



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LUCIANO BERNARDO RAMO

AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE FOTOCATALÍTICA DO ÓXIDO
MODIFICADO $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ QUANTO A DEGRADAÇÃO DA
MICROCISTINA-LR EM ÁGUAS DE ABASTECIMENTO

CAMPINA GRANDE, PB

2019

LUCIANO BERNARDO RAMO

AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE FOTOCATALÍTICA DO ÓXIDO
MODIFICADO $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ QUANTO A DEGRADAÇÃO DA
MICROCISTINA-LR EM ÁGUAS DE ABASTECIMENTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Simone da Silva Simões

Coorientadora: Profa. Dra. Mary Cristina Ferreira Alves

CAMPINA GRANDE, PB

2019

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

R175a Ramo, Luciano Bernardo.
Avaliação da performance fotocatalítica do óxido modificado SrZrXSn1-XO3 quanto a degradação da Microcistina-LR em águas de abastecimento [manuscrito] / Luciano Bernardo Ramo. - 2019.
131 p. : il. colorido.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Química - Mestrado) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2019.
"Orientação : Profa. Dra. Simone da Silva Simões , Departamento de Química - CCT."
"Coorientação: Profa. Dra. Mary Cristina Ferreira Alves , Departamento de Química - CCT."
1. Cianotoxina. 2. Processos Oxidativos Avançados. 3. Método Box Behnken. 4. Eutrofização. I. Título
21. ed. CDD 543

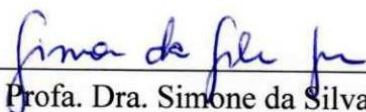
LUCIANO BERNARDO RAMO

AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE FOTOCATALÍTICA DO ÓXIDO
MODIFICADO $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ QUANTO A DEGRADAÇÃO DA
MICROCISTINA-LR EM ÁGUAS DE ABASTECIMENTO

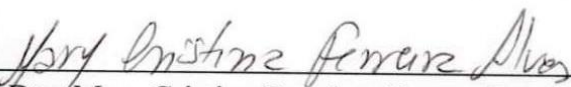
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 30/09/2019.

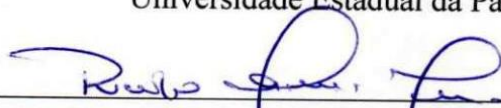
BANCA EXAMINADORA



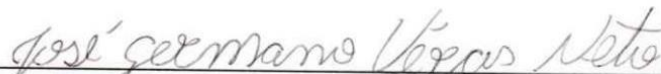
Prof. Dra. Simone da Silva Simões – Orientadora
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



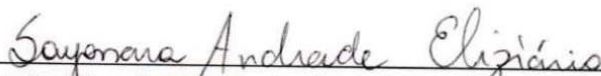
Prof. Dra. Mary Cristina Ferreira Alves – Coorientadora
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura – Examinador Interno
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. José Germano Vêras Neto – Examinador Interno
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Sayonara Andrade Eliziário – Examinadora Externa
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

A **Deus**, por ter me dado condições para concluir mais uma etapa importante em minha vida, aos meus familiares, em especial a minha esposa **Andréia Melo** por todo companheirismo e compreensão, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por sempre estar comigo e ter me dado força e sabedoria para concluir mais uma etapa em minha vida.

À minha querida esposa, **Andréia Melo**, por toda paciência e palavras de incentivos nos momentos mais difíceis, nós conseguimos mais uma vez.

Aos meus pais, **Luzia Bernardo** e **Severino do Ramo**, pelos ensinamentos, por sempre acreditar em mim e pelo apoio nos momentos que precisei, bem como as minhas irmãs **Lucélia Bernardo** e **Lucilene Bernardo** e meus avós, em especial a vó **Maria**, pelas palavras de apoio.

À minha querida orientadora e professora que levarei para o resto da minha vida, **Dra. Simone da Silva Simões**, por toda atenção, ensinamentos e paciência no desenvolvimento deste trabalho, meus eternos agradecimentos.

À minha coorientadora e professora, **Dra. Mary Cristina Ferreira Alves**, por toda assistência, paciência e contribuições com este trabalho, meu muito obrigado.

À banca examinadora, na pessoa do **prof. Ricardo Olímpio**, **prof. Germano Vêras** e a **profa. Sayonara Eliziário**.

Ao secretário do PPGQ-UEPB, **David**, por toda presteza e aos professores, em especial a **Simone Simões**, **Mary Cristina**, **Germano Vêras**, **Juracy Régis** e **Ricardo Olímpio**, por contribuir com minha formação acadêmica.

Ao **gMAAQ**, meu grupo de pesquisa, por toda contribuição nas discussões de trabalhos realizados, em especial a **Adrielle**, **Erivan**, **Cecilia** e **Gaspar** pela ajuda neste trabalho.

Ao grupo de pesquisa da professora Mary, em especial a **Cleber Torres** e **Jéssica Alves** pela ajuda na síntese dos óxidos modificados.

Ao **LAQUISA/EXTRABES** na pessoa do professor **Wilton Lopes** e aos colegas conquistados, em especial a **Catarina**, **Josivaldo**, **Eliane** e **Virginia** por todos os ensinamentos.

Ao laboratório do professor Ricardo Olímpio, em especial aos seus alunos na pessoa de **Lucas Lócio** e **Mirely** pela ajuda nos testes de hemólise.

A professora **Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres**, pela ajuda no mecanismo de fragmentação, meu muito obrigado.

Aos meus colegas de curso, em especial a minha turma, **Ana Carla**, **Cynthia Guimarães**, **Emanuela Coutinho**, **Gilvan Ferreira**, **Janiel Jackson**, **Gutembergue Mendonça**, por toda discussão e aprendizado nas dependências do CCT/UEPB.

À **CAPES/FAPESQ** pelo financiamento da bolsa durante alguns meses do curso.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram para realização deste trabalho, muito obrigado!

“Por isso não tema, pois estou com você; não tenha medo, pois sou o seu Deus. Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa.”

(Isaías 41:10)

RESUMO

A modificação de ambientes aquáticos pelo acúmulo de nutrientes produzidos nos diferentes processos antropogênicos é a principal causa de eutrofização em rios e lagos em todo o mundo. A eutrofização é apontada como sendo um dos principais fatores responsáveis pelo aumento das florações de cianobactérias. Essas florações promovem a deterioração da qualidade da água e constituem um sério risco à saúde. A presença de cianobactérias que produzem cianotoxinas, tais como a microcistina que tem efeitos negativos nos corpos hídricos destinados ao abastecimento público, uma vez que apresentam efeito nocivo à saúde humana e de animais. As microcistinas são hepatotoxinas que causam problemas principalmente no fígado e pode levar a morte dependendo da concentração ingerida. De maneira geral, os tratamentos convencionais realizados pelas estações de tratamento de água não têm sido suficientes, já que não conseguem eliminar as toxinas dissolvidas. Dessa forma, a presente pesquisa tem por objetivo avaliar a performance fotocatalítica dos óxidos modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ quanto a degradação da microcistina-LR em águas de abastecimento utilizando planejamento do tipo Box Behnken. Os óxidos utilizados nesta pesquisa foram caracterizados por difração de raios X, espectroscopia Raman e espectrofotometria ultravioleta. A cepa *microcystis aeruginosa*, produtora da espécie de microcistina-LR utilizada neste trabalho é cultivada pelo LAQUISA/EXTRABES. Para avaliação da performance utilizou-se planejamento experimental variando-se 3 fatores em 3 níveis. As variáveis independentes avaliadas foram modificação estrutural, massa do óxido e tempo de contato do óxido com a solução. As variáveis dependentes foram a porcentagem de degradação e a porcentagem de hemólise após o processo fotocatalítico. A concentração da toxina antes e depois do experimento foi analisada utilizando a HPLC-MS e a toxicidade das soluções, por testes de atividade hemolítica. De acordo com os resultados, os padrões de DRX mostraram a presença de picos bem definidos, referente a fase principal da estrutura da perovskita ortorrômbica (Pbnm). Os gráficos de Raman revelaram que as amostras puras SrZrO_3 e SrSnO_3 apresentam modos ativos típicos de perovskitas do tipo ortorrômbicas com 24 modos ativos. O espectro de UV-Vis utilizados para calcular o *band gap*, mostrou que o aumento na quantidade do cátion A do sistema $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ levou a um aumento dessa energia. De acordo com a avaliação estatística dos resultados obtidos do planejamento experimental foi possível verificar a significância dos fatores estudados, bem como de suas interações. O gráfico de Pareto, a tabela dos efeitos e a ANOVA do planejamento experimental mostraram que para primeira resposta avaliada, porcentagem de degradação, os fatores individuais tempo quadrático e estequiometria quadrática, bem como a interação entre a massa linear e tempo quadrático e a massa linear e tempo linear foram significativos para a performance fotocatalítica dos óxidos modificados estudados. Para a segunda resposta, porcentagem de hemólise, os fatores individuais massa linear, tempo quadrático, estequiometria quadrática, bem como todas as interações lineares e quadráticas dos efeitos principais foram consideradas significativas para o modelo. Os dados ainda mostraram que uso de 0,2 g do óxido $\text{SrZr}_{0,75}\text{Sn}_{0,25}\text{O}_3$ exposto a radiação de 2 lâmpadas UVC por 5 horas levou a uma degradação de 39,9% e uma hemólise de 13,89%. O óxido que apresentou melhor performance fotocatalítica foi o $\text{SrZr}_{0,75}\text{Sn}_{0,25}\text{O}_3$, que possui o maior grau de assimetria. Os resultados obtidos são promissores e indicam que o uso dos óxidos estudados se mostra adequado para a remoção da toxina MC-LR de águas e que o subproduto da reação de fotodegradação não é tóxico já que apresenta porcentagem de hemólise inferior a 30%.

PALAVRAS-CHAVE: Cianotoxina. Processos Oxidativos Avançados. Método Box Behnken. Eutrofização.

ABSTRACT

The main cause of eutrophication in rivers and lakes is the accumulation of nutrients produced in different anthropogenic processes. Being eutrophication one of the main factors for the increase of cyanobacterial blooms. These blooms change the water quality establishing a serious health risk. In fact, cyanobacteria produce microcystin and other cyanotoxins that negatively affects water bodies for public supply. Such toxins are very harmful to human and animal health. Microcystins were found to be hepatotoxins by damaging the liver leading to death upon its levels. Usually water treatments used by the treatment facilities are not efficient as they fail in eliminating such toxins dissolved in waters. Thus, the present study aims to evaluate the photocatalytic performance of modified oxides $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ regarding their ability to degrade LR microcystin from water supply using Box Behnken experimental design. The oxides used in this work were characterized by X-Ray Diffraction, Raman Spectroscopy and Ultraviolet Spectrophotometry. The *Microcystis aeruginosa* strain, a producer of the microcystin-LR, was cultivated by LAQUISA/EXTRABES laboratory. Experimental design was used for performance evaluation, in which 3 factors varies at 3 levels. Three independent variables were evaluated, structural modification, oxide mass, and time of oxide in solution. The dependent variables tested were the degradation percentage and the haemolysis percentage after the photocatalytic process. Toxin concentrations were analysed before and after each trial by using HPLC-MS. Solution toxicity was measured by haemolytic activity tests. According to the results, XRD patterns showed well-defined peaks related to the main phase of the orthorhombic perovskite (Pbnm) structure. Raman spectra revealed that samples of pure SrZrO_3 and SrSnO_3 have typical active modes of perovskites of orthorhombic type with 24 active modes. The UV-Vis spectrum was used to calculate the *band gap*. Results showed the increase of cation A in the $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ system led to an increase of its energy. The experimental design allowed statistical evaluation of results in order to verify the significance of factors, as well as their interactions. Altogether the Pareto graph, the effects table and the ANOVA experimental design showed significance for the photocatalytic performance of the modified oxides studied for the evaluation of first response, the percentage of degradation, the individual factors of quadratic time and quadratic stoichiometry, as well as the interaction between linear mass with quadratic time, and linear mass with linear time. Similarly, for the evaluation of second response results demonstrated that percentage of haemolysis, individual factors of linear mass, quadratic time, and quadratic stoichiometry, altogether with all quadratic and linear interactions of the main effects were considered significant for the model. In addition, data showed 39.9% of degradation and 13.89% of haemolysis when 0.2 g of $\text{SrZr}_{0.75}\text{Sn}_{0.25}\text{O}_3$ oxide was exposed to radiation of 2 UVC lamps for 5 hours. The best photocatalytic oxide found was $\text{SrZr}_{0.75}\text{Sn}_{0.25}\text{O}_3$, which shows the highest degree of asymmetry. These promising results have shown the use of such oxides are satisfactory for the removal of MC-LR toxin from waters. Furthermore, the photodegradation reaction by-product was found to be non-toxic by having less than 30% of haemolysis.

