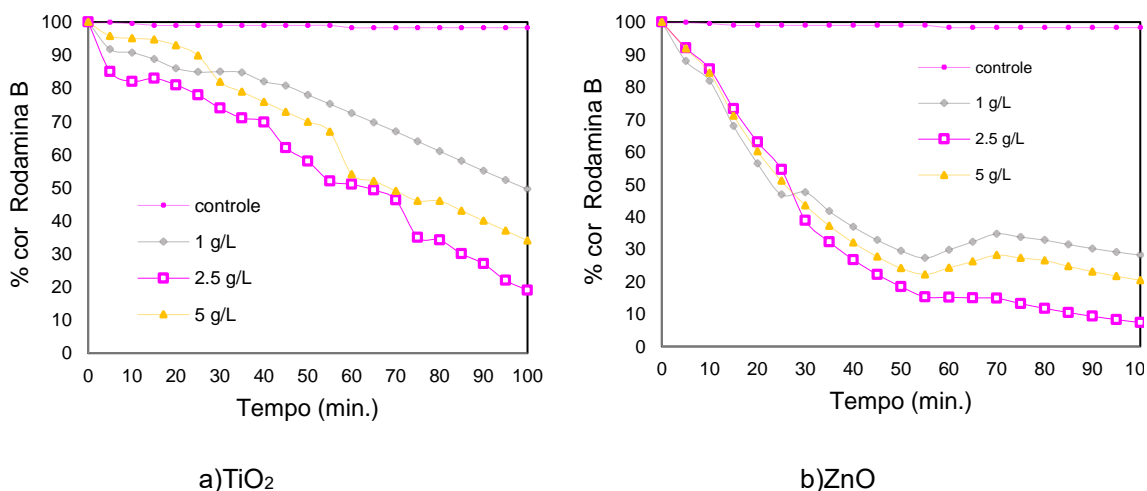
catalíticos mais ativos em concentrações mais altas, o que resulta na geração de mais concentração de hidroxila.

No entanto, quando essa quantidade é aumentada além de um valor ótimo, não há acréscimo apreciável na taxa de degradação. Isso ocorre porque as partículas do catalisador dispersam a energia da luz, reduzindo a intensidade efetiva que atinge a solução de reação.

Na literatura, 0,4-3,5 g L⁻¹ de catalisador tem sido utilizado para a degradação fotocatalítica de diferentes compostos orgânicos (NABEEL e WASEEM, 2018).

A Figura 27 apresenta o efeito da concentração de catalisador na descoloração de uma solução de 200 mg L⁻¹ de RhB. Os resultados confirmaram um bom desempenho com 1 g L⁻¹, mas a melhor eficiência foi alcançada com 2,5 g L⁻¹ para TiO₂ e ZnO.

Figura 27. Coloração de RhB restante (%) em função do tempo de irradiação UV variando a concentração do catalisador de 1 a 5 g L⁻¹ em um efluente sintético com 200 mg L⁻¹ de RhB solução aquosa com 8% de álcool etílico (v/v), usando TiO₂ (a) e ZnO (b) como catalisadores, na temperatura de 30 °C e pH 10 sob agitação constante.

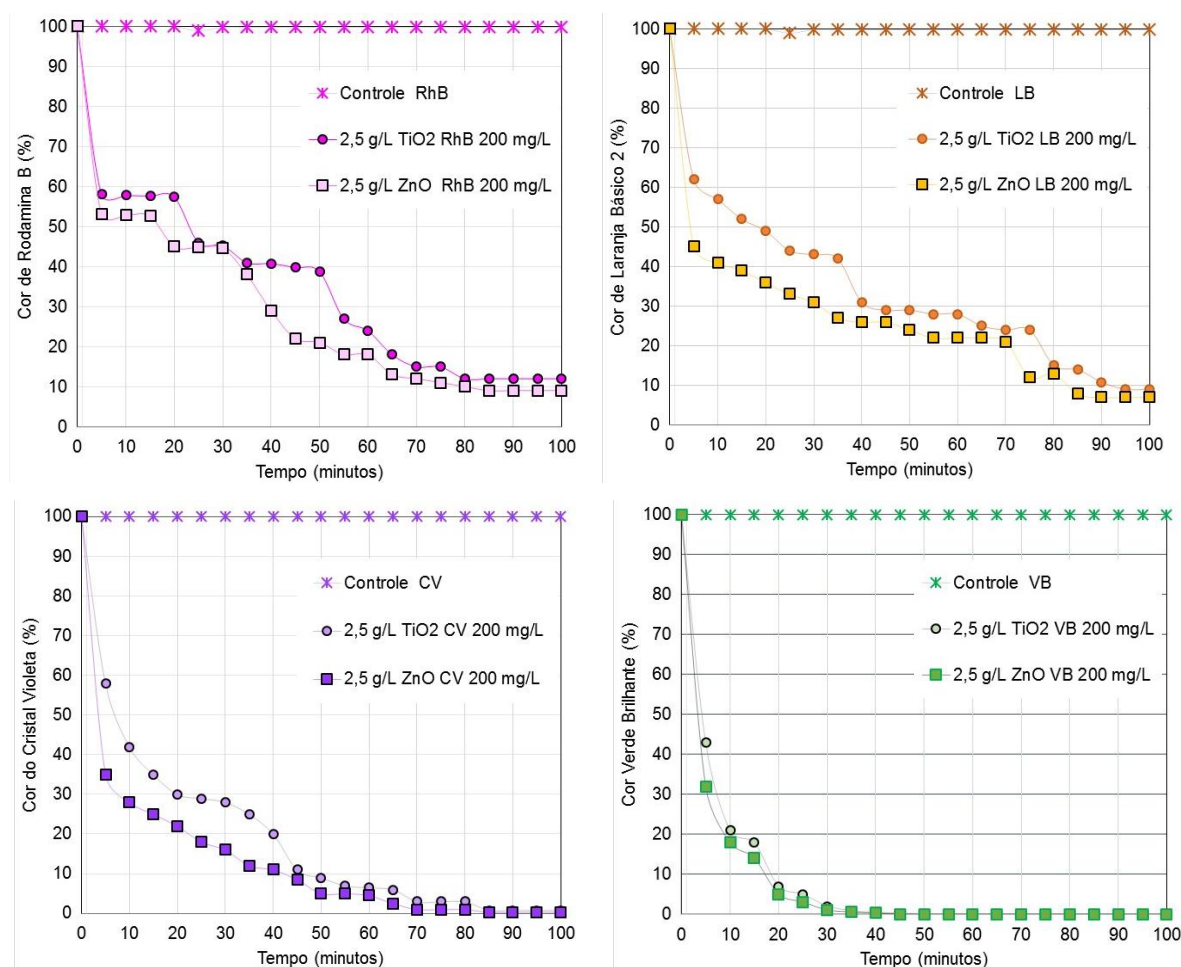


Estes resultados são próximos daqueles obtidos por Sivalingam et al., observa-se que a concentração ótima de TiO₂ para a degradação de corantes é de 1 g L⁻¹ (SIVALINGAM et al., 2004). No trabalho de Ahmed et al. a concentração de corante amarelo reativo tratado foi de 50 mg L⁻¹ e a melhor dosagem de catalisador ZnO encontrada foi de 3,5 g L⁻¹ (AHMED et al., 2016).

A eficiência de degradação obtida para o efluente aquoso contendo os quatro corantes estudados na concentração de 200 mg L⁻¹ de RHB, CV, LB e VB com 8% de

álcool etílico na solução da mistura, experimento realizado em pH 10,0 e na presença de 2,5 g L⁻¹ de catalisador ZnO em função do tempo é apresentada na Figura 28.

Figura 28. Degradação da coloração de CV, RhB, LB e VB em função do tempo de irradiação UV na concentração do catalisador de 2,5 g L⁻¹ em um efluente sintético composto por 200 mg L⁻¹ de cada corante e solução aquosa contendo 8% de álcool etílico (v/v), usando ZnO e TiO₂ como catalisadores sólidos, na temperatura de 30 °C e pH 10 sob agitação constante.



Fonte: Autora.

A cor relativa aos corantes verde brilhante e violeta de cristal foi completamente removida em um tempo de reação de 80 min. e agitação constante. Por outro lado, dada a mesma quantidade de tempo, a descoloração alcançada na RhB e a composição de RhB e laranja básico 2 foi de cerca de 90%.

Estes resultados confirmam que a RhB é o corante mais recalcitrante entre os 4 estudados nesta tese. Entre os catalisadores, ZnO apresentou um desempenho ligeiramente melhor para todos os corantes estudados.

É possível observar que a coloração diminuiu com sucesso como apresentado na Figura 29.

Figura 29. Aspecto do efluente simulado com 200 mg L^{-1} de cada corante contendo a coloração de CV, RhB, LB e VB em solução aquosa com 8% de álcool etílico (v/v), e após tratado usando ZnO como catalisador sólido, na temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e pH 10 sob irradiação UV e agitação constante por 100 min.



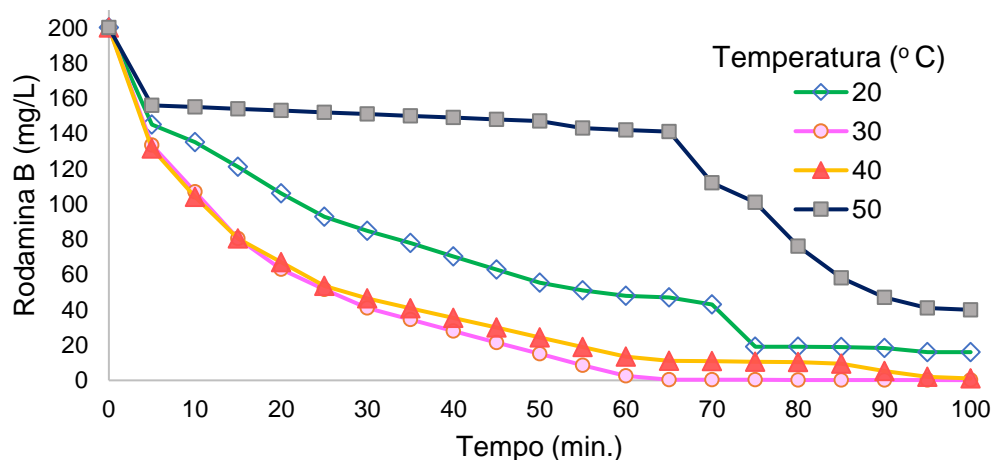
Fonte: Autora.

5.2 OZONIZAÇÃO/UV DO EFLUENTE SIMULADO

5.2.1 Avaliação da temperatura para ozonização de efluentes simulados de RhB

A ozonização do meio foi realizada em 4 temperaturas (20 , 30 , 40 e $50 \text{ }^\circ\text{C}$).

Figura 30 Degradação da cor do corante RhB com 200 mg L^{-1} no efluente contendo 8% de AE (v/v), tratado com ozonização (e radiação UV, em condições de pH 7,8 com diversas temperaturas reacionais mantidas com banho termostático.

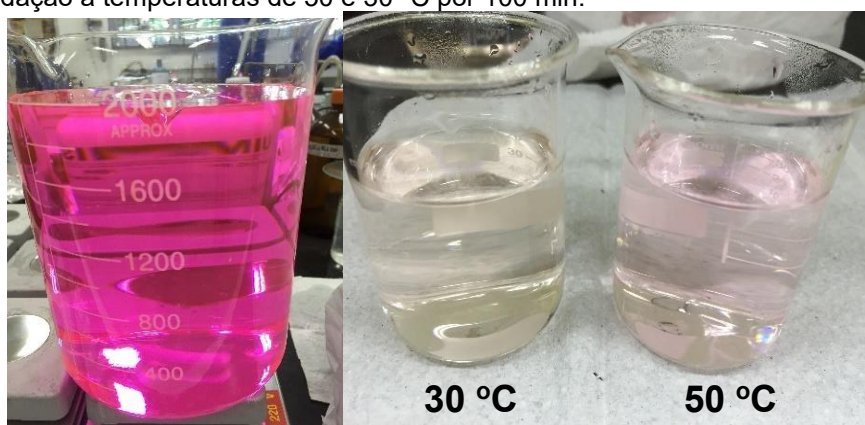


Fonte: Autora.

A produção na ozonização foi mantida em $208 \pm 6 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de gás $\text{O}_{3(g)}$ com UV.

Nas temperaturas avaliadas, os melhores resultados de descoloração ocorreram a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 30). Os aspectos dos efluentes tratados neste sistema estão apresentados nas Figuras 31 e 32.

Figura 31 Degradação da cor de amostra de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em H_2O : AE (92:8% v/v), com ozonização assistida por radiação UV ($200 \text{ O}_3 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), aspecto da cor inicial e após degradação a temperaturas de 50 e $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 100 min.



Fonte: Autora.

Figura 32 Degradação da cor de amostra de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em H_2O : AE (92:8% v/v), com ozonização assistida por radiação UV ($200 \text{ O}_3 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) a diferentes pHs por 100 min.



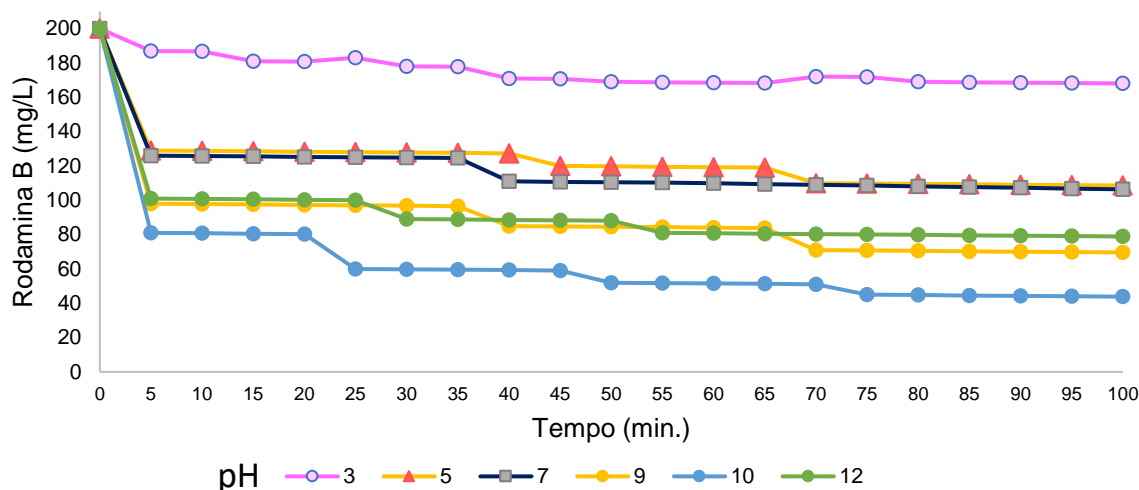
Fonte: Autora.

Com o aumento da temperatura de 20 a $50 \text{ }^\circ\text{C}$, a partir dos 30 não houve degradação significativa da coloração pelo uso de pH 10 a 100 min. de UV/ozonização, inclusive diminuindo o valor de degradação da cor da rodamina, o que pode ser explicado pela menor solubilidade do gás ozônio com o aumento da temperatura do sistema, diminuindo sua distribuição e disponibilidade para a reação de degradação do corante.

5.2.2 Ozonização/UV para diferentes pHs dos efluentes de RhB

A degradação da cor do corante RhB em efluente simulado de concentração 200 mg L^{-1} (água:AE 8% v/v) com diferentes pHs 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 10,0 e 12,0, com ozonização ($200 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ O}_3$) assistida por UV, é apresentada na Figura 33.

Figura 33 Degradação da cor de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em água:AE 8% (v/v) com ozonização assistida com radiação UV ($200 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ O}_3$) no tempo de 100 min.