KEY WORDS: Cyanotoxin. Advanced Oxidation Processes. Box Behnken Method. Eutrophication.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química geral da (a) anatoxina-a e (b) anatoxina-a (S).	22
Figura 2 – Estrutura química geral da saxitoxinas.	22
Figura 3 - Estrutura química da cilindrospermopsina.	24
Figura 4 – Estrutura química geral da nodularina e suas principais variações.....	25
Figura 5 – Estrutura geral das microcistinas.	26
Figura 6 – Estrutura da membrana eritrocitária evidenciando o citoesqueleto celular.	31
Figura 7 – Equipamento básico de HPLC: (a) reservatório da fase móvel; b) bomba de alta pressão; (c) válvula de injeção; (d) coluna; (e) detector e (f) registrador.....	34
Figura 8 – Interface do tipo eletrospray utilizada na HPLC-MS.....	35
Figura 9 – Esquema dos principais componentes de um Espectrômetro de Massas.....	36
Figura 10 – Diferentes possibilidades das reações fotocatalíticas: (A) redução, (B) oxidação, (C) reação redox e (D) nenhuma reação.	44
Figura 11 – Esquema mostrando os princípios eletrônicos envolvidos nos processos fotocatalíticos.	44
Figura 12 – Representação dos níveis de energia dos materiais.....	46
Figura 13 – Representação da: (a) estrutura cúbica ideal das perovskitas e (b) estrutura ortorrômbica das perovskitas.....	47
Figura 14 - Esquema reacional do método dos precursores poliméricos.	50
Figura 15 – Variáveis estudadas (a) separadamente (sem utilizar o DOE) e (b) em conjunto (com a utilização do DOE).	53
Figura 16 – Representação de um sistema que pode ter uma função desconhecida, interligando as variáveis de entrada (fatores) as variáveis de saída (respostas).	54
Figura 17 – Distribuição simétrica dos pontos experimentais em torno do padrão de referência.	55
Figura 18 – Cubo para o modelo Box-Behnken, que é caracterizado por possuir um ponto central, pontos localizados no centro da aresta e não possuir pontos nos vértices.....	57
Figura 19 - Fluxograma da metodologia empregada neste trabalho	59
Figura 20 – Sala de cultivo da microcistina-LR.	60
Figura 21 – Bomba a vácuo.....	62
Figura 22 – Fluxograma da metodologia empregada para obtenção das perovskitas modificadas.	63
Figura 23 – Reator fotocatalítico utilizado.	66

Figura 24 – Esquema da metodologia empregada para realizar os ensaios experimentais.	67
Figura 25 – Padrões de DRX do(s) (a) SrSnO ₃ , (b) SrZrO ₃ e (c) óxidos modificados SrZr _x Sn _{1-x} O ₃ calcinado a 700 °C por 2 horas.	70
Figura 26 – Espectros Raman das perovskitas puras (sem modificações estruturais) e do sistema substituído SrZr _x Sn _{1-x} O ₃	72
Figura 27 – Espectros Raman do sistema modificado SrZr _x Sn _{1-x} O ₃ : (a) SrSnO ₃ , SrZr _{0,25} Sn _{0,75} O ₃ , SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃ , SrZr _{0,55} Sn _{0,25} O ₃ e (b) SrZrO ₃ na região compreendida entre 120-280 cm ⁻¹ . ..	72
Figura 28 – Espectros Raman do sistema modificado SrZr _x Sn _{1-x} O ₃ : (a) SrSnO ₃ , SrZr _{0,25} Sn _{0,75} O ₃ , SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃ , SrZr _{0,55} Sn _{0,25} O ₃ e (b) SrZrO ₃ na região compreendida entre 400-640 cm ⁻¹ . ..	73
Figura 29 – Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados para a % de degradação.	77
Figura 30 – Gráfico dos valores observados versus os preditos para a % de degradação.	80
Figura 31 – Gráfico dos valores preditos versus os residuais para a % de degradação.	80
Figura 32 – Gráfico de superfície de resposta em função da estequiometria e tempo para a porcentagem de degradação.	81
Figura 33 – Gráfico de contorno em função da estequiometria do óxido e do tempo para a massa de (a) 0,1g (mínima), (b) 0,2g (intermediária) e (c) 0,3g (máxima) Resíduo médio quadrático = 1,782771.	82
Figura 34 – Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados para a percentagem de hemólise.	84
Figura 35 – Gráfico dos valores observados versus os preditos para a % de hemólise.	86
Figura 36 – Gráfico dos valores preditos versus os residuais para a % de hemólise.	86
Figura 37 – Gráfico de contorno em função da massa do óxido e do tempo para a estequiometria (a) SrZr _{0,75} Sn _{0,25} O ₃ , (b) SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃ e (c) SrZr _{0,25} Sn _{0,75} O ₃ . Resíduo médio quadrático = 0,308651.	88
Figura 38 – Gráfico de contorno em função da estequiometria do óxido e do tempo para a massa de (a) 0,1g, (b) 0,2g e (c) 0,3g. Resíduo médio quadrático = 0,308651.	89
Figura 39 – Gráfico de contorno em função da estequiometria e massa do óxido para o tempo de (a) 5h, (b) 9h e (c) 16h. Resíduo médio quadrático = 0,308651.	90
Figura 40 – Espectro de massas da MC-LR obtido no experimento 09 após a fotodegradação.	92
Figura 41 – Possível rota de fragmentação da MC-LR.	94
Figura 42 – Espectro de massas após a fotodegradação obtido no experimento 02.	131
Figura 43 – Espectro de massas após a fotodegradação obtido no experimento 09.	131
Figura 44 - Espectro de massas após a fotodegradação obtido no experimento 11.	131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Algumas variações das saxitoxinas.	23
Tabela 2 – Principais variantes da microcistina.	26
Tabela 3 – Principais gêneros de cianobactérias tóxicas.	30
Tabela 4 – Classificação típica dos sistemas de Processos Oxidativos Avançados.	39
Tabela 5 – Utilização dos Processos Oxidativos Avançados na degradação da cianotoxina microcistina.	41
Tabela 6 – Soluções utilizadas para preparo do meio de cultura ASM-1.	61
Tabela 7 – Fatores e Níveis estudados.	65
Tabela 8 - Matriz de planejamento Box Behnken codificada.	65
Tabela 9 – Descrição dos parâmetros utilizados na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas.	68
Tabela 10 – Frequências (cm^{-1}) das bandas dos espectros de Raman e designações para os sistemas modificados calcinados a 700 °C por 2 horas, onde: mfc – muito fraca; mft – muito forte; m – médio; fc – fraco; ft – forte.	74
Tabela 11 – Valores de “band gap” dos sistemas modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$	75
Tabela 12 - Matriz de planejamento Box Behnken decodificada.	76
Tabela 13 – Estimativa dos efeitos e erro padrão para a porcentagem de degradação. Erro puro = 1,782771.	78
Tabela 14 – Análise de variância para a resposta de porcentagem de degradação.	79
Tabela 15 – Estimativa dos efeitos e erro padrão para a porcentagem de hemólise. Resíduo médio quadrático = 0,308651.	83
Tabela 16 – Análise de variância para a resposta de porcentagem de hemólise.	85
Tabela 17 - Principais fragmentos sugeridos com sua respectiva m/z.	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Adda	3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8, trimetildeca-4,6-ácido dienóico
AOPs	<i>Advanced Oxidation Processes</i>
BC	Banda de Condução
BV	Banda de Valência
C	Nsulfocarbamoilgoniautoxina
CCT	Centro de Ciências e Tecnologia
CCBS	Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE-EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas
CYN	Cilindrospermopsina
dcneoSTX	Decarbamoilneosaxitoxinas
dcSTX	Decarbamoilsaxitoxinas
D-Ala	D-alanina
D-Glu	D-glutamato
D-MeAsp	D-eritro-β-metil aspártico
DOE	<i>Design of Experiments</i>
DRX	Difração de Raios x
e- / h +	Par Elétron-buraco
e _{bc} ⁻	Sítio Redutor
EFS	Extração em Fase Sólida
Eg	Energia de <i>Band Gap</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EM	Espectrometria de Massas
ETAS	Estação de Tratamento de Águas
ETES	Estação de Tratamento de Esgotos
EXTRABES	Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários
FE	Fase Estacionária
FM	Fase Móvel
GTX	Goniautoxinas
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
h _{bv} ⁺	Sítio Oxidante
HPLC-MS	<i>High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>

LAPECA	Laboratório de Pesquisa em Ciências Ambientais
LAQUISA	Laboratório de Química Sanitária e Ambiental
LPS	Lipopolissacarídeos
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
LWTX	Lyngbya Wollei
<i>m/z</i>	Massa-Carga
MC-LR	Microcistina-Leucina, Arginina
MCs	Microcistinas
Mdha	N-metildehidroalanina
neoSTX	Neosaxitoxina
NODs	Nodularinas
NOM	<i>Natural Organic Matter</i>
PP1	Fosfatase 1
PP2A	Fosfatase 2A
STX	Saxitoxinas
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UV	Ultravioleta
VMP	Valor Máximo Permitido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo Geral	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	Eutrofização nos ambientes lênticos	18
3.2	Cianobactérias e cianotoxinas	19
3.2.1	Classificação das cianotoxinas	21
3.2.1.1	Neurotoxinas	21
3.2.1.2	Dermatotoxinas	23
3.2.1.3	Citotoxinas	24
3.2.1.4	Hepatotoxinas	24
3.3	Teste de citotoxicidade da MC-LR através da atividade hemolítica	30
3.4	Legislação: padrões e limites na garantia da potabilidade da água no Brasil	30
3.5	Deteção e quantificação das cianotoxinas	32
3.5.1	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas	33
3.6	Métodos convencionais para a remoção de cianobactérias	36
3.7	Processos Oxidativos Avançados (AOPs)	38
3.7.1	Fotocatálise heterogênea	41
3.8	Fotocatalisadores	45
3.8.2	Método dos Precursores Poliméricos	49
3.9	Quimiometria	51
3.9.1	Planejamento e otimização de experimentos	52
3.9.1.1	Planejamento do tipo Box-Behnken	56
4	METODOLOGIA	59
4.1	Local de realização da pesquisa	59
4.2	Cultivo da <i>Microcystis aeruginosa</i>	59
4.3	Extração da MC-LR	61
4.4	Síntese dos óxidos modificados SrZr_xSn_{1-x}O₃	62
4.5	Caracterização das estruturas de SrZr_xSn_{1-x}O₃	64
4.5.1	Difração de Raios X	64

4.5.2	Espectroscopia de Raman	64
4.5.3	Espectroscopia de Absorção na Região do UV-Vis	64
4.5	Planejamento experimental	64
4.6	Degradação Fotocatalítica	66
4.7	Quantificação da microcistina-LR por HPLC-MS	68
4.8	Estudo da citotoxicidade da MC-LR	68
4.9	Avaliação estatística dos dados obtidos	69
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1	Caracterização do óxido.....	70
5.1.1	Difração de Raios-X.....	70
5.1.2	Espectroscopia Raman	71
5.1.3	Espectroscopia UV-Visível.....	74
5.2	Planejamento Box Behnken.....	76
5.2.1	Porcentagem de degradação da MC-LR pelo óxido modificado (dados obtidos por HPLC-MS)	76
5.2.2	Avaliação da citotoxicidade das soluções após a fotocatalise (testes de atividade hemolítica).....	83
5.3	Estudo dos subprodutos após a fotodegradação da microcistina-LR.....	91
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
7	PERSPECTIVAS.....	97
	REFERÊNCIAS	98
	APÊNDICE A – ESPECTROS DE MASSAS.....	131

1 INTRODUÇÃO

As atividades agrícolas e industriais, a descarga de efluentes domésticos sem o devido tratamento, além das mudanças climáticas, intensificaram nos últimos anos o processo de eutrofização nos mananciais (GEHRINGER e WANNICKE 2014). Este fenômeno está relacionado com o enriquecimento excessivo das águas por nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, tornando-se um problema de ordem mundial (ÁLVAREZ *et al.*, 2017; SABINO *et al.*, 2017) e uma preocupação especialmente para os países em desenvolvimento, já que possuem condições precárias de infraestrutura.