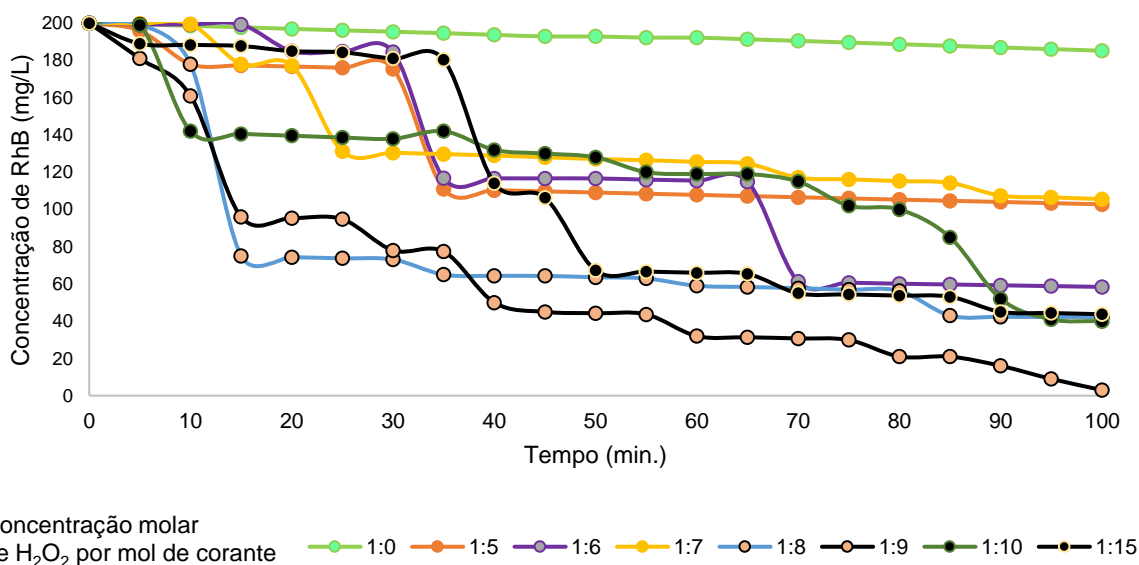
Fonte: Autora.

A melhor condição para o experimento foi obtida pelo sistema com pH fixado em 10 até 100 min. de tempo reacional.

5.2.3 Ozonização/UV com Peróxido de Hidrogênio

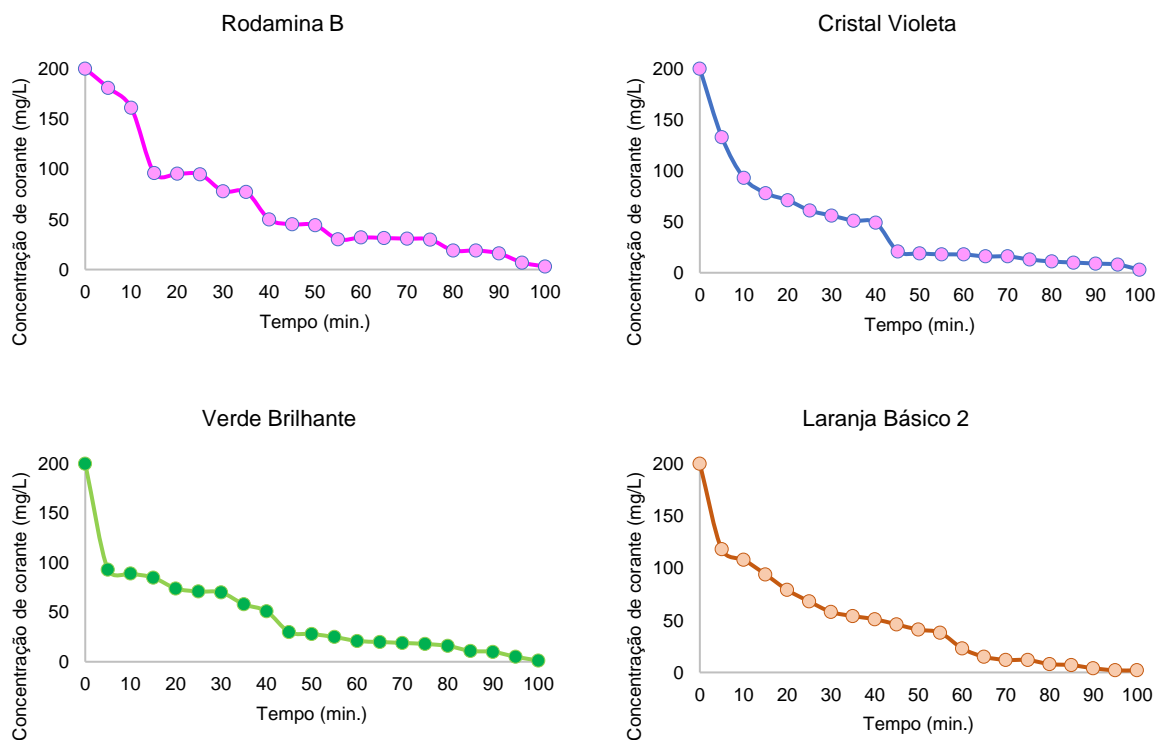
Amostras de ES preparados em solução de água e AE a 8% (v/v) com 200 mg L^{-1} de corante RhB foram tratados com UV/ozonização por 100 min., com pH 10 e temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Diversas proporções molares de corante e peróxido de hidrogênio foram avaliadas ao longo do tempo (1:5; 1:6; 1:7; 1:8; 1:9; 1:10 e 1:15 mols de corante para mols de H_2O_2). Também foi realizado um teste sem a presença do H_2O_2 , apenas corante RhB. Observou-se a descoloração do corante RhB e os resultados estão apresentados na Figura 34. A melhor condição encontrada foi a de 9 mols de H_2O_2 para cada mol de corante no sistema. Foi realizado um tratamento com cada corante separadamente e os resultados são apresentados na Figura 35.

Figura 34 Degradação da cor de amostras de efluente simulado de solução de RhB a 200 mg L^{-1} em H_2O : AE (92:8% v/v), em diversas concentrações de corante: H_2O_2 com radiação UV e ozonização assistida por UV ($200 \text{ O}_3 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), pH do meio reacional a 10,00, a temperatura constante de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 100 min.



Fonte: Autora.

Figura 35 Degradação da cor de soluções simuladas contendo os corantes RhB, CV, VB e LB a 200 mg L^{-1} em água:AE 8% (v/v) com ozonização assistida com radiação UV ($200 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ O}_3$) no tempo de 100 min. pH 10 e temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$, concentração molar de corante 1:9 mols de H_2O_2 .



Fonte: Autora.

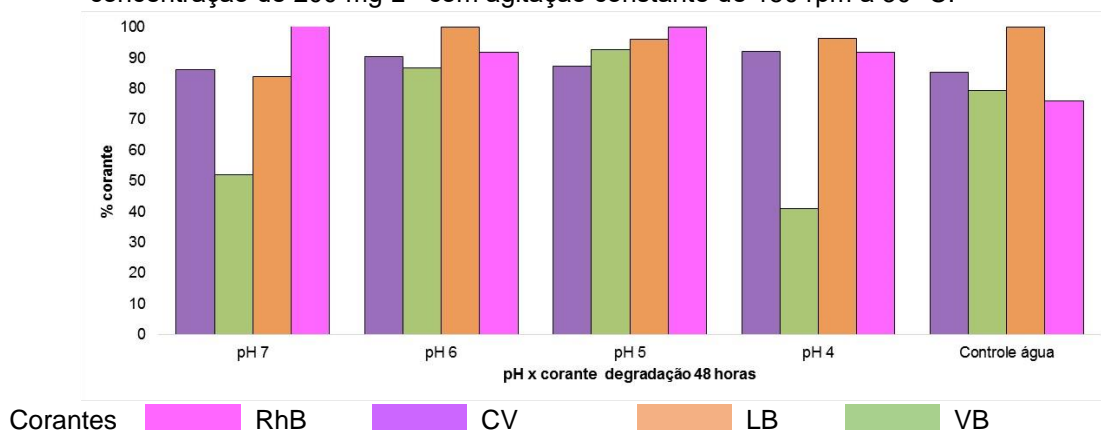
5.3 TRATAMENTO COM ENZIMA TVL

A enzima utilizada foi TVL. O valor de atividade do estoque de enzima medido foi de 83.000 U L^{-1} , a partir de trabalhos anteriores do grupo, procedeu-se a diluição para uma atividade no reator final de aproximadamente 1000 U L^{-1} de TVL (MOREIRA *et al.*, 2000).

5.3.1 Degradação dos corantes com TVL em diversos pHs

Foram preparadas amostras de soluções de corantes a 200 mg L^{-1} em tampões fosfato de pHs de 4 a 7 para avaliação do comportamento da enzima TVL no meio e avaliada a % de degradação dos corantes após 48 h, os resultados estão apresentados na Figura 36.

Figura 36 Descoloração (%) da cor de soluções dos corantes em meio tampão fosfato, citrato com concentração de 200 mg L^{-1} com agitação constante de 150 rpm a $30 \text{ }^\circ\text{C}$.



Fonte: Autora.

Os resultados demonstram que a enzima TVL no meio tampão após 48 h de reação à temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, degrada mais o corante VB, praticamente não afetando os outros 3 corantes quanto a degradação da cor, a melhor condição de pH encontrada é 4 para degradação do VB (61,3%), também o tampão em pH 7,0 degrada o VB em 50%. Assim o corante VB demonstrou-se o mais suscetível à degradação.

A partir deste resultado preparou-se o ensaio de degradação dos 4 corantes com a TVL em tampão fosfato pH 7,0.

Como os efluentes simulados contendo 200 mg L^{-1} dos corantes não teve degradação significativa após 68 h, as soluções efluentes simuladas tiveram sua

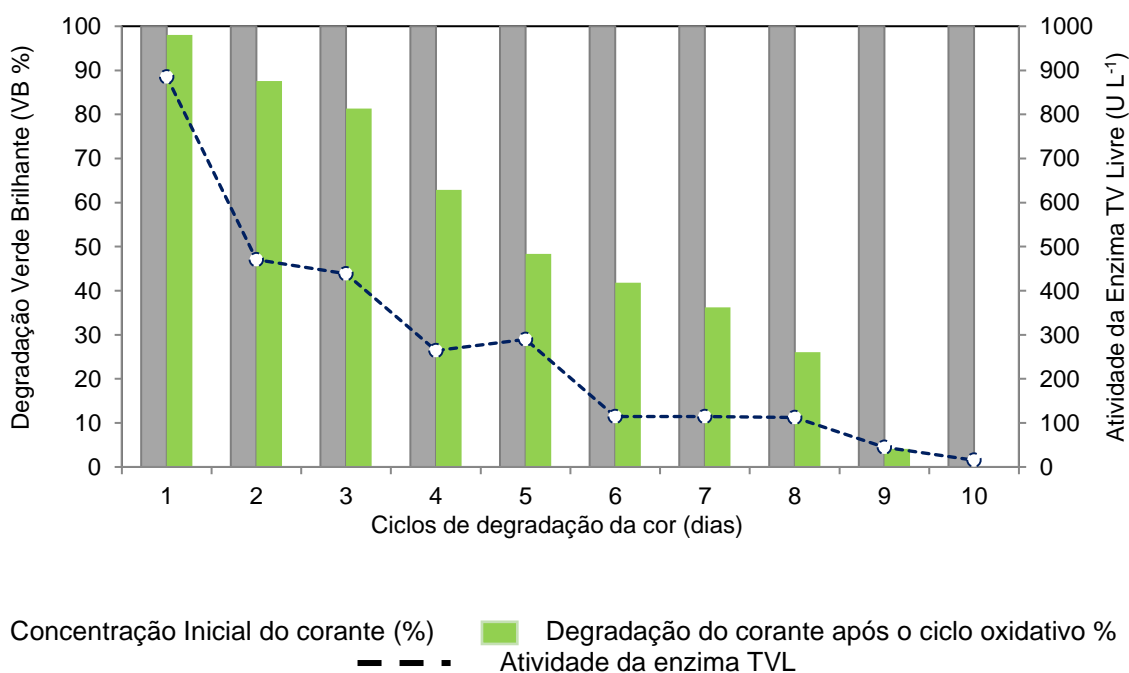
concentração diminuída para 20 mg L⁻¹ em frasco âmbar de capacidade 5 mL (reator). Esta concentração foi determinada devido a capacidade de degradação das enzimas Tv que é menor do que os oxidantes convencionais, podendo não apresentar boa performance de degradação em concentrações mais altas de corantes.

A atividade da Tv foi obtida por diluição do estoque de enzima mantida em refrigeração para 1000 U L⁻¹, o meio reacional foi mantido em 30 °C por 48 h, também prepararam-se dois controles, contendo apenas o corante nas mesmas condições (Controle A e B). Os controles não apresentaram degradação nas condições do experimento. Os resultados encontrados demonstram que a TVL não degrada os corantes CV, RhB e LB, apenas degradando a cor do VB em 78% em 24 h, mantendo-se constante até o final do experimento em 48 h.

5.3.2 Degradação dos corantes com TVL e imobilizada com NPsm

A concentração dos corantes foi diminuída de 200 para 20 mg L⁻¹, pois partindo-se dos resultados obtidos por Capille (2017) que observou a capacidade de descoloração completa do corante quando aumentou a concentração 10 vezes foi muito reduzida (CAPILLE, 2017).

Figura 37 Ciclos de degradação do corante 20 mg L⁻¹ VB em solução aquosa em tampão pH 5,0 acetato com TVL com 1000 U.L⁻¹ com agitação a 150 rpm na temperatura de 30 °C, volume total de 10 mL e tempo de 10 dias. Controles sem a presença da enzima Tv nas mesmas condições.



Fonte: Autora.

As condições dos ciclos de oxidação enzimática então foram realizados em 10 ciclos de 24 h de reação. Com e sem o uso de mediadores e para o corante VB que apresentou a melhor degradação com enzima TVL e RhB que não apresentou degradação com TVL em 68 h. A Figura 37 apresenta os resultados de 10 ciclos de TV Livre com VB.

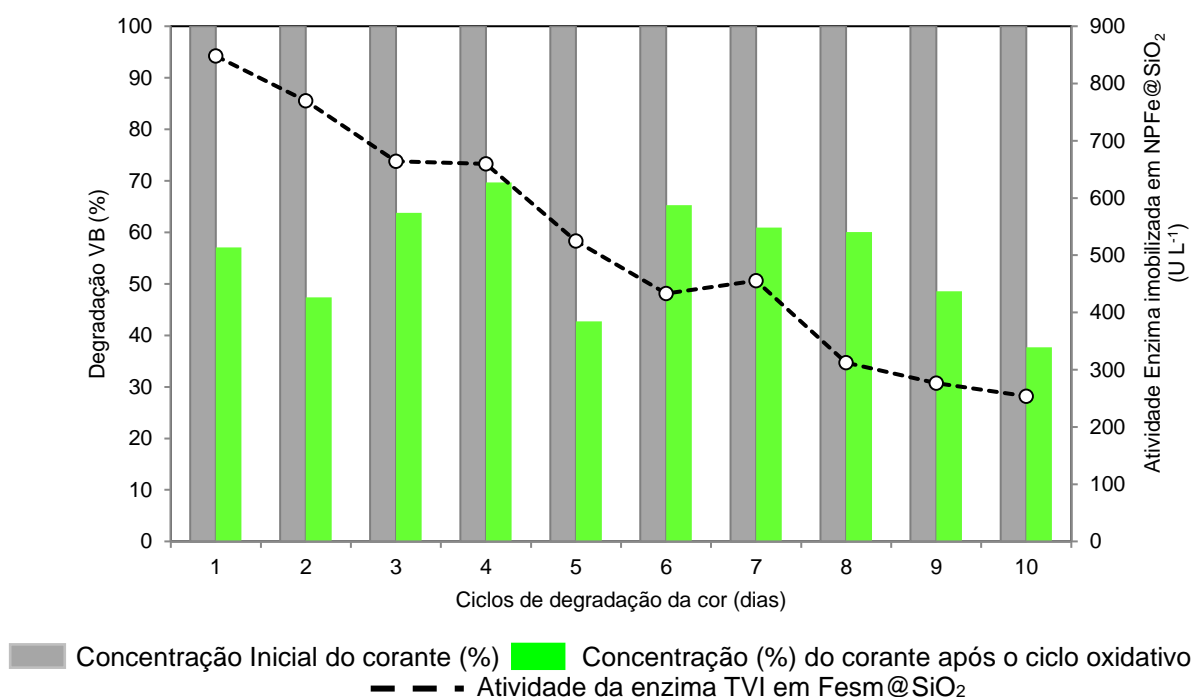
Os resultados encontrados nos ciclos de degradação demonstram que a TVL degrada o corante VB até o ciclo 9, onde a atividade da TVL chega a 44 U L^{-1} , apenas degradando a cor do VB em 12% no 10º ciclo.