A região Nordeste do Brasil possui longos períodos de seca, sendo necessário o acúmulo de águas em reservatórios para o abastecimento da população. No entanto, devido as grandes evaporações e pelo acúmulo de poluentes ocorre o processo de eutrofização, causando as florações de fitoplâncton (SILVA, 2015).

A biomassa fitoplanctônica é constituída por “*blooms*” de cianobactérias, que produzem uma variedade de cianotoxinas, tais como hepatotoxinas, neurotoxinas, dermatotoxinas e citotoxinas que causam sérios problemas a saúde e alteraram a qualidade da água, ocasionando um sabor e odor desagradáveis, além de prejudicar todo o ecossistema aquático, os animais, bem como os seres humanos (CARMICHAEL, 1997; CHEUNG, LIANG, LEE, 2013; HEATHCOTE *et al.*, 2016; BUKOWSKA *et al.*, 2017).

Dentre as cianotoxinas mais estudadas, encontram-se as Microcistinas (MCs), que são hepatotoxinas heptapeptídicas cíclicas. Esta toxina é produzida principalmente pela *Microcystis aeruginosa*, entretanto outras espécies de cianobactérias também contribuem para a presença das MCs nos ambientes aquáticos, tais como *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Plankothrix*, *Chroococcus* e *Nostoc* (PEARSON *et al.*, 2010; MOREIRA *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2013).

As microcistinas são compostas por sete aminoácidos, sendo cinco fixos e dois variáveis, totalizando aproximadamente 100 diferentes tipos desta cianobactéria, sendo a mais tóxica a Microcistina-Leucina, Arginina (MC-LR). Esta endotoxina fica no interior das células bacterianas, entretanto são liberadas pela senescência e lise celular, ficando dissolvidas nas águas dos reservatórios (ALTANER *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2009).

Segundo Carmichael (2001), um caso de grande repercussão no Brasil envolvendo as microcistinas, principalmente a variante LR, está relacionado à morte por hepatite tóxica de aproximadamente 50 pessoas em uma clínica de hemodiálise em Caruaru-PE. Assim, o Ministério da Saúde do Brasil, através da Portaria N° 2914/2011 estabeleceu um valor máximo aceitável de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ de MC-LR em água para consumo humano (BRASIL, 2011).

Apesar dos esforços das Estações de Tratamento de Água e Esgotos (ETAS e ETES) para garantir a potabilidade da água a partir de métodos convencionais, tais como a coagulação ou floculação, sedimentação, filtração em areia e desinfecção, os mesmos não têm sido completamente suficientes, pois conseguem eliminar apenas as toxinas dissolvidas. Além disto, estas técnicas podem promover a lise celular, contribuindo para o aumento da concentração de MC-LR nas águas de abastecimento (MOHAMED, 2016).

A presença de toxinas nos reservatórios de água ameaça seriamente a qualidade da água potável, bem como representa um grande risco para toda população abastecida, sendo imprescindível o desenvolvimento de novas metodologias que possam substituir ou complementar a ação daquelas já utilizadas pelas ETAS e ETES e que sejam mais eficazes na remoção da MC-LR. Nesse sentido, diversas tecnologias têm sido desenvolvidas para remoção de poluentes orgânicos e cianotoxinas das águas de abastecimento, como a utilização dos Processos Oxidativos Avançados (AOPs, do inglês *Advanced Oxidation Processes*) (HAN *et al.*, 2017), carvão ativado (SILVA *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2017) e membranas de filtração (KOHLENER *et al.*, 2014).

Dentre as metodologias empregadas, os AOPs têm se destacado no desenvolvimento de tecnologias para o tratamento de águas residuais, sendo a sua eficiência dependente da geração de radicais livres reativos, sendo o mais importante o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), que possui um poder de oxidação ($E^{\circ} = +2,80 \text{ eV}$), podendo iniciar a reação em cadeia. Os AOPs podem ser classificados de acordo com a fase do catalisador em homogênea ou heterogênea, bem como através da presença ou ausência de radiação Ultravioleta (UV), gerando produtos não tóxicos como dióxido de carbono (CO_2), água (H_2O) e sais inorgânicos (PIGNATELLO, OLIVEROS e MACKAY, 2006; SHIN, YOON e JANG, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2016).

Os catalisadores heterogêneos utilizam além da radiação UV, semicondutores geralmente na fase sólida. Dentre estes, destacam-se os óxidos mistos inorgânicos com estrutura ABO_3 , denominados de perovskitas, que tem sido muito utilizado em pesquisas, pois apresentam rendimentos satisfatórios nos processos de degradação de poluentes orgânicos, como por exemplo a microcistina-LR (SUN, LIU e LI, 2011).

No entanto, para avaliar a capacidade de fotocatalítica dessas perovskitas quanto a degradação de poluentes orgânicos, é necessário otimizar alguns fatores, sendo a utilização do planejamento experimental extremamente útil. Esta ferramenta quimiométrica é baseada em abordagem estatística e permite avaliar a influência das variáveis de forma independente, bem como as suas interações, o que reduz custos e possibilita a obtenção de resultados mais confiáveis (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2001).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- ✓ Avaliar a performance fotocatalítica dos óxidos modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ quanto a degradação da microcistina-LR em águas de abastecimento utilizando planejamento do tipo Box Behnken.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Sintetizar os óxidos modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$;
- ✓ Caracterizar as propriedades fotocatalíticas dos óxidos modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$;
- ✓ Avaliar a degradação da microcistina-LR utilizando as perovskitas modificadas;
- ✓ Otimizar os fatores experimentais utilizando planejamento experimental;
- ✓ Avaliar de forma simultânea os fatores que contribuem para a fotodegradação da MC-LR e porcentagem de hemólise do produto de degradação MC-LR a partir do planejamento Box Behnken;
- ✓ Determinar quais as melhores condições para a remoção e para a diminuição toxicidade do produto de degradação MC-LR em águas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Eutrofização nos ambientes lênticos

O acesso a água potável é indispensável para a sobrevivência de todos os organismos vivos na terra, especialmente os seres humanos. Entretanto, nos últimos anos este recurso natural tornou-se cada vez mais limitado, já que os reservatórios de água tem sido continuamente poluído por substâncias antrópicas e através de insumos de nutrientes, levando a um processo denominado de eutrofização (CONTARDO-JARA, KUEHN e PFLUGMACHER, 2015).

A eutrofização é um problema ambiental causado pelo enriquecimento dos ecossistemas aquáticos por nutrientes, principalmente compostos nitrogenados e fosforados que levam ao crescimento excessivo de algas e outras plantas aquáticas. Este fenômeno pode causar sérios riscos à saúde da população abastecida pela água contaminada e tem se tornado um problema de escala mundial, principalmente em países em desenvolvimento (DAVIDSON *et al.*, 2014; PAERL, HALL e CALANDRINO, 2011).

Em geral, o processo de eutrofização pode ser classificado como natural ou artificial. O primeiro ocorre muito lentamente com o tempo, enquanto o segundo, acontece de maneira mais rápida, já que é impulsionado por atividades antropogênicas, isto é, através dos esgotos domésticos, efluentes industriais e atividades agrícolas que proporcionam a poluição e o acúmulo de nutrientes nos reservatórios (MEREL *et al.*, 2013; BOUHADDADA *et al.*, 2016).

A região semiárida do Brasil apresenta poucas chuvas e longos períodos de secas com altas temperaturas. Assim, torna-se necessário o armazenamento de água em ambientes denominados lênticos (açudes) para o abastecimento da população, porém estes reservatórios estão se tornando cada vez mais eutróficos devido à presença de nutrientes, bem como devido ao aumento de sua concentração ocasionada pelas altas taxas de evaporação (COSTA, ATTAYDE e BECKER, 2015; BRASIL *et al.*, 2016).

A eutrofização leva a diminuição na qualidade da água dos ambientes lênticos, ocasionando consequências ecológicas e socioeconômicas, já que afeta todo ecossistema aquático. Esse fenômeno desencadeia várias alterações e pode causar o aumento na floração das algas verdes-azuladas, também chamadas de cianobactérias, que produzem potentes toxinas prejudiciais à saúde humana e apresentam pouca transparência com um odor e sabor desagradável (HADJISOLOMOU *et al.*, 2018; IGNATIADES e GOTSIS-SKRETAS, 2010; HUANG *et al.*, 2018).

3.2 Cianobactérias e cianotoxinas

De acordo com Selim *et al.* (2018); Nada *et al.* (2012), as cianobactérias são seres procariontes com maioria fototróficas aeróbicas que evoluíram a partir da fotossíntese oxidativa, cerca de 2,7 bilhões de anos e são responsáveis pela produção de 10% do total da fotossíntese do planeta, posteriormente essa habilidade foi transmitida para os eucariotos através da endossimbiose, o qual originou a plastídios, organelas que desempenham o papel da fotossíntese, em plantas e algas (HOHMANN-MARRIOTT e BLANKENSHIP, 2011).

As cianobactérias são organismos procariontes fotossintetizantes gram-negativos e constituem uma diversidade morfológica, fazendo parte do domínio *Bacteria* e do grupo das eubactérias. Esses organismos primitivos conseguem se adaptar facilmente a diferentes condições ambientais, bem como se protegem de maneira eficaz contra vários estresses abióticos e a versatilidade metabólica, crescendo em diferentes tipos de ambientes, sejam terrestres ou aquáticos (PANDEY, 2015).

Conforme afirma Singh *et al.* (2011), a classe das cianobactérias tem muitos nomes, tais como cianofitos, cianoprocariontes e bactérias verdes-azuladas. Todos esses nomes são derivados e estão relacionados a presença do pigmento c-ficocianina de cor azul-verde, utilizado no processo de fotossíntese. Estas algas azuis compreendem aproximadamente mais de 2.000 espécies identificadas em 150 gêneros, os quais cerca de 40 conseguem produzir as cianotoxinas que representam um grande risco a saúde humana (APELDOORN *et al.*, 2007). As cianofíceas podem apresentar de forma unicelular, colonial e filamentosas e seu tamanho pode variar conforme a espécie entre 0,5-1 μm com um diâmetro de 40 μm , já os seus filamentos podem atingir mais de 15 μm (SINGH *et al.*, 2011; SILVA, 2015).

Algumas espécies de cianobactéria podem conter estruturas especiais chamadas de heterocistos, que são formados na ausência do nitrogênio, principalmente nos ambientes aquáticos e permitem a sua sobrevivência. Além disso, várias espécies possuem uma proteína granular, denominada de cianoficina que funciona como uma reserva de energia, sendo produzida como produto do armazenamento do nitrogênio, logo quando esse se torna deficiente no ambiente, essa proteína é clivada e utilizada (YUSOF *et al.*, 2017; SHIVELY *et al.*, 2009).

Para Viličić (1989), o desenvolvimento dessas algas verdes-azuladas depende da concentração de nutrientes e de fatores ambientais, tais como: temperatura, luz, circulação da água, quantidade, composição de matéria orgânica e salinidade. Assim, Heisler *et al.* (2008), afirma que haverá um surto de florações ou “*booms*” destes seres procarióticos, quando os ambientes lenticos forem expostos a temperatura da água e do ar, radiação e outras condições.

O aumento da biomassa fitoplanctônica é um grande problema, já que as cianobactérias podem afetar de diferentes maneiras, (1) alterando as condições físicas e químicas da água, como por exemplo a disponibilidade de oxigênio e a transparência; (2) modificando as interações entre os organismos presentes no ecossistemas aquático contaminado, como peixes, mariscos, zooplâncton e macrófitas, e (3) produzindo potentes cianotoxinas que podem prejudicar a saúde dos seres humanos de diferentes formas, bem como afetar o desenvolvimento dos animais aquáticos (LI *et al.*, 2013; WHITTON e POTTS, 2012; EISENHUT *et al.*, 2008; CHEUNG, LIANG e LEE, 2013; PAERL e HUISMAN, 2009).