Nas Figuras 38 e 39 apresentam-se os resultados de descoloração com TVI para o VB e RhB respectivamente, na presença de mediador.

Os resultados encontrados nos ciclos de descoloração demonstram que a TVI em SiO_2 degrada menos o corante VB, mas de forma mais homogênea entre os ciclos, onde a atividade da TVI mantém-se por mais tempo e chega a 254 U L^{-1} no 10º ciclo, degradando a cor do VB em média de 55,5% ao longo dos 10 ciclos.

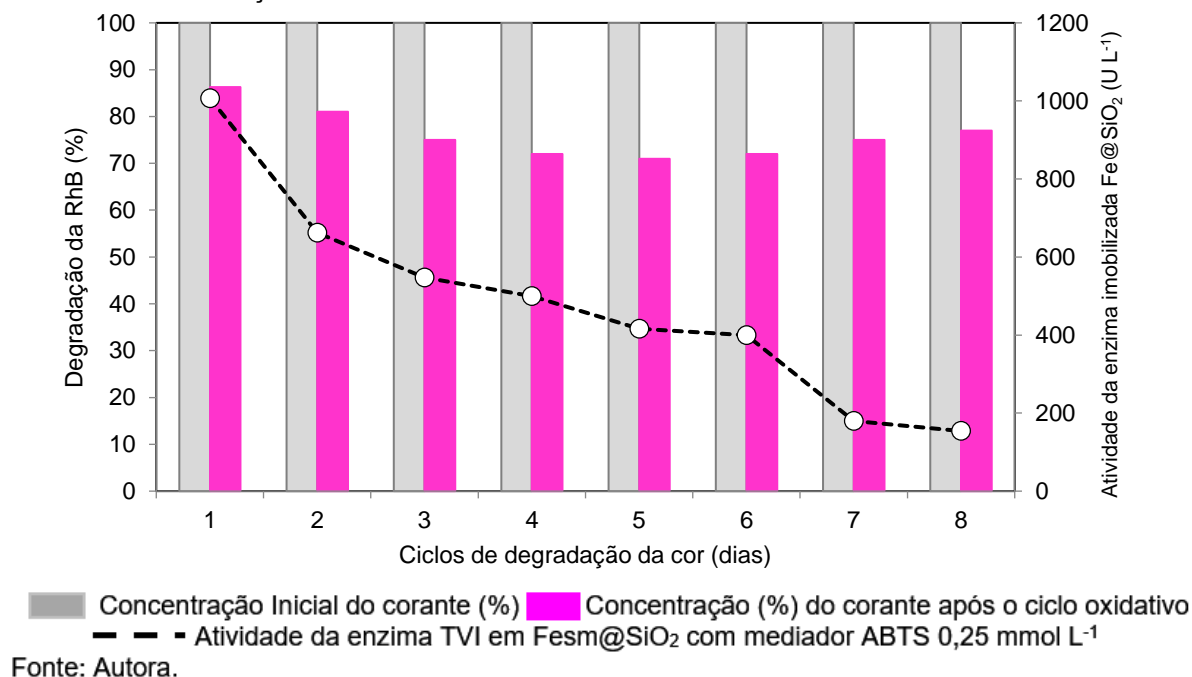
Os resultados encontrados nos ciclos de descoloração demonstram que a TVI em Fesm@SiO_2 degrada o corante RhB, de forma mais homogênea entre os ciclos, onde a atividade da EI mantém-se até 154 U L^{-1} no 10º ciclo, degradando a cor do RhB em média de 39,2% ao longo dos 10 ciclos.

Figura 38 Degradação do corante 20 mg L^{-1} VB em solução tampão pH 5,0 acetato com TVI em Fesm@SiO_2 com 1000 U L^{-1} com agitação a 150 rpm na temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, volume total de 10 mL e ciclo de 10 dias. Controles sem a presença da enzima Tv nas mesmas condições.



Fonte: Autora.

Figura 39 Degradação do corante 200 mg L⁻¹ RhB em solução tampão pH 7,0 fosfato com TVI em Fesm@SiO₂ com 1000 U L⁻¹ com mediador ABTS, agitação a 150 rpm na temperatura de 30 °C, volume total de 10 mL e tempo de 10 dias. Controles sem a presença da enzima Tv nas mesmas condições.



As condições de descoloração enzimática foram realizadas a pH tampão fosfato 7, com e sem o uso do mediador ABTS e para os corantes RhB, CV, LB e VB avaliando-se a degradação da cor com enzima TVL com atividade inicial de 1000 U L⁻¹ e dois controles sem presença de enzima e sem presença de ABTS, 68 h de reação em temperatura de 30 °C e agitação constante de 150 rpm de 5 mL de amostras.

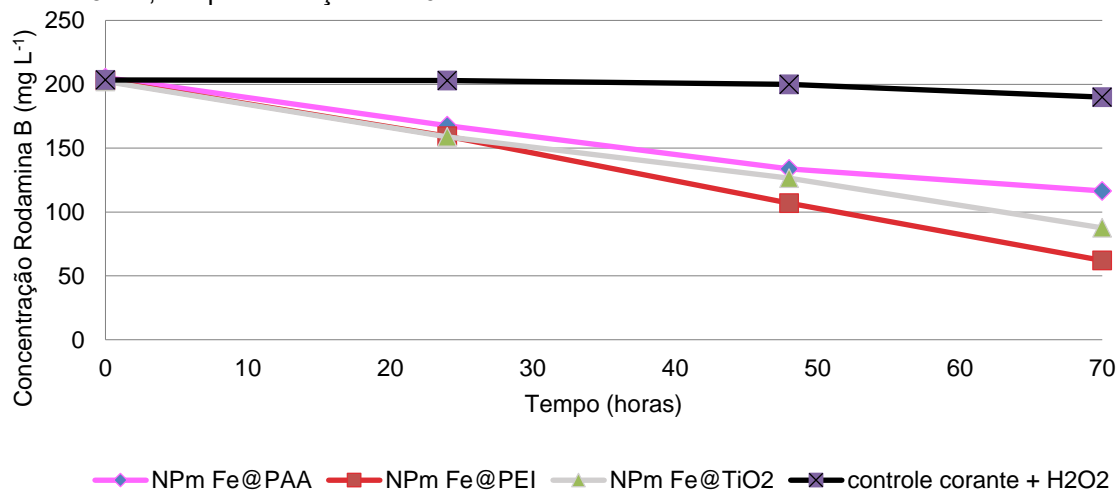
5.4 TRATAMENTO DO EFLUENTE COM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

5.4.1 Fenton com nanopartículas de magnetita

Os resultados de descoloração de Fenton em efluente simulado contendo 8% de AE, com 200 mg L⁻¹ de RhB com as 3 NPsm são apresentados na Figura 40.

Os melhores resultados foram obtidos para a NPsm com PEI, onde obteve-se uma descoloração do corante RhB de 69% após 70 h de processo Fenton, para a NPsm PAA obteve-se 42% de descoloração neste mesmo período e intermediariamente para as NPsm com TiO₂ foi obtida a descoloração de 56%. Para os controles, na presença de H₂O₂ sem as NPsm houve descoloração de 5%, enquanto a amostra contendo apenas o corante RhB, sem o uso de processo Fenton, sem NPsm a descoloração obtida foi de 4%.

Figura 40 NPsm para efluente simulado de 200 mg L⁻¹ 8% (v/v) água:AE de RhB com 0,07 mols L⁻¹ de NPm, 0,07 mols L⁻¹ de NPM (4,0 g L⁻¹) de concentração equivalente em Fe²⁺, 12 g L⁻¹ de H₂O₂ (0,35 mols L⁻¹), temperatura constante de 30 ± 2 °C, agitação a 100 rpm, volume total do reator 5 mL, tempo de reação de 70 h.



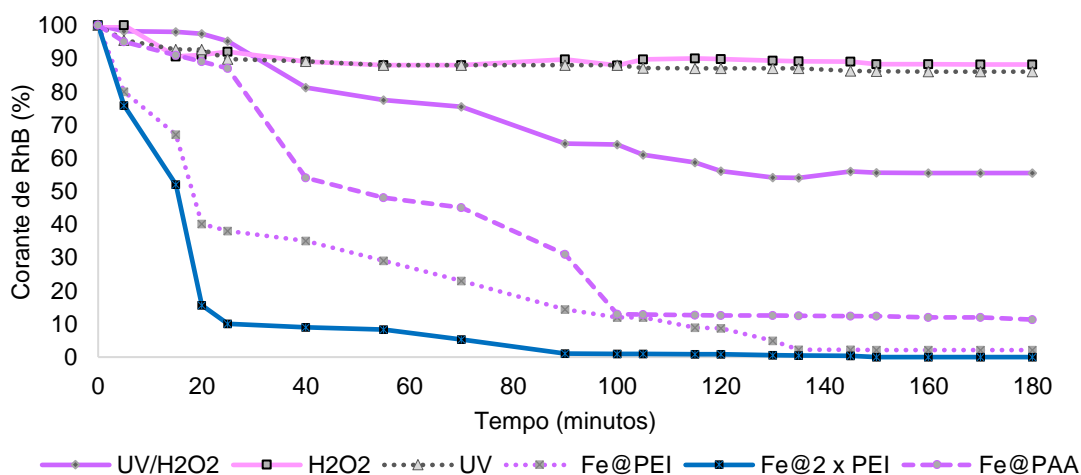
Fonte: Autora.

5.4.2 Foto Fenton com nanopartículas de magnetita

Com a NPsm PEI e PAA realizou-se a comparação para o efluente com os processos Fenton e foto Fenton.

Os resultados de descoloração de efluente simulado com RhB com as 2 NPsm são apresentados na Figura 41.

Figura 41 NPsm PEI e PAA em processo Fenton e foto Fenton, concentração de 200 mg L⁻¹ RhB 8% (v/v) água:AE, pH 3,0 HCl_(aq), 0,07% e 0,14% NPm@PEI, 12 g L⁻¹ de H₂O₂ (0,35 mols L⁻¹), a 30 ± 2 °C, agitação magnética a 150 rpm, volume de reação de 4 mL, POA foto Fenton, UV, realizados controles sem UV e NP e sem H₂O₂, sistema monitorado por 180 min.



Fonte: Autora.

Aos 25 min. de reação, o efluente tratado com Fe@PEI apresenta 60% de descoloração, enquanto o Fe@PAA degradou 10%.

Com o dobro da concentração de Fe@PEI apresentou o melhor resultado, degradando 90% em 25 min. e 99,99% da cor do RhB em 180 min.

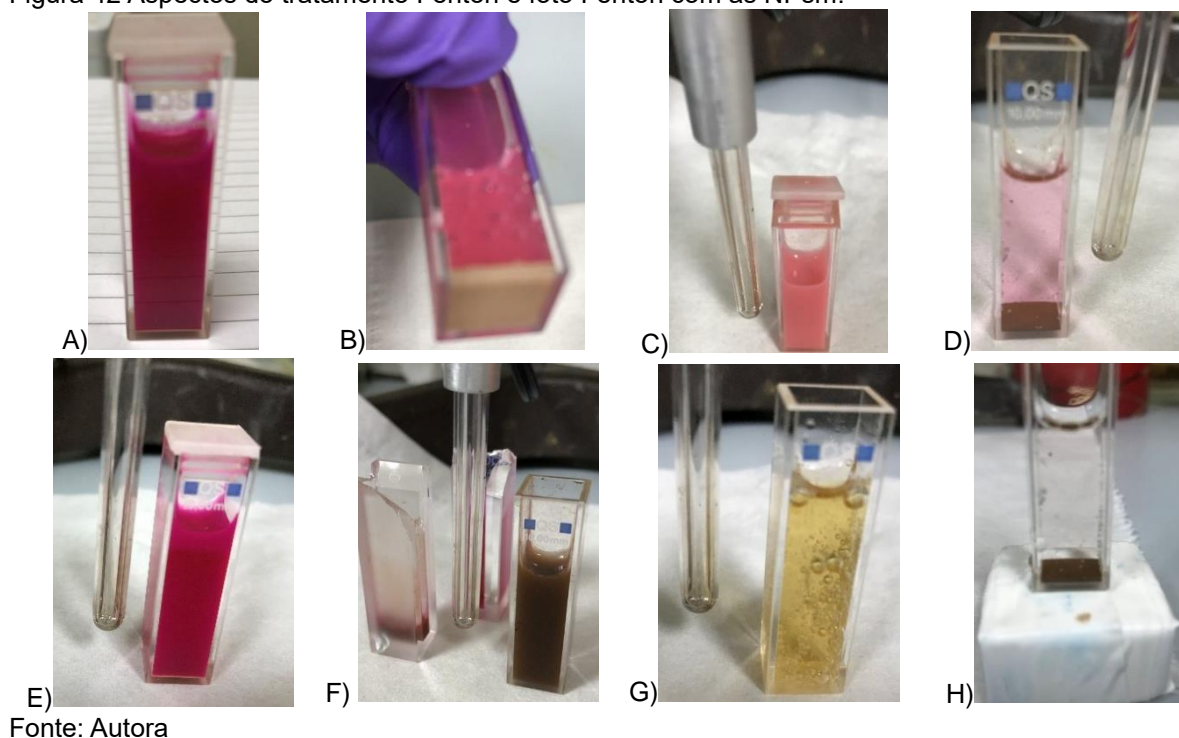
O controle com H₂O₂ atingiu 5,25% de descoloração, enquanto a solução sob fotólise degradou 6% após 180 min. nas condições do experimento.

Na Figura 42 apresentam-se alguns aspectos do tratamento com NPsm e sua separação magnética do sistema reacional com ímãs toroidais.

Nas imagens apresenta-se aspectos de:

- A) Amostra 1 de solução de RhB 200 mg L⁻¹ homogeneizada com nanopartículas de Titânio NPsFe_m@TiO₂;
- B) Amostra anterior sendo agitada para início da fotocatalise heterogênea;
- C) Aspecto da amostra 1 após fotocatalise por 30 min.;
- D) Amostra 1 após decantação magnética da NP;
- E) Amostra 2 de solução de RhB com 200 mg L⁻¹ para tratamento foto Fenton;
- F) Amostra 2 após aplicação de 30 min. de foto Fenton e os controles sem NPsm;
- G) Aspecto da amostra 2 após 60 min. de foto Fenton;
- H) Amostra 2 em ímã para decantação e separação magnética.

Figura 42 Aspectos do tratamento Fenton e foto Fenton com as NPsm.



Fonte: Autora

5.5 TOXICIDADE DO EFLUENTE BRUTO E TRATADO

Salienta-se que os métodos de tratamento constam das melhores condições encontradas para cada processo e já discutidas no item 5, Resultados e Discussão.

Os testes de toxicidade dos ES antes e após os tratamentos são apresentados no Quadro 1, onde buscou-se resumir os testes realizados no efluente (ES) bruto e após cada tratamento no seu melhor resultado, consistindo de descoloração máxima conseguida no experimento em seu tempo máximo de tratamento, salienta-se que o efluente não foi modificado após o tratamento, mantendo suas características após a finalização do processo avaliado.

Quadro 1: Processos de tratamento e resultado de fator de toxicidade (FT) para 30 min. de contato com o organismo teste e porcentagem de diminuição de toxicidade.

Processo/corante * 200 mg/L - ** 20 mg/L	30 min. Bruto	30 min. Tratado	%
Fotocatálise heterogênea			
RhB*	21	2	90,48
CV*	19	5	73,68
VB*	32	1	96,88
LB*	20	1	95,00
Ozonização/UV			
RhB*	28	2	92,86
CV*	22	3	86,36
VB*	28	1	96,43
LB*	23	2	91,30
TVL			
RhB**	27	3	88,89
VB**	41	3	92,68
TVI			
RhB**	16	3	81,25
TVI ABTS			
RhB**	16	5	68,75
VB**	11	1	90,91
NPM PAA			
RhB*	14	9	35,71
NPM PEI			
RhB*	11	2	81,82
NPM TiO₂			
RhB*	14	2	85,71

Fonte: Autora.

As concentrações iniciais do efluente dito bruto são de 200 mg L⁻¹ para os processos de fotocatalise heterogênea, ozonização/UV e nanopartículas, sendo de 20 mg L⁻¹ para as catálises enzimáticas. Alguns corantes não foram testados para todos os processos, assim onde não constam dados não foi realizado o teste de toxicidade. Salienta-se que as nanopartículas foram retiradas dos sistemas para a avaliação de toxicidade, portanto as mesmas não estão sendo testadas nesta tese.

Os processos obtiveram diversas relações entre o rebaixamento de toxicidade do ES após sua aplicação:

A fotocatalise heterogênea entre o efluente ES antes e após o tratamento para os corantes RhB, LB e VB, rebaixou a toxicidade pelo FT em respectivamente 90,48%, 95 e 96,88%, sendo que para o VB e LB o FT chegou a 1, o que significa que com este tratamento não haveria necessidade de diluir a amostra para lançamento ao corpo receptor. Os catalisadores foram retirados do sistema para realização dos testes de toxicidade.

Para a ozonização/UV o melhor resultado foi para o VB que atingiu o FT 1 e rebaixou em 96,43% a toxicidade.

Para a enzima TVL, os corantes RhB e VB obtiveram 88,89 e 92,68% de rebaixamento no FT após o tratamento, chegando ao FT 3.

A presença do mediador fez a toxicidade aumentar para os dois corantes RhB e VB.

Para as nanopartículas (retiradas do sistema), após o tratamento o melhor resultado de rebaixamento de toxicidade foi para a NPM TiO₂ para RhB, chegando a um FT de 2 e rebaixamento em 85,71% antes e após o tratamento.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesta tese permitiram estabelecer as seguintes conclusões:

- Os volumes de efluentes produzidos, estão na ordem de 0,2 m³ por kg de ágatas tingidas, são próximos a 6 m³ por semana, o que é totalmente adequado para processos oxidativos utilizados nesta tese. Os processos podem ser melhorados se associado, para melhorar os parâmetros de qualidade do efluente ou até mesmo para permitir a reutilização em seu próprio sistema.
- O uso do processo de catálise heterogênea é vantajoso porque utiliza energia e um catalisador sem a necessidade de outro reagente químico e o catalisador também pode ser recuperado após o término de cada ciclo do processo de tratamento e colocado novamente em uso. As soluções aquosas/álcool etílico de RhB, CV, VB e LB foram descoloridos por fotocatalise heterogênea no sistema UV/TiO₂ e UV/ZnO. As melhores condições encontradas foram 2,5 g L⁻¹ de catalisador em pH 10 e tempo de irradiação UV de 80 min. O processo resultou descoloração (99,99%) do CV e VB e 80% - 90% de descoloração da RhB e LB. O sistema proposto pode ser adaptado para pequenas empresas de processamento de ágata, a fim de ajudar na remoção de cor de águas residuais. A desvantagem deste processo é a necessidade de posterior separação do catalisador no sistema para reaproveitamento, o que infere a utilização de um processo complementar ao POA de fotocatalise propriamente dito.
- Os resultados obtidos para a ozonização/UV com ES dos corantes com concentração de 200 mg L⁻¹ em água/AE 8% (v/v) foram de melhor condições de descoloração para pH 10, temperatura de 30 °C e relação molar de corante para H₂O₂ de 1:9 mols. A avaliação demonstra que o sistema tem boa eficiência de descoloração do ES, podendo ser utilizada para o tratamento deste tipo de resíduo, em 100 min. de ozonização, a coloração dos corantes estudados no efluente não é mais detectada pelo método de espectrofotometria do visível;
- A utilização de enzimas livres do tipo TV não apresentou resultados satisfatórios para a descoloração dos corantes testados, isto provavelmente ocorre pela presença de concentrações de AE no ES, as enzimas quando imobilizadas em suportes magnéticos, apresentam melhores resultados, podendo ser retiradas

mais facilmente do meio reator e reutilizadas, que as torna forte candidatas para o tratamento deste tipo de efluentes como processo de polimento, já que não puderam ser utilizadas na concentração de 200 mg L^{-1} , tratando ES com 20 mg L^{-1} de corante RhB e VB, a utilização de agentes mediadores como ABTS não melhorou significativamente os resultados de descoloração para RhB, melhorando a descoloração do VB no ciclo 9.

- Para as nanopartículas magnéticas revestidas, os melhores resultados de descoloração do ES com RhB no processo Fenton, foi obtido para a NPmFe@PEI, conseguindo-se uma descoloração de 75% em 70 min., dobrando a concentração de nanopartículas, em 25 min. descoloriu 90% e a 180 min. 99,99% da RhB;
- A retirada das nanopartículas de Fesm@SiO₂ e NPmFe@PAA, NPmFe@PEI e NPmFe@TiO₂ foi facilitada pela condição magnética do reator de ímãs toroidais.
- O uso das nanopartículas é uma forma tecnológica interessante para a descoloração da cor de efluentes deste tipo, podendo ser aplicada apresentando descoloração significativa para os efluentes testados;
- Os resultados de toxicidade para os tratamentos apresentaram melhor resultado para a fotocatalise heterogênea, seguida da ozonização/UV.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugerem-se os seguintes estudos futuros:

1. Determinar os produtos de degradação para os corantes RhB, CV, VB e LB após a descoloração dos mesmos e o comportamento das espécies de Nitrogênio presentes nos efluentes;
2. Estudar a aplicação do efluente tratado com reuso nos processos de tingimento utilizados nas indústrias de processamento de água e sua influência na qualidade dos mesmos;
3. Aplicação de outras enzimas e microorganismos imobilizados em nanopartículas para redução da carga orgânica do efluente tratado;
4. Projetar, construir e efetuar estudos para um reator em escala piloto nas condições definidas neste trabalho.

8 REFERÊNCIAS

ABNT. Preservação e técnicas de amostragem de Efluente líquidos e corpos receptores - Procedimento. 12 jan. 2014 1987. Disponível em: < <https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=5400> >. Acesso em: 12 jan. 2014.

ADAMEK, E.; BARAN, W.; ZIEMIAŃSKA, J.; SOBCZAK, A. The comparison of photocatalytic degradation and decolorization processes of dyeing effluents. **International Journal of Photoenergy**, v. 2013, 2013. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/ijp/2013/578191/abs/> >. Acesso em: 17 jan. 2016.

AHMED, L. M.; TAWFEEQ, F. T.; AL-AMEER, M. H. A.; AL-HUSSEIN, K. A.; ATHAAB, A. R. Photo-Degradation of Reactive Yellow 14 Dye (A Textile Dye) Employing ZnO as Photocatalyst. **Journal of Geoscience and Environment Protection**, v. Vol.04, n. No.11, p. 11, 2016. Disponível em: < <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=71773> >. Acesso em: 18 fev. 2018.

ALVARENGA, P. *et al.* Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. **Environment International**, v. 33, n. 4, p. 505-513, 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412006001851> >. Acesso em: 24 nov. 2018.

ALVES, K. C. G. **Tratamento de efluentes têxteis usando reator de leito fluidizado trifásico aeróbio com pré ou pós-ozonização**. 2000. 103 p. Dissertação de mestrado (Mestrado). Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil. Disponível em: < <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/79003/161460.pdf?sequence=1&isAllowed=y> >. Acesso em: 03 jan. 2018.

AMIRI, H.; AYATI, B.; GANJIDOUST, H. Textile Dye Removal Using Photocatalytic Cascade Disk Reactor Coated by ZnO Nanoparticles. **Journal of Materials Science and Chemical Engineering**, v. 4, n. 12, p. 10, 2016. Disponível em: < <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=72412> >. Acesso em: 24 jan. 2018.

ANTOŠOVÁ, Z.; SYCHROVÁ, H. Yeast hosts for the production of recombinant laccases: a review. **Molecular biotechnology**, v. 58, n. 2, p. 93-116, 2016.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION**. 23. Washington DC, USA: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Pharmabooks, 2017. 1504 p.

APL. Arranjo Produtivo Local de Pedras, Gemas e Joias (Cidade Polo Soledade). Coleta de efluentes líquidos é efetuada em empresas de Soledade. Soledade, RS, 2015. Disponível em: < <http://www.clicsoledade.com.br/clicnews/?pg=ler&id=>

11923&fbclid=IwAR2yYlw_TCrpgCkYD9ghxM0Pdmic3zGdWsFdbG9M4r5f0qumhvs7ZisSip0 >. Acesso em: 12 jan. 2016.

APPSOL. Dados da Associação dos pequenos pedristas de Soledade, RS. 2018. Disponível em: < <http://www.clicsoledade.com.br/fotos/?pg=ver&id=2536> >. Acesso em: 12 jan. 2019.

AQUINO, S. F. d.; SILVA, S. d. Q.; CHERNICHARO, C. A. d. L. Considerações práticas sobre o teste de demanda química de oxigênio (DQO) aplicado a análise de efluentes anaeróbios. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 295, 2006. Disponível em: < <http://repositorio.ufop.br/handle/123456789/6455> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

ARROYO, M. Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones. **Ars Pharmaceutica**, v. 39, n. 2, p. 23-39, 1998. Acesso em: 22 jun. 2018.

ASGHER, M.; NOREEN, S.; BILAL, M. Enhancement of catalytic, reusability, and long-term stability features of *Trametes versicolor* IBL-04 laccase immobilized on different polymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 54-62, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016310406> >. Acesso em: 12 jan. 2018.

ASTM D5660-96(2009), Standard Test Method for Assessing the Microbial Detoxification of Chemically Contaminated Water and Soil Using a Toxicity Test with a Luminescent Marine Bacterium, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2009, Disponível em: 10.1520/D5660-96R09. Acesso em mar. 2019.

BABUPONNUSAMI, A.; MUTHUKUMAR, K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 557-572, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213343713002030> >. Acesso em: 02 jan. 2019.

BADER, H.; HOIGNÉ, J. The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions. **Water Research**, v. 10, n. 8, p. 377-386, 1976. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135481900543> >. Acesso em: 12 jan. 2014.

BADER, H.; HOIGNÉ, J. Determination of ozone in water by the indigo method. **Water Research**, v. 15, n. 4, p. 449-456, 1981. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135481900543> >. Acesso em: 12 jan. 2014.

BÁEZ, M. C. D.; RONCO, A.; GRANADOS, Y. P. **Ensayo de toxicidad aguda con *Allium cepa* L mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla**. MORALES, G. C.: CIID, Ottawa, ON, CA, p.47-52, In: Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. 2004. Disponível em: < <https://idl-bnc-idrc.dspacedirect.org/bitstream/handle/10625/26391/IDL-26391.pdf> >. Acesso em: 22 mar. 2016.

BANAT, I. M.; NIGAM, P.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Microbial decolorization of textile-dyecontaining effluents: A review. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 3, p. 217-227, 1996. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852496001137> >. Acesso em: 01 nov. 2016.

BARBOSA, A. M.; DEKKER, R. F. H.; HARDY, G. E. S. Veratryl alcohol as an inducer of laccase by an ascomycete, *Botryosphaeria* sp., when screened on the polymeric dye Poly R-478. **Letters in Applied Microbiology**, v. 23, n. 2, p. 93-96, 1996. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1472-765X.1996.tb00038.x> >. Acesso em: 22 jan. 2017.

BARBOSA, O. *et al.* Heterofunctional Supports in Enzyme Immobilization: From Traditional Immobilization Protocols to Opportunities in Tuning Enzyme Properties. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 8, p. 2433-2462, 2013. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/bm400762h> >. Acesso em: 12 mar. 2017.

BARP, D. R. A. **Design e materiais: contribuição ao estudo do processo de corte de ágata por jato d'água em formas complexas**. 2009. 95 p. Dissertação de Mestrado (Mestre). Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. Disponível em: < <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/18983> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

BARROS, A.; SACCHETO, D.; PIZZOLATO, T.; SCHNEIDER, I. **ESTUDO DOS COMPOSTOS RESULTANTES DA OXIDAÇÃO QUÍMICA (NaOCl) DO CORANTE RODAMINA B**. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre: ABES. I-028: 9 p. 2000.

BATISTI, V. d. S.; TATSCH, A. L. O Arranjo Produtivo Local (APL) gaúcho de gemas e joias: estruturas produtiva e comercial, arranjos institucional e educacional e relações interorganizacionais. **Ensaio FEE**, v. 33, n. 2, p. 513-538, 2012. Disponível em: < <https://revistas.fee.tche.br/index.php/ensaios/article/view/2473/3109> >. Acesso em: 12 jan. 2016.

BAUTISTA, P.; MOHEDANO, A.; CASAS, J.; ZAZO, J.; RODRIGUEZ, J. An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewaters treatment. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology**, v. 83, n. 10, p. 1323-1338, 2008.

BILAL, M. *et al.* Immobilized ligninolytic enzymes: An innovative and environmental responsive technology to tackle dye-based industrial pollutants – A review. **Science of The Total Environment**, v. 576, p. 646-659, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716323269> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

BILIŃSKA, L.; GMUREK, M.; LEDAKOWICZ, S. Textile wastewater treatment by AOPs for brine reuse. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 109, p. 420-428, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957582017301362> >. Acesso em: 24 nov. 2018.

BISSCHOPS, I.; SPANJERS, H. Literature review on textile wastewater characterisation. **Environmental Technology**, v. 24, n. 11, p. 1399-1411, 2003. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/09593330309385684> >. Acesso em: 01 nov. 2014.

BOLLAG, J.-M.; LEONOWICZ, A. Comparative studies of extracellular fungal laccases. **Applied and environmental microbiology**, v. 48, n. 4, p. 849-854, 1984. Disponível em: < <https://aem.asm.org/content/aem/48/4/849.full.pdf> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

BOURBONNAIS, R.; PAICE, M. G. Oxidation of non-phenolic substrates. **FEBS Letters**, v. 267, n. 1, p. 99-102, 1990. Disponível em: < <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1016/0014-5793%2890%2980298-W> >. Acesso em: 19 jun. 2018.

BRUM, I. A. S. **SISTEMAS DE TINGIMENTO DE GEMAS REVISÃO DO ESTADO DA ARTE**. XXIV ENTMME. Salvador, BA: 843-847 p. 2011.

BRUM, T.; JUCHEM, P.; AGOSTINI, I.; FIORENTINI, J. Classificação da ágata. In: (Ed.). **Ágata do Rio Grande do Sul. Brasília, DF. Departamento Nacional de Produção Mineral-DNPM. Série Difusão Tecnológica**. Brasília, DF, Brasil: DNPM, v.5, 1998. p.37-63.

BUENO, R. d. F. Comparação entre o método colorimétrico e titulométrico na determinação da DQO através de análises efetuadas em esgoto doméstico e efluentes industriais. **Revista DAE**, v. 181, n. 15, p. 4-11, 2009.

CABANA, H.; JONES, J. P.; AGATHOS, S. N. Elimination of Endocrine Disrupting Chemicals using White Rot Fungi and their Lignin Modifying Enzymes: A Review. **Engineering in Life Sciences**, v. 7, n. 5, p. 429-456, 2007. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elsc.200700017> >. Acesso em: 01 nov. 2017.