Para Chlipala, Mo e Orjala (2011) e Wang *et al.* (2017), o grupo dos metabólitos secundários de cianobactérias possuem uma diversidade de moléculas, como ácidos graxos, peptídeos, terpenóides, porfinóides, alcalóides e policetídeos, no entanto não se limitam apenas as estes constituintes. Foi verificado que muitos destes compostos podem atuar como anti-inflamatórios, antimicrobianos, antivirais, anticancerígenos e inibidores da protease.

Segundo Merel *et al.* (2013), a biomassa fitoplanctônica conseguem se desenvolver em um curto período de tempo. Os autores, afirmam que as florações de cianobactérias são monodispostas, podendo formar camadas de células na superfície dos reservatórios. Somasse a isto, os fatores ambientais também conseguem controlar as florações e as intoxicações humanas dependem da capacidade das cepas individuais de realizar a biossíntese de cianotoxinas, ocasionando uma maior exposição a esses metabolitos nocivos.

Segundo Walls *et al.* (2018), apesar das cianotoxinas representarem uma ameaça para a qualidade da água e a saúde, os mecanismos que regularam a sua liberação a partir das cianobactérias são poucos conhecidos. No entanto estudos mostram que a irrigação de plantas a partir de água contaminada pelas cianotoxinas, além de inibir o crescimento destas, também pode ocasionar intoxicação dos seres humanos através da cadeia alimentar (PHAM e UTSUMI, 2018 , CORBEL, MOUGIN e BOUAÏCHA, 2014).

Os seres humanos estão expostos as cianotoxinas por diversas vias, como contato com a água por atividades de recreação, ingestão de forma acidental ou através das águas de abastecimento, pois estas podem estar fora dos padrões exigido pela legislação, além do consumo de alimentos contaminados, como peixes e vegetais, já que as cianotoxinas podem ser bioacumuladas e não é verificado diariamente a presença de toxinas, principalmente nos animais aquáticos, (BURATTI *et al.*, 2017).

As cianotoxinas constituem um grupo de compostos estruturalmente muito diversificado, sendo produzidas pelas cianobactérias, provenientes do processo de eutrofização, e através do produto do metabolismo secundário destas que são sintetizadas por via não

ribossômica, o qual não é utilizado no metabolismo primário (CARMICHAEL, 1992; PEARSON *et al.*, 2008).

As cianotoxinas são um importante grupo de compostos químicos, do ponto de vista da Química Ambiental, toxicologia e ecotoxicologia. Nesse sentido, dependendo da concentração de toxinas nos reservatórios de águas, podem causar uma intoxicação grave, ocasionar doenças crônicas graves, como por exemplo o câncer e até levar à morte (BLÁHA, BABICA e MARŠÁLEK, 2009).

3.2.1 Classificação das cianotoxinas

As cianotoxinas podem ser classificadas de acordo com sua toxicidade, estrutura química e mecanismo de ação, dentro de quatro categorias: neurotoxinas, dermatotoxinas, citotoxinas e hepatotoxinas (CARMICHAEL, 2001; PEARSON *et al.*, 2010).

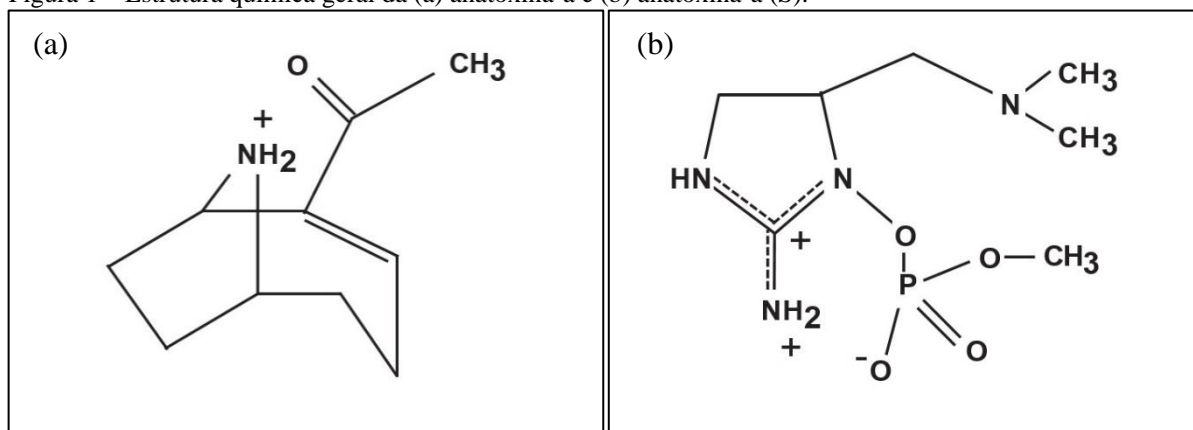
3.2.1.1 Neurotoxinas

As neurotoxinas são alcalóides que atuam no sistema neuromuscular, causando paralisia dos músculos respiratórios e inibindo a transmissão dos impulsos nervosos. O contato com esta toxina pode levar à morte rapidamente (dentro de 2 a 30 minutos) por insuficiência respiratória, conforme bioensaios realizados com camundongos. Ocorrências em massa das neurotoxinas foram registradas na América do Norte, Austrália e Europa (CHORUS e BARTRAM, 1999).

As neurotoxinas são produzidas principalmente por cianobactérias dos gêneros: *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Aphanizomenon*, *Lyngbya*, *Cylindrospermopsis* e *Planktothrix* (KAEBERNICK e NEILAN, 2001). As espécies produzidas por esses gêneros e as mais estudadas são: anatoxina-a, anatoxina-a (S), saxitoxinas (STX).

A anatoxina-a é um potente alcalóide que impede a entrada de oxigênio no cérebro por meio da inibição do canal de sódio que bloqueia a transmissão dos impulsos nervosos. A anatoxina-a (S) é um éster metílico de fosfato de guanidina que evita a degradação da acetilcolina ligada aos receptores através da inibição da colinesterase. O “S” de sua nomenclatura estar relacionado a hipersalivação mucóide viscosa, observada em testes *in vivo* com camundongos, este sintoma é típico desta cianotoxinas (CAGIDE *et al.*, 2014; CARMICHAEL, 2001; TESTAI *et al.*, 2016). A Figura 1 apresenta a estrutura química da anatoxina-a e anatoxina-a (S).

Figura 1 – Estrutura química geral da (a) anatoxina-a e (b) anatoxina-a (S).

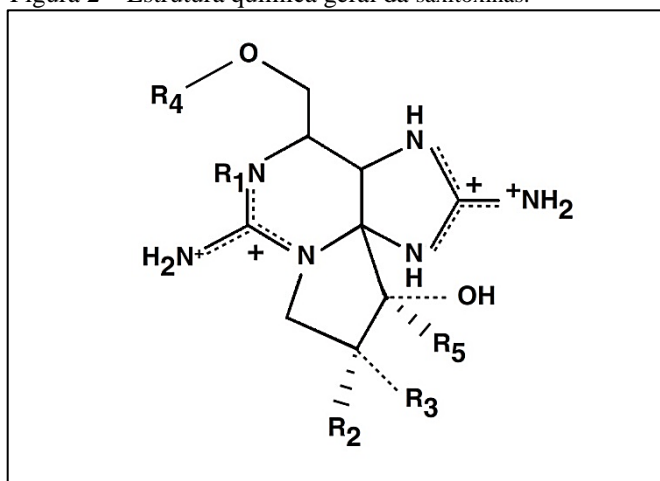


Fonte: Merel *et al.* (2013)

As saxitoxinas (STX), também conhecidas como toxinas do marisco paralítico são alcalóides compostos por grupos de carbamatos e decarbamoil, sendo produzidas por dinoflagelados de água doce e por algumas cepas de cianobactérias. Esta toxina atua no sistema neuromuscular, pois tem uma alta afinidade para se ligar a canais de sódio, bloqueando o fluxo desses íons na célula, levando a inibição dos canais de propagação nos potenciais da ação nas membranas excitáveis. Estudos tem sido realizados em relação a STX, pois pode ocasionar sérios riscos a saúde humana, a partir de consumo de mariscos contaminados (DURÁN-RIVEROLL e CEMBELLA, 2017; SUK *et al.*, 2016).

As STX são encontradas em menor quantidade em relação as hepatotoxinas, sendo mais localizadas na Austrália através da cepa da *Anabaena circinalis*, produtora desta toxina (D'AGOSTINO *et al.*, 2014). Entretanto, no Brasil reservatórios de água potável têm sido contaminados por florações da cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii*, produtora da STX (DIEHL *et al.*, 2016). A estrutura química geral para as STX é apresentada na Figura 2.

Figura 2 – Estrutura química geral da saxitoxinas.



Fonte: Merel *et al.* (2013)

As STX podem ser classificados estruturalmente em várias classes como, descarbamilados, dissulfatados, não-sulfatados, mono-sulfatados e hidrofóbicos, que possuem diferenças quanto ao grau de toxicidade (WIESE *et al.*, 2010). As principais variantes das saxitoxinas são apresentadas na Tabela 1, as quais destacam-se: Goniautoxinas (GTX), N-sulfocarbamoilgoniautoxina (C) Neosaxitoxina (neoSTX), Decarbamoilneosaxitoxinas (dcneoSTX), Decarbamoilsaxitoxinas (dcSTX) e Lyngbya Wollei (LWTX) (TERRAZAS, CONTRERAS e GARCÍA, 2017).

Tabela 1 – Algumas variações das saxitoxinas.

Variante	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅
STX	H	H	H	CONH ₂	OH
GTX2	H	H	OSO ₃ ⁻	CONH ₂	OH
GTX3	H	OSO ₃ ⁻	H	CONH ₂	OH
GTX5	H	H	H	CONHSO ₃ ⁻	OH
C1	H	H	OSO ₃ ⁻	CONHSO ₃ ⁻	OH
C2	H	OSO ₃ ⁻	H	CONHSO ₃ ⁻	OH
C3	OH	H	OSO ₃ ⁻	CONHSO ₃ ⁻	OH
C4	OH	OSO ₃ ⁻	H	CONHSO ₃ ⁻	OH
neoSTX	OH	H	H	CONH ₂	OH
GTX1	OH	H	OSO ₃ ⁻	CONH ₂	OH
GTX4	OH	OSO ₃ ⁻	H	CONH ₂	OH
GTX6	OH	H	H	CONHSO ₃ ⁻	OH
dcSTX	H	H	H	H	OH
dcneoSTX	OH	H	H	H	OH
dcGTX1	OH	H	OSO ₃ ⁻	H	OH
dcGTX2	H	H	OSO ₃ ⁻	H	OH
dcGTX3	H	OSO ₃ ⁻	H	H	OH
dcGTX4	OH	OSO ₃ ⁻	H	H	OH
LWTX1	H	OSO ₃ ⁻	H	COCH ₃	H
LWTX2	H	OSO ₃ ⁻	H	COCH ₃	OH
LWTX3	H	H	OSO ₃ ⁻	COCH ₃	OH
LWTX4	H	H	H	H	H
LWTX5	H	H	H	COCH ₃	OH
LWTX6	H	H	H	COCH ₃	H

Fonte: Merel *et al.* (2013)

3.2.1.2 Dermatotoxinas

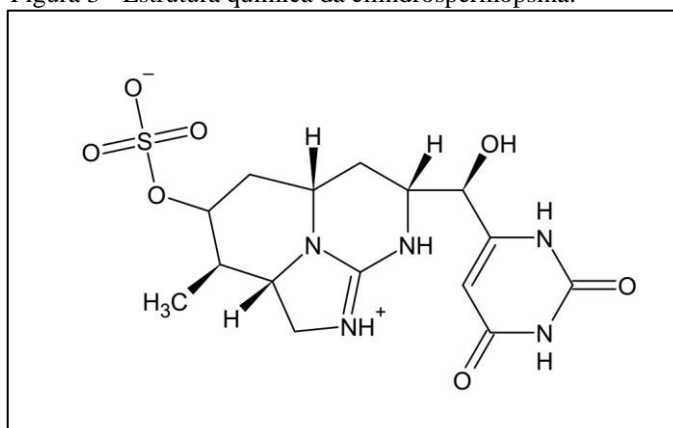
As bactérias Gram-negativas e cianobactérias possuem Lipopolissacarídeos (LPS) que integram as membranas externas de suas células e podem ser liberadas para o meio. As moléculas de LPS são também chamadas de endotoxinas, toxinas irritantes e dermatotoxinas, pois possuem propriedades inflamatórias e dermatológicas. Quando em contato com a pele ou ingerida em por meio de águas contaminadas podem causar vários sintomas, como doenças de

pele, problemas gastrointestinais, febre, alergia, dor de cabeça, problemas respiratórios e junto com as hepatotoxinas pode aumentar os danos hepáticos (DURAI, BATOOL e CHOI, 2015; RAPALA *et al.*, 2002; ZANCHETT e OLIVEIRA-FILHO, 2013).