CABRAL, J.; AIRES-BARROS, M.; GAMA, M. **Engenharia Enzimática**. Lisboa, Portugal: 2003. 227-244 p. Acesso em: 22 jan. 2016.

CAIADO, K. L. **Nanoesferas magnéticas: estudo do sistema maghemita/sílica**. 2014. 219 p. Tese (Doutorado). Departamento de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

CAMPOS, M. L. A. M.; MELLO, L. C.; ZANETTE, D. R.; SIERRA, M. M. d. S.; BENDO, A. Construção e otimização de um reator de baixo custo para a fotodegradação da matéria orgânica em águas naturais e sua aplicação no estudo da especiação do cobre por voltametria. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 257-261, 2001. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422001000200018&nrm=iso >. Acesso em: 24 mar. 2018.

CAÑAS, A. I.; CAMARERO, S. Laccases and their natural mediators: Biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 6, p. 694-705, 2010. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975010000534> >. Acesso em: 12 mar. 2017.

CANEPA, E. M.; PEREIRA, J. S.; LANNA, A. E. A política de recursos hídricos e o princípio usuário-pagador (pup). **Revista Brasileira de Recursos Hídricos da Associação Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 4, n. 1, p. 103-117, 1999. Disponível em: < https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/57430/mod_resource/content/1/Aula%2013.%20CANEPA%20et%20al.pdf >. Acesso em: 12 jan. 2015.

CAPILLE, M. R. d. L. **Avaliação da biodegradação da solução residual da coloração de Gram por basidiomicetos**. 2017. 70 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Processos Ambientais). Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, PR. Disponível em: < <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/8818> >. Acesso em: 12 jan. 2019.

CARISSIMI, E. *et al.* **Treatment of dye bearing effluents from Brazilian agate industry**. Developments in mineral processing. Waste Treatment and Recycling (Effluents Treatment): Elsevier. 13: C12b-9-C12b-13 p. 2000.

CARVALHO, E. A. S. **Formulação E Caracterização De Biocatalisadores Com Núcleo Magnético A partir De Polímeros Naturais** 2012. 141 p. Tese de doutorado (Doutorado). Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Disponível em: < <http://uenf.br/posgraduacao/engenharia-de-materiais/wp-content/uploads/sites/2/2013/07/Tese-final-oficial.pdf> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

CARVALHO, M. D.; HENRIQUES, F.; FERREIRA, L. P.; GODINHO, M.; CRUZ, M. M. Iron oxide nanoparticles: the Influence of synthesis method and size on composition and magnetic properties. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 201, p. 144-152, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022459613000996> >. Acesso em: 01 mar. 2017.

CAS. **Chemical Abstracts Service (CAS) - Sociedade Americana de Química (American Chemical Society) - Chemical Abstracts**. 2019. Disponível em: <www.cas.org>. Acesso em: 16 mar. 2018.

CETESB. L5.227:2001 Teste de Toxicidade com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*: método de ensaio. 2001. Disponível em: < <https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=5400> >. Acesso em: 12 jan. 2014.

CHACKO, J. T.; SUBRAMANIAM, K. Enzymatic degradation of azo dyes-a review. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 1, n. 6, p. 1250, 2011. Disponível em: < <http://www.ipublishing.co.in/jesvol1no12010/EIJES2075.pdf> >. Acesso em: 12 jan. 2016.

CHAN, C.-K.; CHU, I. M. Effect of hydrogen bonding on the glass transition behavior of poly(acrylic acid)/silica hybrid materials prepared by sol-gel process. **Polymer**, v. 42, n. 14, p. 6089-6093, 2001. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003238610100091X> >. Acesso em: 12 jan. 2017.

CHEN, J. *et al.* Enhanced Performance of Magnetic Graphene Oxide-Immobilized Laccase and Its Application for the Decolorization of Dyes. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 221, 2017. Disponível em: < <http://www.mdpi.com/1420-3049/22/2/221> >. Acesso em: 22 jan. 2019.

CHONG, M. N.; JIN, B.; CHOW, C. W. K.; SAINT, C. Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review. **Water Research**, v. 44, n. 10, p. 2997-3027, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135410001739> >. Acesso em: 01 nov. 2017.

CIDADE, M. K.; LIMA, N. F. F.; PALOMBINI, F. L.; DUARTE, L. d. C. Método para determinação de parâmetros de gravação e corte a laser CO₂ com aplicação na joalheria contemporânea. **Design e Tecnologia**, v. 6, n. 12, p. 54-64, 2016. Disponível em: < <https://www.ufrgs.br/det/index.php/det/article/view/384> >. Acesso em: 30 jan. 2017.

CLARKE, E. A.; ANLIKER, R. Organic Dyes and Pigments. In: SPRINGER (Ed.). **Anthropogenic Compounds. The Handbook of Environmental Chemistry**. Berlin, Heidelberg, v.3, 1980.

CONAMA. BRASIL. Resolução 430, Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Brasília, DF, Brasil, p. 9, 2011. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646> >. Acesso em: 23 mar. 2019.

COSTA, M. **Beneficiamento de pedras preciosas no Vale do Taquari: diagnóstico e modelo para análise e redução de perdas nos processos produtivos**. 2007. 130 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado). Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. Disponível em: < <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/13438> >. Acesso em: 24 jan. 2019.

COSTA, R. M. d. **O Arranjo Produtivo Local de Pedras, Gemas e Joias do Corede Alto da Serra do Botucaraí**. COSTA, R. M. d. e MACADAR, B. M. d. O. Org. Porto Alegre, RS, Brasil: FEE Fundação de Economia e Estatística, p.617, In: **AGLOMERAÇÕES E ARRANJOS PRODUTIVOS LOCAIS NO RIO GRANDE DO SUL**. 2016. Disponível em: < <https://www.fee.rs.gov.br/> >. Acesso em: 24 jan. 2018.

COVIZZI, L. G. **Seleção de um suporte sintético para imobilizar células do Botryosphaeria rhodina e comparação da produção de lacase por células livres e imobilizadas**. 2007. 90 p. Dissertação de mestrado (Mestrado). DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, SP. Disponível em: < https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/88405/covizzi_lg_me_sjrp.pdf?sequence=1&isAllowed=y >. Acesso em: 22 mar. 2018.

DA SILVA, L. R. C.; DA SILVA, T. L.; DE ARAÚJO, F. P.; DA SILVA FILHO, E. C.; OSAJIMA, J. A. Uso de fotólise direta e H₂O₂/UV em solução aquosa contendo o

corante violeta cristal. **Holos Environment**, v. 17, n. 1, p. 138-148, 2017. Disponível em: < <https://www.cea-unesp.org.br/holos/article/view/12211> >. Acesso em: 12 jan. 2019.

DAMBROS, V. d. S. **Processo de tingimento de ágatas: medidas de produção mais limpa e estudo de detoxificação de efluente**. . 1998. p. Dissertação de Mestrado (Mestrado). Gestão e Tecnologia Ambiental, UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL, Santa Cruz do Sul, RS.

DURÁN, N.; ROSA, M. A.; D'ANNIBALE, A.; GIANFREDA, L. Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 7, p. 907-931, 2002. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022902002144> >. Acesso em: 02 jan. 2017.

DWIVEDI, U. N.; SINGH, P.; PANDEY, V. P.; KUMAR, A. Structure–function relationship among bacterial, fungal and plant laccases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 68, n. 2, p. 117-128, 2011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117710002857> >. Acesso em: 01 dez. 2018.

EIBES, G.; ARCA-RAMOS, A.; FEIJOO, G.; LEMA, J. M.; MOREIRA, M. T. Enzymatic technologies for remediation of hydrophobic organic pollutants in soil. **Applied Microbiology And Biotechnology**, v. 99, n. 21, p. 8815-8829, 2015. Disponível em: < <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=26293336&lang=pt-br&site=ehost-live&authtype=ip,cookie,uid> >. Acesso em: 22 jun. 2017.

ERICKSSON, C.; BRUM, I. A. S. d. **Otimização de sistemas de tingimento de gemas- Estudos desenvolvidos por empresas do APL Pedras, Gemas e Joias/UFRGS**. DONATO, M. e DUARTE, L. d. C. Org. Porto Alegre, RS, Brasil: IGEO/UFRGS, p.70-79, In: Gemas, Joias e Mineração: Pesquisas Aplicadas no Rio Grande do Sul. 2016. Disponível em: < <http://pt.calameo.com/read/004756740c09edd8e7f37> >. Acesso em: 03 jan. 2018.

ERICKSSON, C.; BRUM, I. A. S. d. Estudo de Caso, Padronização e Otimização da Coloração Artificial em Preto para Ágatas do Rio Grande do Sul. **2017**, v. 6, p. 20, 2017. Disponível em: < <http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/6389> >. Acesso em: 12 mar. 2018.

ERICKSSON, C.; BRUM, I. A. S. d. **Alterações in plant para o tratamento de efluentes líquidos industriais proenientes do tingimento de ágata e cristais**. DONATO, M.;DUARTE, L. d. C. e (ORG.), F. V. Org. Porto Alegre, RS, Brasil: IGEO/UFRGS, p.96-113, In: Avanços Técnico - Científicos no Setor de Gemas, Joias e Mineração. 2018. Disponível em: < <http://ctpedras.upf.br/index.php/publicacoes> >. Acesso em: 03 jan. 2019.

ERICKSSON, C.; BRUM, I. A. S. d.; SILVA, J. T. d. Estudo de Processos e métodos para tingimento de gemas no APL de Pedras, Gemas e Joias. In: HARTMANN, L. A. e (ORG.), J. T. d. S. (Ed.). **Mostra de pesquisas, produtos e tecnologias aplicadas**

ao arranjo produtivo de gemas e joias do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil: UFRGS/IGEO, 2013. p.66-69.

FAN, B.; ZHAO, Y.; MO, G.; MA, W.; WU, J. Co-remediation of DDT-contaminated soil using white rot fungi and laccase extract from white rot fungi. **Journal of Soils and Sediments**, v. 13, n. 7, p. 1232-1245, 2013. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11368-013-0705-3> >. Acesso em: 12 jun. 2017.

FENG, F.; XU, Z.; LI, X.; YOU, W.; ZHEN, Y. Advanced treatment of dyeing wastewater towards reuse by the combined Fenton oxidation and membrane bioreactor process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, n. 11, p. 1657-1665, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S100107420960303X> >. Acesso em: 01 nov. 2017.

FENTON, H. J. H. LXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 65, n. 0, p. 899-910, 12 nov. 2016 1894.

FERNANDES, A. R. A. **Estudo da imobilização da lacase em nanopartículas magnéticas e sua aplicação.** 2015. 89 p. Dissertação de mestrado (Master). Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal. Disponível em: < <https://ria.ua.pt/bitstream/10773/14891/1/Tese.pdf> >. Acesso em: 12 jan. 2017.

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; SANROMÁN, M. Á.; MOLDES, D. Recent developments and applications of immobilized laccase. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 8, p. 1808-1825, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073497501200064X> >. Acesso em: 12 jan. 2018.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x> >. Acesso em: 24 jan. 2018.

FISKESJÖ, G. The Allium test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 197, n. 2, p. 243-260, 1988.

FORGACS, E.; CSERHÁTI, T.; OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. **Environment International**, v. 30, n. 7, p. 953-971, 2004. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412004000340> >. Acesso em: 18 jan. 2019.

FREEMAN, A.; LILLY, M. D. Effect of processing parameters on the feasibility and operational stability of immobilized viable microbial cells. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 23, n. 5, p. 335-345, 1998.

GALLIKER, P.; HOMMES, G.; SCHLOSSER, D.; CORVINI, P. F. X.; SHAHGALDIAN, P. Laccase-modified silica nanoparticles efficiently catalyze the transformation of phenolic compounds. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 349, n. 1, p. 98-105, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979710005588> >. Acesso em: 01 mar. 2017.

GIANFREDA, L.; XU, F.; BOLLAG, J.-M. Laccases: A Useful Group of Oxidoreductive Enzymes. **Bioremediation Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-26, 1999. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/10889869991219163> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

GIESE, E. C. **Síntese de Nanopartículas de Óxido de Ferro**. CETEM – CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL, 2018. 33 p.

GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. **Advances in Environmental Research**, v. 8, n. 3, p. 501-551, 2004. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1093019103000327> >. Acesso em: 02 jan. 2019.

GOMATHI DEVI, L.; NARASIMHA MURTHY, B.; GIRISH KUMAR, S. Heterogeneous photo catalytic degradation of anionic and cationic dyes over TiO₂ and TiO₂ doped with Mo⁶⁺ ions under solar light: Correlation of dye structure and its adsorptive tendency on the degradation rate. **Chemosphere**, v. 76, n. 8, p. 1163-1166, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653509004433> >. Acesso em: 01 mar. 2018.

GOSAVI, V. D.; SHARMA, S. A general review on various treatment methods for textile wastewater. **J Environ Sci Comput Sci Eng Technol**, v. 3, n. 1, p. 29-39, 2014. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/Vikas_Gosavi/publication/259695038_A_General_Review_on>. Acesso em: 27 mar. 2018.

GUIMARÃES, L. R. C. *et al.* **9 - Laccases**. Elsevier, 2017. 199-216 p. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444636621000099> >. Acesso em: 12 nov. 2017.

GUPTA, A. K.; GUPTA, M. **Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications**. *Biomaterials*. 26: 3995-4021 p. 2005.

HALL, M.; BOMMARIUS, A. S. Enantioenriched Compounds via Enzyme-Catalyzed Redox Reactions. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 7, p. 4088-4110, 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/cr200013n> >. Acesso em: 13 jan. 2017.

HANEFELD, U.; GARDOSI, L.; MAGNER, E. Understanding enzyme immobilisation review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 2, p. 453-468, 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/B711564B> >. Acesso em: 12 jun. 2016.

HARTMANN, L. A. Minerais estratégicos do sul do Brasil: geologia de geodos de ametista e ágata. In: HARTMANN, L. A. e SILVA, J. T. d. (Ed.). **Tecnologias para o setor de Gemas, Joias e Mineração**. 1ed. . Porto Alegre: IGEO/UFRGS, v.1, 2010. p.30-39.

HARTMANN, L. A. A HISTÓRIA NATURAL DO GRUPO SERRA GERAL DESDE O CRETÁCEO ATÉ O RECENTE. **2014**, p. 10, 2014. Disponível em: < <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/view/13236> >. Acesso em: 22 nov. 2018.

HEANEY, P. J.; DAVIS, A. M. Observation and origin of self-organized textures in agates. **Science**, v. 269, n. 5230, p. 1562-1565, 1995. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/Peter_Heaney/publication >. Acesso em: 21 jan. 2016.

HERMOSILLA, D.; MERAYO, N.; GASCÓ, A.; BLANCO, Á. The application of advanced oxidation technologies to the treatment of effluents from the pulp and paper industry: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 168-191, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3516-1> >. Acesso em: 11 jan. 2017.

HERRMANN, J.-M. Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. **Catalysis Today**, v. 53, n. 1, p. 115-129, 1999. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920586199001078> >. Acesso em: 22 nov. 2018.

HOLKAR, C. R.; JADHAV, A. J.; PINJARI, D. V.; MAHAMUNI, N. M.; PANDIT, A. B. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. **Journal of Environmental Management**, v. 182, p. 351-366, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479716305266> >. Acesso em: 22 nov. 2018.

HOU, M.-F. *et al.* Degradation of rhodamine B by Fe (0)-based Fenton process with H₂O₂. **Chemosphere**, v. 83, n. 9, p. 1279-1283, 2011. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653511002724> >. Acesso em: 22 nov. 2018.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, v. 13, n. 5, p. 361-377, 1993. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0956053X9390070D> >. Acesso em: 22 nov. 2018.

IBGM. Brazilian Institute of Gems and Precious Minerals. Brasília, DF, Brazil, 2018. Disponível em: < www.ibgm.com.br >. Acesso em: 24 maio 2018.

IBGM. Instituto Brasileiro de Gemas e Minerais Preciosos (Brazilian Institute of Gems and Precious Minerals). Brasília, DF, Brazil, 2019. Disponível em: < www.ibgm.com.br >. Acesso em: 24 jan. 2019.

IKEHATA, K.; BUCHANAN, I. D.; SMITH, D. W. Recent developments in the production of extracellular fungal peroxidases and laccases for waste treatment. **Journal of Environmental Engineering & Science**, v. 3, n. 1, p. 1-19, 2004. Disponível em: < <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=12556765&lang=pt-br&site=ehost-live&authtype=ip,cookie,uid> >. Acesso em: 18 jan. 2016.

JAIN, B.; SINGH, A. K.; KIM, H.; LICHTFOUSE, E.; SHARMA, V. K. Treatment of organic pollutants by homogeneous and heterogeneous Fenton reaction processes. **Environmental Chemistry Letters**, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0738-3> >. Acesso em: 12 jan. 2019.

JOHNSON, B. J.; RUSS ALGAR, W.; MALANOSKI, A. P.; ANCONA, M. G.; MEDINTZ, I. L. Understanding enzymatic acceleration at nanoparticle interfaces: Approaches and challenges. **Nano Today**, v. 9, n. 1, p. 102-131, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1748013214000218> >. Acesso em: 01 jan. 2017.

JUCHEM, P. L. *et al.* **50 anos de geologia no Instituto de Geociências**. IANNUZZI, R. e FRANTZ, J. C. Org. Porto Alegre, RS, Brasil: Petrobrás, p.399, In: Contribuições. 2007. Disponível em: < multimedia.ufrgs.br/conteudo/bibgeo/igeo_dados/50anos/institutogeociencias.pdf >. Acesso em: 12 nov. 2018.

JUNTER, G.-A.; JOUENNE, T. Immobilized viable microbial cells: from the process to the proteome... or the cart before the horse. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 8, p. 633-658, 2004. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975004000527> >. Acesso em: 01 nov. 2018.

KALKAN, N. A.; AKSOY, S.; AKSOY, E. A.; HASIRCI, N. Preparation of chitosan-coated magnetite nanoparticles and application for immobilization of laccase. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 123, n. 2, p. 707-716, 2012. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/app.34504> >. Acesso em: 21 jul. 2017.

KAMESHWAR, A. K. S.; BARBER, R.; QIN, W. Comparative modeling and molecular docking analysis of white, brown and soft rot fungal laccases using lignin model compounds for understanding the structural and functional properties of laccases. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 79, p. 15-26, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S109332631730551X> >. Acesso em: 24 jan. 2019.

KANG, Y. W.; HWANG, K.-Y. Effects of reaction conditions on the oxidation efficiency in the Fenton process. **Water research**, v. 34, n. 10, p. 2786-2790, 2000. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135499003887> >. Acesso em: 12 nov. 2018.

KANU, I.; ACHI, O. Industrial effluents and their impact on water quality of receiving rivers in Nigeria. **Journal of applied technology in environmental sanitation**, v. 1, n. 1, p. 75-86, 2011. Acesso em: 18 jan. 2019.

KARCI, A.; ARSLAN-ALATON, I.; OLMEZ-HANCI, T.; BEKBOLET, M. Degradation and detoxification of industrially important phenol derivatives in water by direct UV-C photolysis and H₂O₂/UV-C process: A comparative study. **Chemical Engineering Journal**, v. 224, p. 4-9, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894712015021> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

KHAMMUANG, S.; SARNTHIMA, R. Mediator-assisted rhodamine B decolorization by *Trametes versicolor* laccase. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 8, p. 616-623, 2009. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/Rakrudee_Sarnthima/ >. Acesso em: 12 jun. 2017.

KHAMPARIA, S.; JASPAL, D. K. Adsorption in combination with ozonation for the treatment of textile waste water: a critical review. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 11, n. 1, p. 8, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11783-017-0899-5> >. Acesso em: 12 nov. 2018.

KHARISOV, B. I. *et al.* Iron-containing nanomaterials: synthesis, properties, and environmental applications. **RSC Advances**, v. 2, n. 25, p. 9325-9358, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C2RA20812A> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

KHARISSOVA, O. V.; KHARISOV, B. I.; JIMÉNEZ-PÉREZ, V. M.; MUÑOZ FLORES, B.; ORTIZ MÉNDEZ, U. Ultrasmall particles and nanocomposites: state of the art. **RSC Advances**, v. 3, n. 45, p. 22648-22682, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/C3RA43418D> >. Acesso em: 12 jan. 2019.

KIM, S. *et al.* PubChem Substance and Compound databases. **Nucleic acids research**, v. 44, n. D1, p. D1202-D1213, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26400175> >. Acesso em: 12 jan. 2014.

KNECHT, T. Coloração artificial de ágatas. **Revista da Associação Brasileira de Gemologia**, v. 7, p. 1-9, 12 nov. 2016 1957.

KONSTANTINOU, I. K.; ALBANIS, T. A. TiO₂-assisted photocatalytic degradation of azo dyes in aqueous solution: kinetic and mechanistic investigations: A review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 49, n. 1, p. 1-14, 2004. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337303005411> >. Acesso em: 20 jan. 2016.

KRÜGER, R. A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. 2009. 58 p. Dissertação de mestrado (58). Centro Universitário Feevale Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brazil. Disponível em: < <https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf> >. Acesso em: 12 nov. 2016.

KULLA, H. G.; KLAUSENER, F.; MEYER, U.; LÜDEKE, B.; LEISINGER, T. Interference of aromatic sulfo groups in the microbial degradation of the azo dyes Orange I and Orange II. **Archives of Microbiology**, v. 135, n. 1, p. 1-7, 1983. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/BF00419473> >. Acesso em: 22 mar. 2015.

LEE, K. M.; LAI, C. W.; NGAI, K. S.; JUAN, J. C. Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review. **Water Research**, v. 88, p. 428-448, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135415302578> >. Acesso em: 12 nov. 2016.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M. Photochemical processes for water treatment. **Chemical Reviews**, v. 93, n. 2, p. 671-698, 1993. Disponível em: < <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr00018a003> >. Acesso em: 01 mar. 2014.

LI, H.-X.; ZHANG, R.-J.; TANG, L.; ZHANG, J.-H.; MAO, Z.-G. In vivo and in vitro decolorization of synthetic dyes by laccase from solid state fermentation with *Trametes* sp. SYBC-L4. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 37, n. 12, p. 2597-2605,

2014. Disponível em: < <https://link-springer-com.ez45.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1007%2Fs00449-014-1237-y.pdf> >. Acesso em: 19 mar. 2017.

LIN, S. H.; LIU, W. Y. Treatment of textile wastewater by ozonation in a packed-bed reactor. **Environmental technology**, v. 15, n. 4, p. 299-311, 1994. Disponível em: < <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593339409385433> >. Acesso em: 14 mar. 2018.

LISBÔA, M. d. G. P. **Design de jóias—do projeto ao produto: Coleção Gauchidade**. Santa Maria, RS: Ed. UNIFRA, 2011.

LISBÔA, M. d. G. P.; BARROS, M. O. Design E Comunicação: Cultura Indígena Como Temática Do Projeto De Joias. II Encontro Missionário de Estudos Interdisciplinares em Cultura, 2016, São Luiz Gonzaga, RS. EMIcult. p. Disponível em: < <http://omicult.org/emicult/?p=759> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

LIU, J. *et al.* Simultaneous Laccase Production and Color Removal by Culturing Fungus *Pycnoporus* sp. SYBC-L3 in a Textile Wastewater Effluent Supplemented with a Lignocellulosic Waste *Phragmites australis*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 89, n. 2, p. 269-273, 2012. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0678-8> >. Acesso em: 01 jan. 2015.

LIU, P.; ZHANG, H.; FENG, Y.; YANG, F.; ZHANG, J. Removal of trace antibiotics from wastewater: A systematic study of nanofiltration combined with ozone-based advanced oxidation processes. **Chemical Engineering Journal**, v. 240, p. 211-220, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894713015349> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

LIU, W. *et al.* Preparation of Magnetic Fe₃O₄@SiO₂ Nanoparticles for Immobilization of Lipase. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 4, p. 3068-3072, 2014. Disponível em: < <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8567> >. Acesso em: 12 jan. 2018.

LIU, X. *et al.* Highly Efficient Catalysis of Azo Dyes Using Recyclable Silver Nanoparticles Immobilized on Tannic Acid-Grafted Eggshell Membrane. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 1, p. 440, 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1647-7> >. Acesso em: 12 nov. 2016.

MACHADO, Ê. L. *et al.* Use of Ozonation for the Treatment of Dye Wastewaters Containing Rhodamine B in the Agate Industry. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 223, n. 4, p. 1753-1764, 2012. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0980-9> >. Acesso em: 08 jan. 2018.

MADHURA, L. *et al.* Nanotechnology-based water quality management for wastewater treatment. **Environmental Chemistry Letters**, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0778-8> >. Acesso em: 19 jul. 2017.

MADRAS, G.; SMITH, J. M.; MCCOY, B. J. Degradation of Poly(methyl methacrylate) in Solution. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 35, n. 6, p. 1795-1800, 1996. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/ie960018b> >. Acesso em: 01 nov. 2014.

MALATO, S.; FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P.; MALDONADO, M. I.; BLANCO, J.; GERNJAK, W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. **Catalysis Today**, v. 147, n. 1, p. 1-59, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920586109003344> >. Acesso em: 12 nov. 2016.

MANFRON, M.; GOBBI, D. L.; MISTURA, C. M.; ISRAEL, C. L. Análise Química De Ligas Metálicas Utilizadas Em Joias E Bijuterias Na Região De Passo Fundo. In: DONATO, M.; DUARTE, L. d. C. e VILASBÔAS, F. d. S. (Ed.). **Ações Aplicadas à Cadeia Produtiva de Gemas e Joias do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, RS, Brasil: IGEO/UFRGS, 2017. p.106-116.

MANGALAMPALLI, B.; DUMALA, N.; GROVER, P. Allium cepa root tip assay in assessment of toxicity of magnesium oxide nanoparticles and microparticles. **Journal of Environmental Sciences**, v. 66, p. 125-137, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1001074216311779> >. Acesso em: 24 nov. 2018.

MARCO-URREA, E.; PÉREZ-TRUJILLO, M.; CRUZ-MORATÓ, C.; CAMINAL, G.; VICENT, T. Degradation of the drug sodium diclofenac by *Trametes versicolor* pellets and identification of some intermediates by NMR. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, n. 1, p. 836-842, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389409019128> >. Acesso em: 15 jul. 2018.

MARTINS, R. C.; JIMÉNEZ, B. M.; CASTRO-SILVA, S.; QUINTA-FERREIRA, R. M. Enhancing Agro-Industrial Wastewaters Depuration by Ozone Oxidation. **Ozone: Science & Engineering**, v. 34, n. 5, p. 387-396, 2012. Disponível em: < <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=80413777&lang=pt-br&site=ehost-live&authtype=ip,cookie,uid> >. Acesso em: 02 jan. 2019.

MASSART, R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. **IEEE Transactions on Magnetics**, v. 17, n. 2, p. 1247-1248, 1981. Disponível em: < <https://ieeexplore-ieee-org.ez45.periodicos.capes.gov.br/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=1061188> >. Acesso em: 22 jan. 2017.

MCILVAINE, T. A buffer solution for colorimetric comparison. **Journal of Biological Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 183-186, 1921. Acesso em: 22 jan. 2017.

MELO, B.; SOUZA, J.; JÚNIOR, E. C.; COSTA, H. Síntese e Caracterização de Matrizes Híbridas Tridimensionais de Vidro Bioativo Reforçadas com Polímero Poli (ácido acrílico)(PAA). 2016. Acesso em: 12 jan. 2018.

MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. d.; CASTRO, H. d.; GIORDANO, R. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 831-840, 2011. Disponível em: <

<http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2011/vol34n5/18-RV10441.pdf> >. Acesso em: 12 mar. 2017.

MESSERSCHMIDT, A. Blue Copper Oxidases. In: SYKES, A. G. (Ed.). **Advances in Inorganic Chemistry**: Academic Press, v.40, 1993. p.121-185.

MINUSSI, R. C. *et al.* Purification, characterization and application of laccase from *Trametes versicolor* for colour and phenolic removal of olive mill wastewater in the presence of 1-hydroxybenzotriazole. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 10, 2007. Disponível em: < <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/57427> >. Acesso em: 22 jun. 2017.

MISTURA, C. M.; GOBBI, D. L. Tratamento de Efluentes de corantes por processo de ozonização. In: HARTMANN, L. A.; SILVA, J. T. d. e DONATO, M. (Ed.). **Tecnologia e Inovação em Gemas, Joias e Mineração**. Porto Alegre, RS, Brasil: UFRGS/IGEO, 2014. p.143-150.

MISTURA, C. M.; OLIVEIRA, J. **Relatório de Projeto de Pesquisa Avaliação de Processos Oxidativos Avançados (POAs) no tratamento de soluções para tingimento de ágatas contendo corantes orgânicos**. Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, RS, 121 p. 2008.

MISTURA, C. M.; OLIVEIRA, J.; VANZ, L. Avaliação Do Uso De Processos Oxidativos Avançados (Poas) No Tratamento De Efluentes Contendo Corantes Cristal Violeta E Verde Brilhante. In: HARTMANN, L. A. e (ORG.), J. T. d. S. (Ed.). **Mostra de pesquisas, produtos e tecnologias aplicadas ao arranjo produtivo de gemas e joias do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, RS, Brasil: UFRGS/IGEO, 2013. p.70-73.

MISTURA, C. M.; SCHNEIDER, I. A. H.; VIEIRA, Y. Heterogeneous Photocatalytic Degradation of Dyes in Water/Alcohol Solution Used by the Brazilian Agate Industry. **Geomaterials**, v. 9, n. 1, p. 29-39, 2019. Disponível em: < <https://www.scirp.org/Journal/PaperInformation.aspx?PaperID=90044> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

MOLDES-DIZ *et al.* A novel enzyme catalysis reactor based on superparamagnetic nanoparticles for biotechnological applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 5, p. 5950-5960, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213343718305451> >. Acesso em: 19 jan. 2019.

MOLDES-DIZ, Y. *et al.* Development of a Superparamagnetic Laccase Nanobiocatalyst for the Enzymatic Biotransformation of Xenobiotics. **Journal of Environmental Engineering**, v. 144, n. 3, p. 04018007, 2018. Disponível em: < <https://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%28ASCE%29EE.1943-7870.0001333> >. Acesso em: 22 jan. 2019.

MORAES, H. F. SENAI- RS Desenvolvendo tecnologias para o setor de gemas e joias. In: HARTMANN, L. A. e (ORG.), J. T. d. S. (Ed.). **Mostra de pesquisas, produtos e tecnologias aplicadas ao arranjo produtivo de gemas e joias do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, RS, Brasil: UFRGS/IGEO, 2013. p.82.

MOREIRA, M. *et al.* Formulation of Laccase Nanobiocatalysts Based on Ionic and Covalent Interactions for the Enhanced Oxidation of Phenolic Compounds. **Applied Sciences**, v. 7, n. 8, p. 851, 2017. Disponível em: < <http://www.mdpi.com/2076-3417/7/8/851> >. Acesso em: 18 mar. 2018.

MOREIRA, M. T.; MIELGO, I.; FEIJOO, G.; LEMA, J. M. Evaluation of different fungal strains in the decolourisation of synthetic dyes. **Biotechnology Letters**, v. 22, n. 18, p. 1499-1503, 2000. Disponível em: < <https://doi.org/10.1023/A:1005606330152> >. Acesso em: 12 jun. 2017.

MOURÃO, H. A. J. L.; MENDONÇA, V. R. d.; MALAGUTTI, A. R.; RIBEIRO, C. Nanoestruturas em fotocatalise: uma revisão sobre estratégias de síntese de fotocatalisadores em escala nanométrica. **Química Nova**, v. 32, p. 2181-2190, 2009. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000800032&script=sci_arttext&lng=pt >. Acesso em: 12 nov. 2016.