3.2.1.3 Citotoxinas

As citotoxinas são produzidas por diversos gêneros de cianobactérias tais como *Cylindrospermopsis raciborskii*, produtora da principal espécie de cianotoxina, a Cilindrospermopsina (CYN), que vem sendo muito estudada devido ao aumento de florações desta cepa. A CYN é um alcalóide que pode causar danos no fígado e outros órgãos do corpo humano, além de inibir a síntese de proteínas eucarióticas e da glutatona. (CARMICHAEL e BOYER, 2016; LÓPEZ-ALONSO *et al.*, 2013; PICHARDO, CAMEÁN e JOS, 2017; GARDA *et al.*, 2015). A Figura 3 apresenta a estrutura química da cilindrospermopsina.

Figura 3 - Estrutura química da cilindrospermopsina.



Fonte: Adaptado de Woodhouse, Rapadas e Neilan (2014)

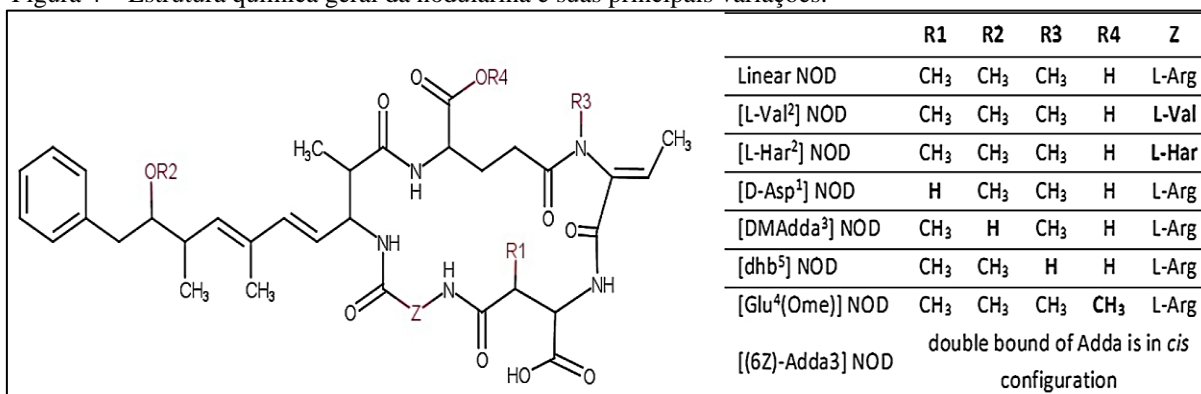
3.2.1.4 Hepatotoxinas

As hepatotoxinas são as cianotoxinas mais estudadas, devido à sua estabilidade, enorme produção de suas cepas nos últimos anos pelos reservatórios de água e o efeito que pode causar em diversos órgãos do corpo (NYBOM, 2012; CARMICHAEL, 1994). As hepatotoxinas já causaram mortes de animais e de seres humanos em várias partes do mundo, sendo relatados casos na China, Austrália, Índia e Brasil (KAEBERNICK e NEILAN, 2001). As Nodularinas (NODs) e as Microcistinas (MCs) são as hepatotoxinas mais encontradas e estudadas dentro este grupo (GEHRINGER e WANNICKE, 2014)

As NODs são um grupo de hepatotoxinas penta-peptídica cíclica produzida principalmente pela cianobactéria de espécie *Nodularia spumigena* em águas doces e salobras (AKTER *et al.*, 2017; RASTOGI, SINHA e INCHAROENSAKDI, 2014). Até o momento cerca de dez variações de NODs foram identificadas, sendo diferenciadas de acordo com o grau de metilação, aminoácidos envolvidos ou isomeração, sendo a mais abundante nos ambientes aquáticos, a nodularina-R (CHEN, SHEN e FANG, 2013).

A toxicidade da NODs está relacionada com a inibição das proteínas Fosfatase 1 (PP1), 2A (PP2A), que leva a uma modificação na Glutathione S-transferase (WIEGAND e PFLUGMACHER, 2005). Nenhuma intoxicação humana foi relatada com a NODs, logo nenhuma portaria foi proposta pelos órgãos de saúde afim de garantir a potabilidade da água pelas estações de tratamento quanto a esta hepatotoxina, já que falta dados toxicológicos adequados (MEREL *et al.*, 2013). A estrutura química padrão da nodularina, bem como suas principais variações são apresentadas na Figura 4.

Figura 4 – Estrutura química geral da nodularina e suas principais variações.

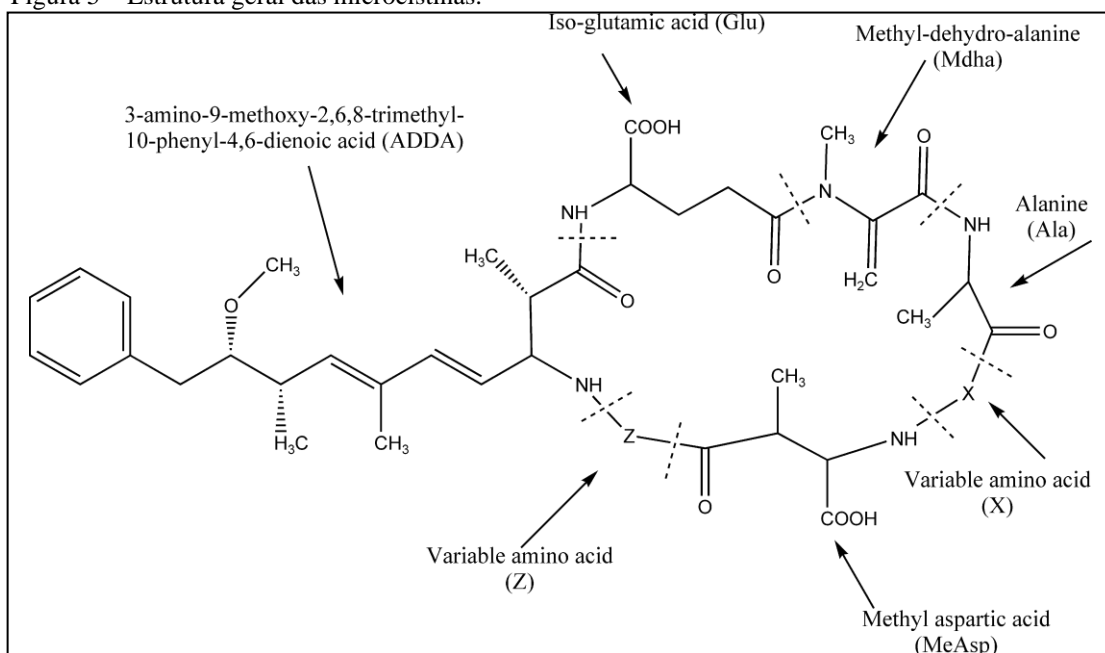


Fonte: Buratti *et al.* (2017)

As microcistinas são hepatotoxinas compostas por um grupo de heptapeptídeos cíclicos que apresentam uma extrema estabilidade e resistências a hidrólise química, oxidação em pH próximo da neutralidade, podendo persistir durante meses em águas naturais e na ausência de luz (SHARMA *et al.*, 2012; ZASTEPA, PICK e BLAIS, 2014).

As microcistinas é constituída por uma estrutura química de sete aminoácido: D-alanina (D-Ala), D-eritro-β-metil aspártico (D-MeAsp), D-glutamato (D-Glu), L-aminoácidos variáveis (localizados nas posições X e Y na molécula da figura 5), N-metildehidroalanina (Mdha) e 3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8, trimetil-deca-4,6-ácido dienóico (Adda), sendo este último o responsável pelo caráter tóxico da molécula (FERREIRA e OLIVEIRA, 2016). A Figura 5 apresenta a estrutura geral das microcistinas.

Figura 5 – Estrutura geral das microcistinas.



Fonte: Sharma *et al.* (2012)

As microcistinas possuem variações em sua estrutura química, as quais são indicadas em sua nomenclatura, sendo mais frequente ocorrerem nas posições dois e quatro, a partir dos L-aminoácidos substituídos e a desmetilação em três e sete (FONTANILLO e KÖHN, 2018). Existem mais de 100 análogos das microcistinas identificadas até o momento, sendo a MC-LR (leucina-arginina) a mais predominante nos ambientes aquáticos (BURATTI *et al.*, 2013; SIVONEN e JONES, 1999). A Tabela 2 apresenta as variantes de microcistina mais estudadas, bem como a sua razão massa carga característica.

Tabela 2 – Principais variantes da microcistina.

Variante	Posição X	Posição Y	m/z
MC-LA	Leucina	Alanina	910
MC-LL	Leucina	Leucina	952
MC-AR	Alanina	Arginina	953
MC-YA	Tirosina	Alanina	960
MC-LM	Leucina	Metionina	970
MC-VF	Valina	Fenilalanina	972
MC-YM	Tirosina	Metionina	972
MC-LF	Leucina	Fenilalanina	986
MC-LR	Leucina	Arginina	995
MC-LY	Leucina	Tirosina	1002
MC-LW	Leucina	Homo-tirosina	1025
MC-FR	Fenilalanina	Arginina	1029
MC-RR	Arginina	Arginina	1038
MC-YR	Tirosina	Arginina	1045
MC-WR	Homo-tirosina	Arginina	1068

Fonte: Adaptado de Silva-Stenico *et al.* (2009)

Um dos aspectos relevantes na estrutura das microcistinas é o aminoácido Adda, que embora sozinho não seja tóxico, a hidrofobicidade e estereoquímica desempenham um papel importante em sua atividade biológica (ANTONIOU *et al.*, 2008). Entretanto, a porção Adda é um dos mais importantes no que se refere a toxicidade da microcistina, logo a alteração em sua estrutura química torna-se um passo fundamental para diminuição ou inibição de seu efeito toxicológico (ANDERSEN *et al.*, 2014).

As microcistinas não conseguem atravessar as membranas sem o auxílio dos transportadores de ácidos biliares. Assim, sua entrada nos hepatócitos (células do fígado) causa inibição das enzimas fosfatases 1 e 2A com uma hiperfosforilação das proteínas e desorganização do citoesqueleto. Esta desordem ocasiona uma retração dos hepatócitos e conseqüentemente dos capilares, aumentando os espaços entre as células, ao mesmo passo que o sangue passa a fluir pelos espaços formados, o que provoca a hemorragia hepática e as lesões teciduais (PEGRAM *et al.*, 2008; JI *et al.*, 2011).

O efeito tóxico das microcistinas é marcado pela morte que ocorre entre uma e três horas em ratos de laboratórios e camundongos (SCHMIDT, WILHELM e BOYER, 2014). Apesar do fígado ser o principal órgão afetado, outros merecem destaque, tais como: o rim, coração, pele e cérebro (RASTOGI, SINHA e INCHAROENSAKDI, 2014). As microcistinas, principalmente a variante do tipo LR são potentes agentes iniciadores e promotoras e de tumores no fígado (ZHOU *et al.*, 2013).

A primeira identificação química das microcistinas foi realizada por Bishop, Anet e Gorham (1959), que a isolaram a partir da cepa denominada *microcystin aeruginosa*, originando seu nome. A nomenclatura das microcistina foi proposta por Carmichael *et al.* (1988) e baseia-se nos L-aminoácidos variáveis em sua estrutura.

O primeiro caso comprovado de microcistinas no Brasil, ocorreu em junho de 1988 em um lago eutrofizado na cidade de São Paulo-SP, o qual foi possível coletar e isolar a espécie de cianobactéria *microcystin aeruginosa* a partir da floração. Observou-se que a cepa desta cianobactéria produzia duas variantes de microcistinas, a LR e LF, sendo a última uma descoberta até então desconhecida pelos pesquisadores (AZEVEDO *et al.*, 1994).

As microcistinas estão localizadas dentro das células de cianobactérias e a liberação desta toxina para o meio ambiente depende de alguns fatores, que em conjunto contribuem para a ocorrência da lise celular (ruptura da célula bacteriana), no entanto a senescência (idade da célula) é outro fator importante para o aumento da concentração desta toxina nos ambientes léticos (FERREIRA e OLIVEIRA, 2016; MILLER *et al.*, 2017).