MUHD JULKAPLI, N.; BAGHERI, S.; BEE ABD HAMID, S. Recent advances in heterogeneous photocatalytic decolorization of synthetic dyes. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 25, 2014. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/692307/> >. Acesso em: 12 mar. 2016.

NABEEL, A. S.; WASEEM, H. Heterogeneous photocatalysis and its potential applications in water and wastewater treatment: a review. **Nanotechnology**, v. 29, n. 34, p. 342001, 2018. Disponível em: < <http://stacks.iop.org/0957-4484/29/i=34/a=342001> >. Acesso em: 16 jan. 2019.

NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal of Hazardous Materials**, v. 98, n. 1-3, p. 33-50, 2003. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3894\(02\)00282-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3894(02)00282-0) >. Acesso em: 12 mar. 2018.

NIDHEESH, P. V.; ZHOU, M.; OTURAN, M. A. An overview on the removal of synthetic dyes from water by electrochemical advanced oxidation processes. **Chemosphere**, v. 197, p. 210-227, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653517321732> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

NIKU-PAAVOLA, M. L. *et al.* The effect of culture conditions on the production of lignin modifying enzymes by the white-rot fungus *Phlebia radiata*. **Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 2, p. 211-221, 1990. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016816569090106L> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

NIST. **National Institute of Standards and Technology**. NIST Standard Reference Database 69: NIST Chemistry WebBook: U.S. Secretary of Commerce on behalf of the U.S.A. 2019. Disponível em: <webbook.nist.gov/chemistry>. Acesso em 26 jan. 2019.

NOGUEIRA, R. F.; JARDIM, W. F. Heterogeneous Photocatalysis And Its Environmental Applications. **Química nova**, 1998. Disponível em: <

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/100477/1/2-s2.0-0002646271.pdf> >. Acesso em: 21 nov. 2018.

NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A. G.; SILVA, M. R. A. d.; VILLA, R. D.; OLIVEIRA, M. C. d. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 400-408, 2007. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v30n2/29.pdf> >. Acesso em: 22 jan. 2018.

O'NEILL, C.; HAWKES, F. R.; ESTEVES, S. R. R.; HAWKES, D. L.; WILCOX, S. J. Anaerobic and aerobic treatment of a simulated textile effluent. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 74, n. 10, p. 993-999, 1999. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291097-4660%28199910%2974%3A10%3C993%3A%3AAID-JCTB142%3E3.0.CO%3B2-S> >. Acesso em: 22 nov. 2018.

OKUMURA, H.; ENDO, S.; JOONWICHIE, S.; YAMASUE, E.; ISHIHARA, K. N. Magnetic field effect on heterogeneous photocatalysis. **Catalysis Today**, v. 258, p. 634-647, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920586115000620> >. Acesso em: 22 jan. 2019.

OLIVEIRA, G. L. S. d. **Avaliação da toxicidade de efluente kraft após tratamento por processos oxidativos avançados**. 2013. p. Dissertação de Mestrado (Mestre). DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil. Disponível em: < http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1028/1/CT_COPAM_2012_2_18.pdf >. Acesso em: 12 jan. 2018.

OLIVEIRA, M. P. d. *et al.* Panorama do setor de gemas e materiais gemológicos do Rio Grande do Sul. 5 Workshop Design e Materiais, 2010, Lorena, SP. 12 jan. 2018. 12 p. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/280738995_Panorama_do_setor_de_gemas_e_materiais_gemologicos_do_Rio_Grande_do_Sul >. Acesso em: 12 jan. 2018.

OLLER, I.; MALATO, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination—a review. **Science of the total environment**, v. 409, n. 20, p. 4141-4166, 2011. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969710009344> >. Acesso em: 12 jan. 2018.

PAŹDZIOR, K. *et al.* Influence of ozonation and biodegradation on toxicity of industrial textile wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 195, p. 166-173, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479716304200> >. Acesso em: 06 mar. 2018.

PERALTA-ZAMORA, P. *et al.* Degradation of reactive dyes I. A comparative study of ozonation, enzymatic and photochemical processes. **Chemosphere**, v. 38, n. 4, p. 835-852, 1999. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653598002276> >. Acesso em: 18 mar. 2017.

PEREZ, M.; TORRADES, F.; DOMENECH, X.; PERAL, J. Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. **Water research**, v. 36, n. 11, p. 2703-2710, 2002. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135401005061> >. Acesso em: 06 mar. 2018.

PIONTEK, K.; ANTORINI, M.; CHOINOWSKI, T. Crystal structure of a laccase from the fungus *Trametes versicolor* at 1.90-Å resolution containing a full complement of coppers. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 40, p. 37663-37669, 2002. Disponível em: < <http://www.jbc.org/content/277/40/37663.full.pdf> >. Acesso em: 15 jan. 2016.

PISCITELLI, A.; PEZZELLA, C.; GIARDINA, P.; FARACO, V.; SANNIA, G. Heterologous laccase production and its role in industrial applications. **Bioengineered Bugs**, v. 1, n. 4, p. 254-264, 2010. Disponível em: < <https://doi.org/10.4161/bbug.1.4.11438> >. Acesso em: 12 mar. 2017.

PIZZOLATO, T.; CARISSIMI, E.; MACHADO, E.; SCHNEIDER, I. Colour removal with NaClO of dye wastewater from an agate-processing plant in Rio Grande do Sul, Brazil. **International journal of mineral processing**, v. 65, n. 3-4, p. 203-211, 2002. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S0301-7516\(01\)00082-5](https://doi.org/10.1016/S0301-7516(01)00082-5) >. Acesso em: 12 mar. 2016.

PUBCHEM. **Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (em inglês: United States National Library of Medicine, NLM) - Governo federal dos Estados Unidos da América**. Disponível em: <pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em 16 mar. 2019.

PUVANESWARI, N.; MUTHUKRISHNAN, J.; GUNASEKARAN, P. Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes review. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 44, n. 8, p. 618-626, 2006. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/123456789/6554> >. Acesso em: 29 jan. 2019.

RADHAKRISHNAN, B. *et al.* Alignment of iron nanoparticles in a magnetic field due to shape anisotropy. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 394, p. 481-490, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304885315303140> >. Acesso em: 15 jan. 2018.

RAJESHWAR, K. *et al.* Heterogeneous photocatalytic treatment of organic dyes in air and aqueous media. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 9, n. 4, p. 171-192, 2008. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2008.09.001> >. Acesso em: 22 jan. 2018.

RAMÍREZ-MONTOYA, L. A.; HERNÁNDEZ-MONTOYA, V.; MONTES-MORÁN, M. A.; JÁUREGUI-RINCÓN, J.; CERVANTES, F. J. Decolorization of dyes with different molecular properties using free and immobilized laccases from *Trametes versicolor*. **Journal of Molecular Liquids**, v. 212, p. 30-37, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732215303627> >. Acesso em: 18 jan. 2019.

RIVERA-HOYOS, C. M. *et al.* Fungal laccases. **Fungal Biology Reviews**, v. 27, n. 3, p. 67-82, 2013.

RIZZO, L. *et al.* Consolidated vs new advanced treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern from urban wastewater. **Science of The Total Environment**, v. 655, p. 986-1008, 2019. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718346229> >. Acesso em: 10 mar. 2019.

RODRIGUES, A. C. **Tratamento de efluente do tingimento de ágatas por processo oxidativo avançado: técnica Fenton para degradação de Rodamina B**. 2015. 43 p. Graduação (Engenheiro Ambiental). INSTITUTO DE PESQUISAS HIDRÁULICAS E ESCOLA DE ENGENHARIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL Disponível em: < <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/170399/001052199.pdf?sequence=1> >. Acesso em: 05 mar. 2018.

RODRIGUES, A. C.; SANTOS, C. R. d.; SCHNEIDER, I. A. H. **Tratamento De Efluente Do Tingimento De Ágatas Por Processo Oxidativo Avançado – Técnica Fenton Para Degradação De Rodamina B**. DONATO, M. e DUARTE, L. d. C. Org. Porto Alegre, RS, Brasil: IGEO/UFRGS, p.88-97, In: Gemas, Joias e Mineração: Pesquisas Aplicadas no Rio Grande do Sul. 2016. Disponível em: < <http://ctpedras.upf.br/index.php/publicacoes> >. Acesso em: 03 mar. 2017.

RODRÍGUEZ COUTO, S. Dye removal by immobilised fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 3, p. 227-235, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975009000020> >. Acesso em: 18 jan. 2019.

ROSA, A. L. D. d.; LESER, C. F.; BARRETO, M. A. M.; CARISSIMI, E.; MACHADO, A. A. **ADSORÇÃO EM CARVÃO ATIVADO PARA TRATAMENTO DE CORANTES PROVENIENTES DE EFLUENTE DE TINGIMENTO DE ÁGATA**. Congresso ABES/FENASAN. AMBIENTAL, AESABESP. 2017.

RS. Resolução 355/2017: Dispõe sobre os critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul., p. 7, 2017. Disponível em: < <http://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201707/19110149-355-2017-criterios-e-padroes-de-emissao-de-efluentes-liquidos.pdf> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

RUBIO, J.; TESSELE, F. **PROCESSOS PARA O TRATAMENTO DE EFLUENTES NA MINERAÇÃO**. LUZ, A. B. d.; SAMPAIO, J. A.; MONTE, M. B., *et al.* Org. Rio de Janeiro, Brasil: CETEM-CNPq-MCT, p.637-697, In: Tratamento de Minérios, 3. 2002. Disponível em:< <https://www.cetem.gov.br/images/congressos/2014/CAC00330014.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

RUPPERT, G.; BAUER, R.; HEISLER, G. UV-O₃, UV-H₂O₂, UV-TiO₂ and the photo-Fenton reaction - comparison of advanced oxidation processes for wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 28, n. 8, p. 1447-1454, 1994. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0045653594902399> >. Acesso em: 15 jan. 2019.

SAHOO, C.; GUPTA, A. K.; SASIDHARAN PILLAI, I. M. Photocatalytic degradation of methylene blue dye from aqueous solution using silver ion-doped TiO₂ and its application to the degradation of real textile wastewater. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 47, n. 10, p. 1428-1438, 2012. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.672387> >. Acesso em: 24 nov. 2018.

SAMPAIO, C.; TUBINO, L. Estudo morfológico da ágata em bruto e sua influência no processo de tingimento industrial em bruto. **Acta Geológica Leopoldense**, v. 20, n. 8, p. 43-48, 1999.

SANTOS, C. R. d. **Integração dos processos fenton e adsorção para o tratamento de efluentes do tingimento de ágatas contendo o corante rodamina B**. 2017. 111 p. Doutorado (Tese de Doutorado). ESCOLA DE ENGENHARIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. 2017.

SATHIYA, M.; PERIYAR, S.; SASIKALAVENI, A.; MURUGESAN, K.; KALAICHELVAN, P. Decolorization of textile dyes and their effluents using white rot fungi. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 6, 2007. Disponível em: < <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/56232> >. Acesso em: 12 jan 2017.

SCHOLZ, R. *et al.* **Brazilian Quartz Deposits with Special Emphasis on Gemstone Quartz and its Color Treatment**: Springer, p.139-159, In: Quartz: Deposits, Mineralogy and Analytics. 2012. Disponível em: < https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-22161-3_6#citeas >. Acesso em: 24 nov. 2018.

SCHRAUBEN, J. N. *et al.* Titanium and zinc oxide nanoparticles are proton-coupled electron transfer agents. **Science**, v. 336, n. 6086, p. 1298-1301, 2012. Disponível em: < <http://science.sciencemag.org/> >. Acesso em: 22 mar. 2017.

SENAI; APPSOL. **Dados de coleta de efluentes em 2011 da Associação dos pequenos pedristas de Soledade, RS**. Informativo Regional. Soledade, RS: 24 p. 2011.

SENTHIVELAN, T.; KANAGARAJ, J.; PANDA, R. C. Recent trends in fungal laccase for various industrial applications: An eco-friendly approach - A review. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 21, n. 1, p. 19-38, January 01 2016.

SENTHIVELAN, T.; KANAGARAJ, J.; PANDA, R. C. Recent trends in fungal laccase for various industrial applications: An eco-friendly approach - A review. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 21, n. 1, p. 19-38, 2016b. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s12257-015-0278-7> >. Acesso em: 11 jan. 2017.

SHELDON, R. A. Characteristic features and biotechnological applications of cross-linked enzyme aggregates (CLEAs). **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 92, n. 3, p. 467-477, 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3554-2> >. Acesso em: 01 nov. 2018.

SHIN, K.-S.; LEE, Y.-J. Purification and Characterization of a New Member of the Laccase Family from the White-Rot Basidiomycete *Coriolus hirsutus*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 384, n. 1, p. 109-115, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986100920836> >. Acesso em: 12 nov. 2016.

SILVA, M. R. A. d.; OLIVEIRA, M. C. d.; NOGUEIRA, R. F. P. Estudo da aplicação do processo foto-Fenton solar na degradação de efluentes de indústria de tintas. **Eclética Química**, v. 29, p. 19-26, 2004. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-46702004000200003&nrm=iso >. Acesso em: 24 mar. 2018.

SILVA, R. d. A. **Avaliação da perda da coloração artificial de ágatas**. 2006. 97 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. Disponível em: < <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10181/000594782.pdf?sequence=1> >. Acesso em: 08 jan. 2016.

SILVA, R. d. A.; PETTER, C. O.; SCHNEIDER, I. A. H. Avaliação da perda da coloração artificial de ágatas. **Rem: revista escola de minas**, v. 60, n. 3 (jul./set. 2007), p. 477-482, 2007. Disponível em: < <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/21034> >. Acesso em: 08 jan. 2017.

SILVA, R. d. A.; SCHNEIDER, I. A. H. Geração de Resíduos no Processamento de Ágatas. **Revista de Engenharia Civil IMED**, v. 2, n. 1, p. 11-16, 2015. Disponível em: < <https://seer.imed.edu.br/index.php/revistaec/article/download/778/581> >. Acesso em: 10 jan. 2018.

SINDELAR, F. W.; SILVA, L. F.; MACHADO, V. R.; DOS SANTOS, L. C.; STÜLP, S. Treatment of effluent from the agate dyeing industry using photodegradation and electro dialysis processes. **Separation Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 142-147, 2015. Disponível em: < <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01496395.2014.947519?scroll=top&needAccess=true> >. Acesso em: 12 jan. 2017.

SINGH, J.; SAHARAN, V.; KUMAR, S.; GULATI, P.; KAPOOR, R. K. Laccase grafted membranes for advanced water filtration systems: a green approach to water purification technology. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 6, p. 883-901, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1417234> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

SINGH, K.; ARORA, S. Removal of Synthetic Textile Dyes From Wastewaters: A Critical Review on Present Treatment Technologies. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 9, p. 807-878, 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/10643380903218376> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

SIVALINGAM, G.; PRIYA, M. H.; MADRAS, G. Kinetics of the photodegradation of substituted phenols by solution combustion synthesized TiO₂. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 51, n. 1, p. 67-76, 2004. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337304000840> >. Acesso em: 20 mar. 2016.

SOBRERO, M. C.; BELTRANO, J.; RONCO, A. E. Comparative Response of Lemnaceae Clones to Copper(II), Chromium(VI), and Cadmium(II) Toxicity. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 73, n. 2, p. 416-423, 2004. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00128-004-0445-6> >. Acesso em: 01 jun. 2018.

SONNTAG, C. V. Advanced oxidation processes: mechanistic aspects. **Water Science and Technology**, v. 58, n. 5, p. 1015-1021, 2008. Disponível em: < <http://wst.iwaponline.com/content/ppiawst/58/5/1015.full.pdf> >. Acesso em: 24 mar. 2018.

STADLMAIR, L. F.; LETZEL, T.; DREWES, J. E.; GRASSMANN, J. Enzymes in removal of pharmaceuticals from wastewater: A critical review of challenges, applications and screening methods for their selection. **Chemosphere**, v. 205, p. 649-661, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653518307914> >. Acesso em: 16 jun. 2018.

SULZER, F. Über das Verhalten wässriger Ozonlösungen. **Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie**, v. 20, n. 1, p. 16-29, 1958. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/BF02486060> >. Acesso em: 12 mar. 2016.

SZALINSKA, E.; DOMINIK, J.; VIGNATI, D. A. L.; BOBROWSKI, A.; BAS, B. Seasonal transport pattern of chromium(III and VI) in a stream receiving wastewater from tanneries. **Applied Geochemistry**, v. 25, n. 1, p. 116-122, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0883292709003047> >. Acesso em: 12 jan. 2017.

SZALINSKA, E.; DROUILLARD, K. G.; FRYER, B.; HAFFNER, G. D. Distribution of Heavy Metals in Sediments of the Detroit River. **J. Great Lakes Res.**, v. 32, p. 442-454, 2006. Disponível em: < <https://bioone.org/journals/journal-of-great-lakes-research/volume-32/> >. Acesso em: 24 jan. 2017.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. **CADERNO TEMÁTICO VOLUME 03**. UNICAMP, U. E. d. C.; IQ, I. d. Q. e LQA, L. d. Q. A. Org. Campinas, SP, Brasil, v.3, p.1-83, In: Processos Oxidativos Avançados - Conceitos teóricos 2004. Disponível em: < <http://www.ufjf.br/baccan/files/2012/11/caderno3-POAs.pdf> >. Acesso em: 18 jan. 2014.

TEIXEIRA, S. C. G.; CANELA, M. C. Degradação do pesticida Padron® por processos fotoquímicos utilizando luz artificial e solar. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1830, 2007. Disponível em: < <http://unesp.homolog.scielo.br/pdf/qn/v30n8/a07v30n8.pdf> >. Acesso em: 22 jan. 2017.

THURSTON, C. F. The structure and function of fungal laccases. **Microbiology**, v. 140, n. 1, p. 19-26, 1994. Disponível em: < <https://mic.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/13500872-140-1-19> >. Acesso em: 10 nov. 2018.

TSANG, S. C.; YU, C. H.; GAO, X.; TAM, K. Silica-Encapsulated Nanomagnetic Particle as a New Recoverable Biocatalyst Carrier. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 34, p. 16914-16922, 2006. Disponível em: < <https://doi.org/10.1021/jp062275s> >. Acesso em: 01 nov. 2017.

TU, R. *et al.* Effect of static magnetic field on the oxygen production of *Scenedesmus obliquus* cultivated in municipal wastewater. **Water Research**, v. 86, p. 132-138, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004313541530141X> >. Acesso em: 12 jan. 2018.

TURHAN, K.; OZTURKCAN, S. A. Decolorization and Degradation of Reactive Dye in Aqueous Solution by Ozonation in a Semi-batch Bubble Column Reactor. **Water Air and Soil Pollution**, v. 224, n. 1, p. 13, 2013. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000313012500001 >. Acesso em: 21 jan. 2015.

TURHAN, K.; TURGUT, Z. Decolorization of direct dye in textile wastewater by ozonation in a semi-batch bubble column reactor. **Desalination**, v. 242, n. 1, p. 256-263, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916409002306> >. Acesso em: 12 jan. 2017.

VANCHA, A. R. *et al.* Use of polyethyleneimine polymer in cell culture as attachment factor and lipofection enhancer. **BMC Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 23, 2004. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/1472-6750-4-23> >. Acesso em: 15 nov. 2017.

VASCONCELOS, V. M. *et al.* OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS CORANTES REATIVOS PRETO 5 E AZUL 19 UTILIZANDO UM ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO NÃO COMERCIAL. **Química Nova**, v. 39, p. 1051-1058, 2016. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422016000901051&nrm=iso >. Acesso em: 22 jan. 2017.

VERMA, P.; SAMANTA, S. K. Microwave-enhanced advanced oxidation processes for the degradation of dyes in water. **Environmental Chemistry Letters**, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0739-2> >. Acesso em: 13 maio 2018.

VIEIRA, Y.; MISTURA, C. M.; MARINI, V. F.; SCHNEIDER, I. A. H. **Análise da eficiência de Processos Oxidativos Avançados (POAs) homogêneos e heterogêneos aplicados à degradação do corante verde malaquita em efluentes da indústria de tingimento de ágatas em Soledade, RS.** DONATO, M.; DUARTE, L. d. C. e (ORG.), F. V. Org. Porto Alegre, RS, Brasil: IGEO/UFRGS, p.113-123, In: Avanços Técnico - Científicos no Setor de Gemas, Joias e Mineração. 2018. Disponível em: < <http://ctpedras.upf.br/index.php/publicacoes> >. Acesso em: 03 jan. 2019.

VILASBÔAS, F. S.; SANTOS, C. R. d.; SCHNEIDER, I. A. H. Environmental Issues on the Industrial Processing of Raw Agate. **Geomaterials**, v. 7, n. 01, p. 13-24, 2017. Disponível em: < http://file.scirp.org/pdf/GM_2016121915443969.pdf >. Acesso em: 05 jan. 2018.

VILLAS-BÔAS, H. C. **A Industria Extrativa Mineral e a Transição para a Sustentabilidade**. Rio de Janeiro, Brasil: CYTED-CETEM, 2011.

VINU, R.; MADRAS, G. **Photocatalytic Degradation of Water Pollutants Using Nano-TiO₂**. ZANG, L. Org. London: Springer London, p.625-677, In: Energy Efficiency and Renewable Energy Through Nanotechnology. 2011. Disponível em: < https://doi.org/10.1007/978-0-85729-638-2_19 >. Acesso em: 22 jan. 2017.

WATKINS, J. M.; FILHO, A. F. d. S.; MENDES, J. C.; PEREIRA, R. S. Perfil de Gemas (Diamante e Gemas de Cor) **Relatório Técnico 56**, v. 30, n. 56, p. 172, 2009. Disponível em: < http://www.jmendo.com.br/wp-content/uploads/2011/08/P30_RT56_Perfil_de_Gemas_xDiamante_e_Gemas_de_Corx.pdf >. Acesso em: 22 jan. 2017.

WIECZOREK, A.; ANGELIS, D.; KATAOKA, A.; CONEGLIAN, C.; OLIVEIRA, V. QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO ATIBAIA A JUSANTE E A MONTANTE DA REFINARIA REPLAN/PETROBRAS. 2º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, Rio de Janeiro, RJ, 2003, 25 jan. 2017. p. Disponível em: < <http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/2/6160.pdf> >. Acesso em: 17 jan. 2017.

WU, W.; HE, Q.; JIANG, C. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. **Nanoscale Research Letters**, v. 3, n. 11, p. 397, 2008. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11671-008-9174-9> >. Acesso em: 02 mar. 2017.

YADAV, M.; YADAV, H. S. Applications of ligninolytic enzymes to pollutants, wastewater, dyes, soil, coal, paper and polymers. **Environmental Chemistry Letters**, v. 13, n. 3, p. 309-318, 2015. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0516-4> >. Acesso em: 21 jan. 2019.

YOSHIDA, H. LXIII.—Chemistry of lacquer (Urushi). Part I. Communication from the Chemical Society of Tokio. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 43, n. 0, p. 472-486, 1883. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/CT8834300472> >. Acesso em: 24 jul. 2017.

ZAMPIERI, L. A. **Imobilização de lacases e de microrganismos em biocatálise**. 2013. 277 p. Tese (Doutorado). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. Disponível em: < <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/250619> >. Acesso em: 24 jan. 2019.

ZANATTA, A. L. **Plano de desenvolvimento com metodologia participativa**. Passo Fundo, RS, Brasil: APL pedras, gemas e joias (Cidade Polo Soledade). Graffoluz Editora e Indústria Gráfica Ltda, 2014. 120 p. Disponível em: < <http://www.sdect.rs.gov.br/upload/arquivos/carga20170526/04092619-1408122275-apl-20pedras-20gemas-20e-20j-c3-b3ias.pdf> >. Acesso em: 12 mar. 2018.

ZANGENEH, H.; ZINATIZADEH, A. A. L.; HABIBI, M.; AKIA, M.; HASNAIN ISA, M. Photocatalytic oxidation of organic dyes and pollutants in wastewater using different modified titanium dioxides: A comparative review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 26, p. 1-36, 2015. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226086X14005838> >. Acesso em: 17 jan. 2017.

ZHANG, D.; DENG, M.; CAO, H.; ZHANG, S.; ZHAO, H. Laccase immobilized on magnetic nanoparticles by dopamine polymerization for 4-chlorophenol removal. **Green Energy & Environment**, v. 2, n. 4, p. 393-400, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S246802571630111X> >. Acesso em: 12 jan. 2017.

ZHENG, X.; WANG, Y.; LU, D. A realistic description of influence of the magnetic field strength on high gradient magnetic separation. **Minerals Engineering**, v. 79, p. 94-101, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0892687515300091> >. Acesso em: 22 jan. 2017.

ZIMMERMANN, Y.-S.; SHAHGALDIAN, P.; CORVINI, P. F.; HOMMES, G. Sorption-assisted surface conjugation: a way to stabilize laccase enzyme. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 92, n. 1, p. 169, 2011. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1005606330152> >. Acesso em: 22 nov. 2017.

ZIOLLI, R. L.; JARDIM, W. F. Mecanismo de fotodegradação de compostos orgânicos catalisada por TiO₂. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 319-325, 1998. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v21n3/3281.pdf> >. Acesso em: 15 jan. 2014.

ZUORRO, A.; LAVECCHIA, R. Evaluation of UV/H₂O₂ advanced oxidation process (AOP) for the degradation of diazo dye Reactive Green 19 in aqueous solution. **Desalination and Water Treatment**, v. 52, n. 7-9, p. 1571-1577, 2014. Disponível em: < <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.787553> >. Acesso em: 22 jan. 2018.

9 ANEXOS

Reagentes e equipamentos empregados na presente tese.

Reagente	Marca
TiO ₂ sólido em pó	Sigma-Aldrich®
ZnO sólido em pó	Sigma-Aldrich®
TiO ₂ (ST-41) 99,9% anatase	Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.
Álcool etílico AE absoluto 99,9%	Synth®
Álcool etílico AE combustível comercial	BR Distribuidora®
Ácido Oleico 99%	Sigma-Aldrich® Saint Louis EUA
Igepal [polyoxyethylene -5- nonylphenylether	CO-520
Ciclohexano (hexano) (C ₆ H ₁₂ C ₆ H ₁₂) 99,8%	J. T. Baker®
AIP Álcool Isopropílico	J. T. Baker®
Sulfato de Ferro II PA	Dinâmica®
Sulfato de Ferro III PA	Panreac®
Peróxido de hidrogênio 110 V 30% m/v	Foret® Barcelona
Biftalato de potássio PA	Neon®
Dicromato de potássio PA	Neon®
Tetraborato de amônio PA (NH ₄ HB ₄ O ₇)	Merck®
Ácido Bórico PA (H ₃ BO ₃)	Merck®
Rodamina B	Merck®
Cristal Violeta (genciana)	Sigma®
Laranja Básico 2 Crisolina	Sigma®
Verde brilhante (malaquita)	Merck®
Álcool Etilico PA (AE)	Nova Química®
Hidróxido de sódio PA	Dinâmica®
Ácido clorídrico PA	Nuclear® Brazil
Ácido sulfúrico PA (H ₂ SO ₄)	Nuclear® Brazil
Ácido acético Glacial grau HPLC	J. T. Baker®
Metanol grau HPLC	J. T. Baker®
Hidróxido de cálcio Ca(OH) ₂ PA	Vetec®
Hidróxido de amônio NH ₄ OH PA	Merck®
ABTS Sal de 2,2' Azino bis (3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium) Grau HPLC ≥98%	Sigma-Aldrich®
HBT Hidroxi benzotriazol	Merck®
APTS 23-aminopropil-trietoxi-silano ≥98%	Sigma-Aldrich® Alemanha
Enzima Lacase de <i>Trametes versicolor</i> ≥0,5 result 1.03 U mg ⁻¹	Sigma-Aldrich® Alemanha

Reagente	Marca
Metanol Grau HPLC	J. T. Baker®
Nanopartículas TiO ₂	Nanomag - USC
Ferro Fluido 48,11% (m/v)	Nonomag - USC
Cloreto ferroso (NIKU-PAAVOLA <i>et al.</i>) penta-hidratado (99%)	Sigma-Aldrich®
cloreto férrico hexa-hidratado (99%)	Sigma-Aldrich®
Tetra etil ortossilicato ortossilicato de tetraetilo (TEOS) 99%	Sigma-Aldrich®
Brometo de Cetil Trimetil Amônio (BCTA) (99%)	Sigma-Aldrich®
3-amino propil trietoxisilano (98%)	Sigma-Aldrich®
Glutaraldeído (solução aquosa a 25% m/v)	Sigma-Aldrich®
Di-hidrogenofosfato de potássio (99%)	Sigma-Aldrich®
Solução de amônia (35% água) tolueno (99%)	Fisher®
Álcool Absoluto (99,7%)	BDH®
Bulbos de cebola comum <i>Allium cepa</i>	Produtor local RS
Acetato de sódio tri hidratado H ₃ COONa	Sigma®
Ponteiras de micropipetas de diversas capacidades	Eppendorf®
Kit de ecotoxicidade de cultivo liofilizado	Microtox® M500

Equipamento	Marca	Modelo/Localização
Capela de exaustão com fluxo laminar	Dinanlab®	Nanomag/USC
Sistemas de purificação de água	Milli-Q®	ETSE e CEPA/UPF
Câmaras Frias a -20 °C		ETSE e IIT/USC
Analizador de Nitrogênio Total e Carbono Orgânico Total	Shimatzu®	ETSE e CTPG&JRS
Espectrofotômetro UV-Vis	Shimatzu®	UV- 1800 – IIT/USC
Espectrofotômetro UV-Vis	Thermo Electron® Corporation®	Evolution 300 – Nanomag/USC
Espectrofotômetro de microplacas reativas	BioTek® Ins. Inc.	PowerWave XS/XS2 – ETSE/USC
Cubetas de quartzo para Espectrofotômetro 1 mm	Hellma Analytics®	104.600-QG
Cubetas de quartzo para Espectrofotômetro 10 mm	Hellma Analytics®	111.10-40 QS

Equipamento	Marca	Modelo/Localização
Analizador de DQO/Bloco digestor	Labnet®	Vortemp56
Bloco digestor	Marconi®	Ury Block MA4004
Paquímetro Universal 150 mm/ 6 " - 0,02 mm	DIGIMESS®	100.002
Bomba pressurizadora		
Analizador de COT	Shimadzu®	TOC-5000A
Alcoômetro	Incoterm®	-
Tensiômetro	Kruss®	8451
Condutivímetro	Thermo Scientific®	Orion star A212
Medidor de pH	Hanna Ins.®	
Medidor de pH	Crison®	pH Meter GLP21
Agitador de tubos de ensaio		
Centrífuga	Eppendorf®	5430
Agitador magnético com banho termostático	Lan Technics®	Incubator Shaker
Banho termostático	Lan Technics®	Incubator Shaker / UPF
Agitador magnético múltiplo	SP Labor®	
Centrífuga	Eppendorf®	B-430
Balança analítica	OHAUS®	-
Balança analítica	Sartorius®	BP 210 S
Termômetro	Incoterm®	-
	UVP Light	UVP pen-ray 2,12
Lâmpada UV 254 nm	Sources®	01.04.09
Ozonizador	O3R®	The ozone way
Câmera fotográfica	Fujifilm®	
Lâmpada UV 356 nm	Philips®	HID/HPL
Sistema de filtração à vácuo de poliestireno	TPP®	
Pipetadores automáticos de diversas capacidades	Eppendorf®	UPF/USC
Agitador mecânico com controle de temperatura	Lan Technics®	
Equipamento ecotoxicidade	Microtox®	M500
Sistemas Reatores	SR	UPF/ETSE