Ao se dissolver na água, as cianotoxinas podem ser bioacumuladas ao longo dos níveis tróficos da cadeia alimentar (CASTRO e MOSER, 2012). Estudos evidenciam que os mariscos, mexilhões, ostras, peixes e outros animais aquáticos podem acumular altas concentrações de toxinas em seus tecidos, tornando-se um sério risco a saúde humana, já que pode ocorrer a biomagnificação da cadeia trófica (FARABEGOLI *et al.*, 2018; PAVAGADHI e BALASUBRAMANIAN, 2013; CASTRO e MOSER, 2012).

Segundo revelam Ferrão-Filho, Herrera e Echeverri (2014), a bioacumulação de microcistinas em animais aquáticos ocorre através de duas principais rotas: o consumo das células bacterianas durante as florações e a ingestão de água contaminada pelas toxinas dissolvidas. Em sua pesquisa, os autores utilizaram três espécies de cladóceros: *Moina micrura*, *Daphnia laevis* e *Daphnia similis*, os quais foram expostos por 96 horas a extratos aquosos de matéria liofilizada de florações em diferentes concentrações. Os resultados mostraram que a captura de microcistinas pelos zooplâncton foram diretamente proporcionais à concentração dos extratos aquosos, mostrando, portanto, que a ingestão de água contaminada a partir da dissolução da toxina é também um fator determinante para bioacumulação.

De acordo com Bittencourt-Oliveira *et al.* 2014, as plantas também podem sofrer efeitos adversos quando expostas as microcistinas, já que possuem as enzimas proteicas fosfatases PP1 e PP2A. Os autores ainda revelam, que ao absorver as cianotoxinas, normalmente as plantas aquáticas reduzem a sua biomassa, enquanto nas plantas terrestres, outros efeitos são observados, como o estresse oxidativo, redução das fosfatases 1 e 2A, diminuição no processo de fotossíntese e até apoptose celular, além da bioacumulação das toxinas em seus tecidos.

Dao *et al.* (2014) utilizaram em seus estudos três espécies de plantas terrestres em contato com as microcistinas, a *Brassica rapa-chinensis* (repolho chinês), *B. Narinosa* (tatsoi) e *Nasturtium officinale* (agrião). Os autores verificaram bioacumulação, redução de peso, raiz e comprimento de brotação das plântulas, além de anormalidade nas folhas, alteração de cor na espécie de repolho chinês.

No Brasil, o primeiro relato de intoxicação envolvendo as microcistinas ocorreu no ano de 1988, quando 2.000 pessoas desenvolveram quadro clínico de gastroenterite depois de ingerir água contaminada pelas cianobactérias *Anabaena* e *Microcystis*, presentes no reservatório de Itaparica, no estado da Bahia. Esta tragédia resultou na morte de 88 pessoas e estudos posteriores mostraram a correlação entre a floração de cianobactérias e os óbitos dos pacientes (TEIXEIRA *et al.*, 1993).

Em fevereiro de 1996, mais de 100 pacientes renais crônicos após submeter a sessões de hemodiálise em uma clínica, localizada em Caruaru, no estado de Pernambuco apresentaram

um quadro clínico de hepatotoxicidade subaguda, os sintomas incluíam, náusea, fraqueza muscular, vômito e distúrbios visuais. Dez meses depois, 52 mortes foram atribuídas a esta tragédia que ficou conhecida como "Síndrome de Caruaru". Estudos posteriores a partir de análises de carbono e outras resinas do sistema de tratamento de água da clínica e dos tecidos séricos e hepáticos dos pacientes, mostraram a presença de dois tipos de cianobactérias, as microcistinas (YR, LR e AR) e cilindrospermopsina (AZEVEDO *et al.*, 2002).

As florações de cianobactérias e a consequente formação de compostos tóxicos são relatados em vários reservatórios eutróficos em todo mundo (RASTOGI, SINHA e INCHAROENSAKDI, 2014). O gênero *Microcystis* é mais frequente em toda Ásia tropical, África e América Central, enquanto as cepas de *Cylindrospermopsis* e *Anabaena* são mais presentes em países da Austrália, América e África (MOWE *et al.*, 2015). No nordeste do Brasil, a ocorrência de *bloms* de cianobactérias tóxicas é comum em mananciais públicos e urbanos (MOURA, ARAGÃO-TAVARES e AMORIM, 2018).

Segundo Vasconcelos *et al.* (2011), no Brasil a ocorrência de florações de cianobactérias em reservatórios de água que abastecem a população em diversos estados. Na Paraíba a ocorrência de cepas tóxicas de cianobactérias tem aumentado nos últimos anos, dentre os vinte reservatórios do estado, em 2006 apenas 3% possuíam os *bloms* de cianobactérias, 20% em 2007, 45% em 2008, chegando a 62% em 2009. Os autores detectaram nos mananciais analisados a presença de espécies bacterianas, tais como: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Planktothrixagardii*, *Oscillatoria tenuíssima* e principalmente a *Microcystis aeruginosa*. Foi constatado ainda que entre os anos de 2008 e 2009, dos vinte reservatórios analisados no período de seca, a microcistina foi detectada em 55%, enquanto no período chuvoso apenas 20% da toxina estavam presentes nos mananciais.

Estudos realizados por Lins *et al.* (2016) entre os anos de 2007 e 2009 no reservatório Argemiro de Figueiredo (Acauã) localizado no estado da Paraíba, mostraram a dominância de cianobactérias filamentosas, principalmente no período seco e a presença de cianotoxinas, inclusive a microcistina-LR em 14 dos 16 eventos de floração. Os autores então concluíram que, a alta disponibilidade de nutrientes e as condições ambientais no período seco favorecem a proliferação de cianobactérias tóxicas e que a presença das microcistinas representam uma ameaça frequente a todo ecossistema aquático e a saúde humana.

No estado de Pernambuco foram investigados 19 reservatórios entre os anos de 2009 e 2010, os quais foram constatados a presença de cianobactérias em todos, totalizando 23 espécies identificadas, sendo *C. raciborskii* considerada a mais comum e a *Microcystis* a mais representativa, já que foi produzida por quatro espécies diferentes (*M. novacekii*, *M.*

panniformis, *M. protocystis* e *Microcystis sp*). Os autores também consideram a presença das toxinas nos reservatórios de água que abastecem a população um problema, já que é difícil de controlar a frequência, persistência e a biomassa das cianobactérias (ARAGÃO-TAVARES, MOURA e BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2013)

Em pesquisa realizada durante três anos, no período de 2009 e 2011 em quatro reservatórios do semiárido do Rio Grande do Norte, foi verificado que nas 128 amostras analisadas, 76% estavam com densidade de cianobactérias acima do permitido. Além disso, a quantificação da microcistina e saxitoxinas mostrou que 27% das amostras estavam fora dos padrões exigido pela legislação (FONSECA *et al.*, 2015). A Tabela 3 descreve os principais grupos de toxinas, os órgãos afetados e os principais gêneros de cianobactérias

Tabela 3 – Principais gêneros de cianobactérias tóxicas.

Grupo de toxinas	Órgão alvo primário em mamíferos	Gêneros cianobacterianos
Peptídeos cíclicos		
Microcistinas	Fígado	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix (Oscillatoria)</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Hapalosiphon</i> , <i>Anabaenopsis</i> .
Nodularina	Fígado	<i>Nodularia</i> .
Alcalóides		
Anatoxina-a	Sinapse do sistema nervoso	<i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix (Oscillatoria)</i> , <i>Aphanizomenon</i> .
Anatoxina-a(S)	Sinapse do sistema nervoso	<i>Anabaena</i> .
Aplisiatoxinas	Pele	<i>Lyngbya</i> , <i>Schizothrix</i> , <i>Planktothrix (Oscillatoria)</i> .
Cilindrospermopsinas	Fígado	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Umezakia</i> .
Lingbiatoxina-a	Pele, trato gastrointestinal	<i>Lyngbya</i> .
Saxitoxinas	Axônios nervosos	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> .
Lipopolissacarídeos (LPS)	Potencial irritante; afeta qualquer tecido exposto	Todos.

Fonte: Sivonen e Jones (1999)

Nesse sentido, devido ao alto poder toxicológico da MC-LR e sua presença nos reservatórios, especialmente nos períodos secos, torna-se necessário o estudo acerca da citotoxicidade desta cianobactéria. Tal investigação pode ser realizada, utilizando testes de atividade hemolítica que será melhor discutido a seguir.

3.3 Teste de citotoxicidade da MC-LR através da atividade hemolítica

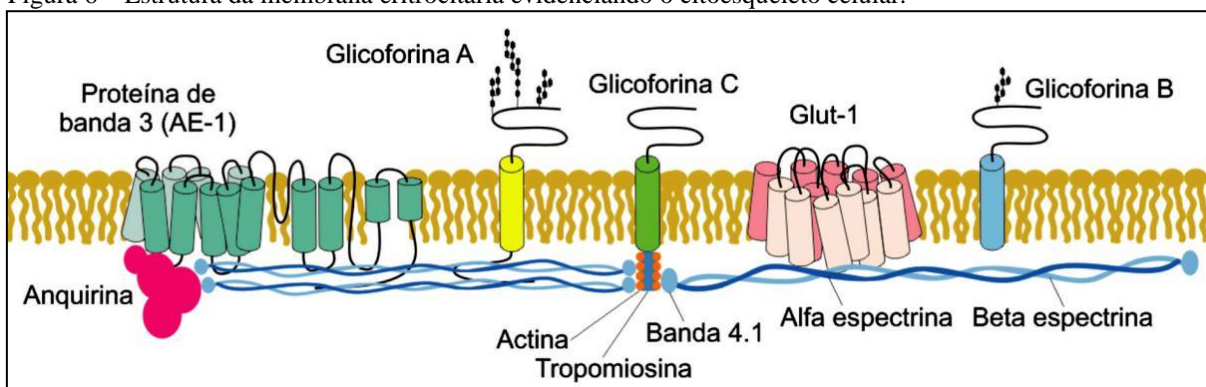
A citotoxicidade é caracterizada pela capacidade de um determinado composto químico, ocasionar a morte celular. Na avaliação são considerados o desarranjo da membrana, alterações

morfológicas, redução da função mitocondrial e mudanças na replicação celular (EISENBRAND *et al.*, 2002). Para estudar a toxicidade da MC-LR, pode-se usar testes com artêmias e de hemólise, entre outros. Neste trabalho optou-se por trabalhar como os testes de hemólise principalmente devido a estes utilizarem um baixo volume de amostra.

De acordo com Carvalho *et al.*, (2007), a hemólise é ocasionada devido a lise dos eritrócitos que levam a liberação da hemoglobina do plasma, podendo ocasionar danos nos rins e no coração. Esses processos hemolíticos liberam íons potássio no meio extracelular que levam a um aumento de sua concentração no corpo, podendo levar a morte.

A membrana eritrocítica é formada por uma estrutura delicada, composta por proteínas e lipídeos (figura 6) e pode ser significativamente alterada. As proteínas do citoesqueleto (anquirinas, bandas 4.1 e 4.2, beta e alfa espectrinas, actina, aducina, bandas 6 e 7, demantina) interagem com componentes que constituem a bicamada lipídica, sendo responsáveis pela flexibilidade, mobilidade, transporte das macromoléculas do eritrócito e deformabilidade (PINTO *et al.*, 2013; MURADOR, DEFFUNE, 2007).

Figura 6 – Estrutura da membrana eritrocitária evidenciando o citoesqueleto celular.



Fonte: Pinto *et al.*, (2013)

Para Sharma e Sharma (2001), a avaliação da citotoxicidade de um determinado composto é caracterizada pela estabilidade mecânica da membrana eritrocitária e fornece indícios para uma possível toxicidade *in vivo*, pois a presença de ácidos graxos polinsaturados em sua estrutura, torna-se susceptível a ataques de radicais livre, ocasionando várias alterações na sua estrutura, tais como a redução da deformabilidade, mudanças na morfologia, formação de lipoperóxidos, fragmentação de proteínas e hemólise (SADHU, WARE, GRUSHAN, 1992; SATO *et al.*, 1995; BEGUM, TERAQ, 2002).

Segundo Firmino (2007), a hemoglobina é liberada devido a um estresse da célula que levam a hemólise, essa proteína pode ser quantificada por meio de leitura espectrofotométrica no comprimento de onda 540 nm, sendo a absorbância medida proporcional a quantidade de proteínas presente na solução.

3.4 Legislação: padrões e limites na garantia da potabilidade da água no Brasil

O acidente de 1996 na clínica de hemodiálise em Caruaru-PE, levantou à época uma grande preocupação acerca do monitoramento de cianobactérias nos reservatórios de água. Nesse sentido, aproximadamente quatro anos depois o Ministério da Saúde no Brasil publicou a portaria nº 1469 de 29 de dezembro de 2000, posteriormente substituídas pelas portarias nº 518 de 25 de março de 2004 e a nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011).

A portaria nº 2.914/2011 é a mais recente e estabelece procedimentos de controle e vigilância na qualidade da água potável, bem como seu padrão para consumo humano. O documento faz várias exigências, entre elas recomenda o monitoramento do manancial com frequência mensal quando a densidade de cianobactérias for inferior ou igual a 10 células.L⁻¹ e semanal quando exceder a 20 células.L⁻¹. Atualmente o Valor Máximo Permitido (VMP) para o consumo das águas pelos seres humanos é de 1,0 µg/L para as microcistinas 3,0 µg/L para a saxitoxinas (BRASIL, 2011).

O monitoramento é realizado no intuito de minimizar os riscos da contaminação da água para consumo humano e busca identificar os diferentes gêneros, sendo realizado no ponto de captação superficial do manancial. Além disso, o documento recomenda informar as clínicas de hemodiálise e as indústrias de injetáveis a presença de cianotoxinas, quando detectadas na saída do tratamento da água (BRASIL, 2011).

Considerando que as toxinas podem afetar a saúde da população abastecida, a portaria veta o uso de algicidas para o controle do crescimento de microalgas e cianobactérias nos reservatórios de águas, como quelatos de cobre, permanganato de potássio, sulfato de zinco, sulfato de alumínio ou qualquer outra forma de intervenção que promova a lise celular (BRASIL, 2011).

3.5 Detecção e quantificação das cianotoxinas

Para identificar e quantificar as cianotoxinas tóxicas, principalmente as microcistinas-LR, é necessário o emprego de técnicas analíticas ou biológicas, dentre essas destacam-se: a realização de bioensaios (AGRAWAL *et al.*, 2012), testes imunoenzimático (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) (HE *et al.*, 2017) e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detectores, principalmente a espectroscopia de massas (HPLC-MS, do inglês *High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) (SHAMSOLLAHI *et al.*, 2015).

Estudos da ocorrência, distribuição e frequência das cianobactérias foram realizadas em diversos países na década de 1980, utilizando a técnica de bioensaios. Este método é realizado *in vivo* com animais, normalmente ratos e permite realizar uma avaliação toxicológica, já que não possuem uma sensibilidade suficiente para detectar uma cianotoxina específica, assim os bioensaios só permitem correlacionar os grupos de cianotoxinas por meio de seus efeitos adversos. Métodos analíticos adequados para quantificar as cianotoxinas, somente tornaram-se disponíveis no final dos anos 80 (CHORUS e BARTRAM, 1999).

O método de ELISA baseia-se na reação entre o antígeno (toxinas específicas) e anticorpo, sendo a concentração da toxina determinada por meio da ligação desta com uma enzima utilizada no processo. A concentração é visualizada por meio do processo de desenvolvimento de cores, sendo esta inversamente proporcional a quantidade de toxina presente na amostra em uma relação não linear. Esta técnica apresenta sensibilidade na faixa de ppb, além de possuir kits de fácil manuseio para a sua realização, podendo ser realizada por qualquer pesquisador a partir de um treinamento técnico. Entretanto, este tipo de método necessita de um trabalho intensivo e dispendioso para preparação dos anticorpos utilizados nas análises, além de possuir custos elevados, tornando-se inviável sua utilização no laboratório devido à grande quantidade de amostras para detectar a qualidade da água (SAKAMOTO *et al.*, 2017; QIAN *et al.*, 2015; ARANDA-RODRIGUEZ *et al.*, 2015).

De acordo com Silva (2015), a HPLC-MS tem se destacado nos últimos anos na quantificação e identificação de cianobactérias tóxicas em água, devido a sua sensibilidade de separação dos componentes dos analitos. Segundo o autor, para identificar as cianotoxinas, este instrumento analítico pode ser acoplado a outras técnicas, como um detector de radiação ultravioleta ou um espectrômetro de massas.

3.5.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas

A cromatografia líquida de alta eficiência é um tipo de técnica versátil por eluição, amplamente utilizada para realizar a separação e identificação de vários compostos orgânicos, inorgânicos e biológicos. Este tipo de técnica possui uma Fase Móvel (FM), sendo essa um solvente líquido que contém a amostra a ser analisada na forma de uma mistura de solutos e uma Fase Estacionária (FE), localizada na coluna cromatográfica (SKOOG *et al.*, 2006).

De acordo com Collins, Braga e Bonato (2006), a cromatografia é um método físico-químico que baseia-se na separação dos compostos de uma mistura através da distribuição destes componentes em duas fases (FM e FE). Durante a passagem da FM pela FE, os

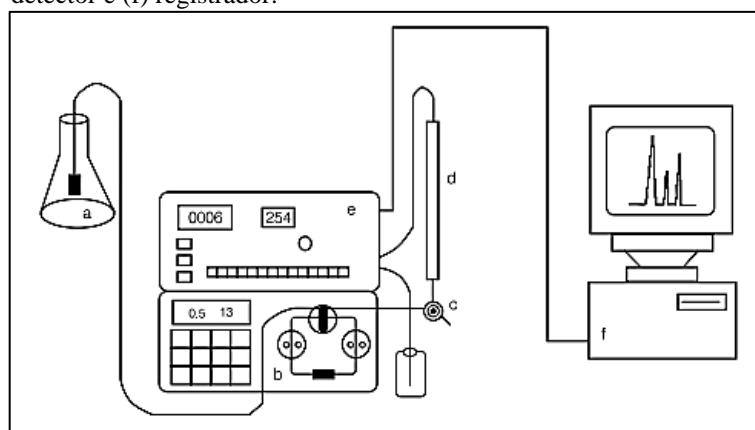
compostos são distribuídos de forma que cada um deles é retido de maneira seletiva pela FE, o que resulta em diferentes migrações desses componentes e em picos característicos.

Inicialmente, a cromatografia líquida era realizada em colunas de vidro com 10 a 50 mm de diâmetro, recheadas com partículas sólidas com um líquido adsorvido, sendo esta portanto a FE. No intuito de assegurar vazões razoáveis, o tamanho destas partículas deveriam estar entre 150 a 200 μm , porém ainda com isso as vazões eram poucas, em torno de décimos de mililitro por minuto. As tentativas realizadas, com o objetivo de acelerar esse processo através da aplicação de vácuo ou pressão não foi bem sucedida, pois o aumento na vazão é diretamente proporcional à altura do prato e diminuição da eficiência da coluna (SKOOG *et al.*, 2006).

Desde a sua invenção, a cromatografia líquida apresentou vários avanços impulsionados pela elaboração de novas partículas de fases estacionárias, com o objetivo de gerar colunas mais seletivas, eficientes e estáveis quimicamente. Nas últimas décadas, a HPLC tem sido a técnica analítica mais utilizada nos laboratórios industriais, químicos, farmacêuticos, além de ser aplicada em outras áreas da ciência e órgãos governamentais (MALDANER e JARDIM, 2009).

De acordo com Vieira (1998), a utilização de suportes com pequenas partículas, foram responsáveis pela alta eficiência da HPLC, já que por esse motivo tornou-se necessário o emprego de bombas de alta pressão para a eluição da fase móvel. De maneira geral, um cromatógrafo líquido de alta eficiência é composto por um reservatório de fase móvel, bomba de alta pressão, válvula de injeção, coluna, detector e registrador (Figura 7).

Figura 7 – Equipamento básico de HPLC: (a) reservatório da fase móvel; (b) bomba de alta pressão; (c) válvula de injeção; (d) coluna; (e) detector e (f) registrador.



Fonte: Vieira (1998)

As fases móveis utilizadas na HPLC devem possuir alta pureza, portanto antes de sua utilização necessitam ser filtradas e desgaseificadas. A bomba deve proporcionar uma vazão contínua que possibilite a eluição da fase móvel adequadamente. As válvulas de injeção

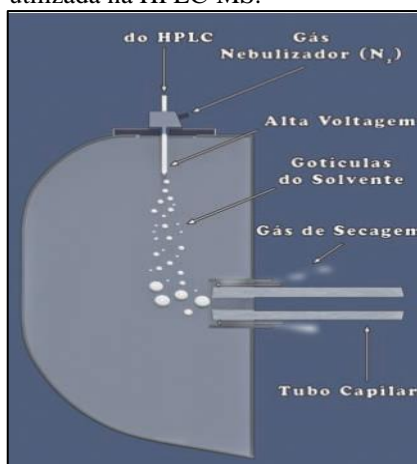
possuem uma alça com cerca de 5-50 μL para introduzir a amostra com uma seringa, a qual libera o analito para a coluna cromatográfica. A coluna utilizada para separação é geralmente de aço inoxidável com cerca de 0,45 cm de diâmetro e 10-25 cm de comprimento. O registro dos dados das amostras é realizado por meio um microcomputador (VIEIRA, 1998).

Existem vários tipos de detectores que podem ser utilizados na HPLC, tais como o de índice de refração, ultravioleta, fluorescente, eletroquímico, condutividade elétrica, espalhamento de luz, fotoionização e Espectrometria de Massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*). Este último destaca-se por favorecer a identificação de uma ampla faixa de compostos em baixas concentrações (RAMNI *et al.*, 2011; VÉKEY, 2001).

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas é ideal para separação e detecção do analito de interesse. No entanto, para que ocorra a combinação entre as duas é necessário de uma fonte de ionização, já que a MS analisa somente a amostra no estado gasoso e na HPLC o analito encontra-se em solução. Nesse sentido, diversos dispositivos foram desenvolvidos para superar este problema, como por exemplo, as fontes de ionização por *eletrospray* e a ionização química à pressão atmosférica (SKOOG *et al.*, 2006).

O *eletrospray* é a fonte de ionização mais utilizada na técnica de HPLC-MS. Neste sistema, a saída da coluna de um cromatógrafo é conectada a uma sonda constituída por um tubo capilar de metal com a circulação de um gás nebulizador, normalmente o N_2 (Figura 8). Em seguida é aplicada uma diferença de potencial entre a ponta do tubo de metal e o cone que contém a amostra, levando a criação de um “*spray*” composto por gotículas do analito da FM e pelo gás nebulizador utilizado. Logo, o solvente é evaporado, normalmente com o aquecimento da sonda, levando a diminuição das gotículas até que os íons presentes no analito se evaporem e sejam direcionados parte do cone que depois irá para o analisador de íons (LANÇAS, 2009).

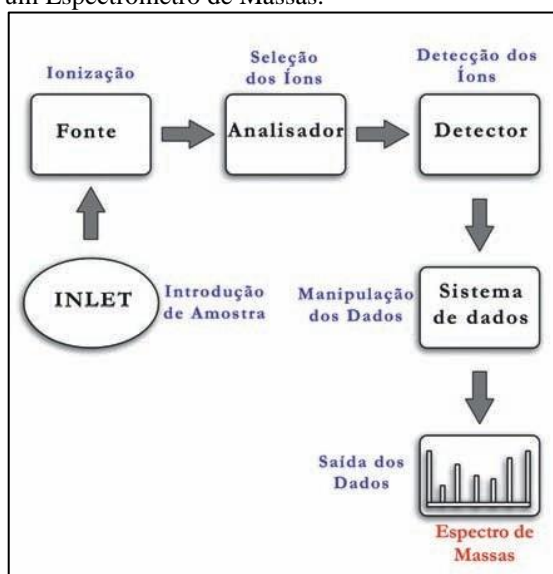
Figura 8 – Interface do tipo *eletrospray* utilizada na HPLC-MS.



Fonte: Lanças (2009)

A MS é uma técnica analítica que mede a razão Massa-Carga (m/z) de partículas carregadas, possuindo três principais componentes, uma fonte de íons, analisador de massas e um detector (Figura 9). A MS baseia-se na vaporização de uma amostra, levando os seus componentes a formarem íons que são separados por um campo magnético de acordo com sua m/z e em seguida quantificado, gerando um sinal no espectro de massas (CARTER, 2017).

Figura 9 – Esquema dos principais componentes de um Espectrômetro de Massas.



Fonte: Lanças (2009)

De acordo com Skoog *et al.* (2006), a combinação de HPLC e MS proporciona uma alta seletividade, já que os picos não-resolvidos podem ser isolados a partir do monitoramento de um único valor de massa. Além disso, a HPLC-MS pode fornecer uma impressão digital de um determinado eluato ao invés de utilizar o tempo de retenção, massa molar do analito analisado, informação estrutural, bem como uma análise quantitativa exata.

3.6 Métodos convencionais para a remoção de cianobactérias

O tratamento de água reúne um conjunto de processos que possibilita a sua potabilidade para consumo humano. Os procedimentos diferem de acordo com a qualidade do recurso hídrico, país e região, resultando na clarificação com a remoção da matéria orgânica natural (NOM, do inglês *Natural Organic Matter*), desinfecção para inativar contaminantes patogênicos e a utilização de técnicas adicionais, com o objetivo de cumprir os padrões exigidos pela legislação (MEREL *et al.*, 2013).

No Brasil, as Estações de Tratamento de Água (ETAs) utilizam métodos denominados de convencionais de ciclos completos, os quais incluem coagulação, floculação, sedimentação, filtração rápida em areia e desinfecção (SARAIVA SOARES *et al.*, 2013; MOHAMED, 2016). O processo de tratamento convencional possibilita a remoção das células de cianobactérias, porém é ineficiente na remoção de cianotoxinas dissolvidas (CAMACHO *et al.*, 2013).

A coagulação é a primeira etapa do tratamento de água, no qual são utilizados reagentes químicos, principalmente a base de alumínio e ferro como o objetivo de realizar a desestabilização das impurezas dissolvidas e dos colóides, produzindo um grande agregado de flocos que podem ser removidos em processos posteriores, a exemplo da filtração (GAO, HAHN e HOFFMANN, 2002; MC, VE e NM, 2017).

No Brasil, o coagulante mais utilizado pelas ETAs é o sulfato de alumínio devido a sua eficiência no processo de remoção dos sólidos em suspensão e pelo baixo custo de aquisição (MONACO, *et al.*, 2010). No entanto, a principal desvantagem na utilização deste reagente está relacionado com sua acumulação nas águas tratadas, pois concentrações maiores que $200\mu\text{g.L}^{-1}$ podem causar sérios danos à saúde humana, como por exemplo o desenvolvimento do Alzheimer (DOMINGO, 2003).

A coagulação é um processo baseado nos efeitos das cargas presentes na água, as quais partículas suspensas na água que carregam cargas negativas devido a adsorção de íons, substituição iônica ou ionização dos grupos de superfície, podem ser coaguladas pelas cargas positivas dos coagulantes utilizados (SILLANPÄÄ *et al.*, 2015).

A floculação é um processo realizado juntamente com a coagulação, que tem por objetivo reunir as partículas para a formação de grandes aglomerados de flocos. Os dois processos reduzem ou neutralizam a carga das partículas suspensas ou do potencial zeta, permitindo que a força de atração de Van der Waals garanta a agregação das partículas coloidais suspensas, formando os flocos (EBELING *et al.*, 2003).

A sedimentação é um processo de separação gravitacional, no qual as partículas em suspensão se depositam nos tanques de tratamento de água, devido ao movimento das partículas através do fluido em resposta a diferença de densidade (SPEIGHT, 2017). Os sistemas de sedimentação possuem um local de coleta de lodo produzido no processo de floculação e podem ser equipados com placas decantadoras para otimizar seu desempenho (AHMAD, 2005).

A filtração rápida de areia é um processo físico-químico de purificação de água utilizado para remover matérias coaguladas, floculadas, bem como suspensas que não foram removidas durante as etapas anteriores (BHOSALE e SALKAR, 2013). Este processo geralmente usa filtros de meios granulares, como areia grossa, carvão ativado granular e carvão antracito

triturado. Para manter um bom desempenho, a filtração rápida utilizada nos tratamentos de água, exigem que os filtros sejam limpos regularmente (CHORUS e BARTRAM, 1999).

A desinfecção constitui a última etapa do tratamento de água que tem por objetivo inativar ou remover os microrganismos remanescentes ao longo do processo (BETANCOURT e ROSE, 2004). Assim, para efetivar a desinfecção são utilizadas uma variedades de agentes físicos e químicos, como a utilização de cloro, bromo, iodo, ozônio, a realização de fervura e uso da radiação UV (OKPARA, OPARAKU e IBETO, 2011).

A utilização do tratamento convencional utilizado pelas ETAs tem se mostrado ineficiente para remoção das cianotoxinas dissolvidas (ALMEIDA *et al.*, 2016). Nesse sentido, torna-se necessário o desenvolvimento de metodologias complementares que possam atuar em conjunto com os procedimentos convencionais, visando a otimização do tratamento. Diversas tecnologias tem se destacado, entre elas, adsorção em carvão ativado (CAVALCANTI *et al.*, 2008; IBRAHIM, SALIM e AZAB, 2015; ZHU *et al.*, 2016), microfiltração (SORLINI, GIALDINI e COLLIVIGNARELLI, 2013; AMARAL *et al.*, 2013), oxidação química (CHANG *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2017), nanofiltração (CORAL *et al.*, 2011; DIXON *et al.*, 2011), ultrafiltração (NISHI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2017), osmose reversa (VILLACORTE *et al.*, 2015; JIANG, LI e LADEWIG, 2017) e principalmente os Processos Oxidativo Avançados (MOMANI, AL, SMITH e GAMAL EL-DIN, 2008; JO *et al.*, 2017; SONG *et al.*, 2018), os quais serão melhor discutidos no tópico seguinte.

3.7 Processos Oxidativos Avançados (AOPs)

Os Processos Oxidativos Avançados (AOPs) foram propostos pela primeira vez para tratamento de águas de abastecimento na década de 1980, sendo mais tarde aplicado nos mais diferentes tipos de tratamento águas residuais. Os AOPs atuam como poderosos agentes oxidantes, conseguindo degradar e remover diferentes poluentes orgânicos e inorgânicos das águas contaminadas (DENG e ZHAO, 2015). Assim, a utilização dos AOPs em combinação com os processos convencionais, possibilita uma solução tecnológica eficaz e segura para obtenção de água potável (ANTONOPOULOU *et al.*, 2014).

Os AOPs se caracterizam por transformar poluentes com estruturas complexas em substâncias mais simples e biodegradáveis, principalmente dióxido de carbono, água e sais inorgânicos, através da produção de espécies transitórias oxidantes, como os radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) que são altamente reativos e atuam através de complexas reações em cadeia para alcançar a mineralização completa dos compostos (KRISHNAN *et al.*, 2017; AMETA, 2018). Dentre os

AOPs têm se destacado os processos de H_2O_2 /UV, a reação de Foto-Fenton e a fotocatalise heterogênea, principalmente utilizando óxido de titânio (NOGUEIRA *et al.*, 2007).

O processo de fotocatalise heterogênea, com aplicação ambiental é um tema relativamente novo e tem sido amplamente estudado, mostrando-se com uma metodologia promissora na purificação e tratamento de água. Este AOPs utiliza semicondutores fotoativos na degradação de poluentes orgânicos (CERVANTES, ZAIA e SANTANA, 2009; AL-RASHEED, 2005). Os óxidos metálicos semicondutores mais utilizados e citados pela literatura nos processos fotocatalíticos são: TiO_2 , WO_3 , CdS , PbS , Fe_2O_3 (NIHALANI *et al.*, 2012). Por outro lado, os óxidos mistos com estrutura ABO_3 , denominados de perovskitas, tem chamado a atenção de pesquisadores, pelos bons rendimentos apresentados, baixo preço, adaptabilidade e estabilidade térmica (LABHASETWAR *et al.*, 2015).

Dente os métodos fotoquímicos, existem duas técnicas para geração do radical $\bullet\text{OH}$ com ou sem radiação: a fotocatalise homogênea, a qual o catalisador encontra-se dissolvido na solução, formando uma única fase, e a fotocatalise heterogênea que utiliza semicondutores, geralmente na forma sólida e forma um sistema com mais de uma fase (TERAN, 2014). Na Tabela 4 encontra-se os tipos de AOPs, sua classificação quanto ao sistema homogêneo e heterogêneo e a utilização ou não da radiação.

Tabela 4 – Classificação típica dos sistemas de Processos Oxidativos Avançados.

Processo	Homogêneo	Heterogêneo
Com irradiação	O_3 /UV	Fotocatalise heterogênea (TiO_2/O_2 /UV)
	H_2O_2 /UV	
	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ /UV	
	Foto-Fenton	
Sem irradiação	O_3/HO	O_3 /catalisador
	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$	
	Reativo de Fenton	

Fonte: Fioreze, Santos e Schmachtenberg (2014)

De acordo com Kumar e Pandey (2017), a eficiência e as taxas de oxidação de um processo fotocatalítico, durante a degradação de poluentes orgânicos, depende de vários fatores, tais como: concentração do substrato, quantidade do catalisador, pH da solução, temperatura do meio reacional, tempo e intensidade de irradiação da luz, área superficial do semicondutor, dopagem de íons metálicos e não metálicos, capacidade de dissolução do oxigênio do meio reacional, natureza e estrutura do fotocatalisador.

Os AOPs na degradação de poluentes orgânicos apresentam inúmeras vantagens (DOMÈNECH, JARDIM e LITTER, 2001; ABBAS e ZAHEER, 2014), tais como:

- Apenas não mudam a fase do poluente, como no caso do tratamento com carvão ativado, mas o transforma quimicamente;
- A mineralização (degradação) completa do composto é normalmente alcançada, enquanto as tecnologias convencionais não conseguem oxidar toda a matéria orgânica;
- Geralmente não geram lama, não requerendo tratamentos adicionais ou descarte;
- São muitos utilizados para degradar contaminantes refratários e que resistem à métodos de tratamento físico-químicos, já que possuem alto poder oxidativo;
- Servem para tratar poluentes com concentrações muito baixas, por exemplo ppb;
- Nenhum subproduto da reação é formado, mesmo que em baixa concentração;
- São essenciais para reduzir a concentração de compostos formados por tratamentos alternativos, como a desinfecção;
- Conseguem geralmente melhorar as propriedades organolépticas da água tratada;
- Em muitos casos consomem muito menos energia, acarretando em um menor custo;
- Permitem transformar contaminantes persistentes em produtos tratáveis, podendo utilizar o tratamento biológico para sua remoção;
- Eliminam os desinfetantes e oxidantes residuais, como o cloro e o iodo, contribuindo para diminuição dos efeitos destes contaminantes na saúde humana.

Atualmente os AOPs tem sido utilizados para degradar diversos poluentes orgânicos em tratamento de água (TSYDENOVA, BATOEV e BATOEVA, 2015), lixiviado (SCANDELAI *et al.*, 2017), efluentes domésticos (SANTOS *et al.*, 2018) e industriais (KRZEMIŃSKA, NECZAJ e BOROWSKI, 2015), corantes (CASTRO, AVELLANEDA e MARCO, 2014), fármacos (QUERO-PASTOR *et al.*, 2014), herbicidas (KOVÁCS *et al.*, 2016), petróleo (ALJUBOURYA *et al.*, 2015) e outros. Os AOPs também têm sido amplamente empregado na remoção de cianotoxinas de água de abastecimento, principalmente as microcistinas, obtendo resultados promissores (Tabela 5). Dentre os Processos Oxidativos Avançados, a fotocatalise heterogênea vem sendo amplamente estudada e será melhor discutida a seguir.

Tabela 5 – Utilização dos Processos Oxidativos Avançados na degradação da cianotoxina microcistina.

Processo Oxidativo Avançado	Variante degradada	Referência
O ₃ , H ₂ O ₂ , O ₃ / H ₂ O ₂ , O ₃ / Fe (II) e Fenton	MC-LR, MC-RR,	MOMANI, AL, SMITH e EL-DIN, 2008
UV / H ₂ O ₂ e O ₃ / H ₂ O ₂	MC-LR	LU, WANG e WANG, 2018
Foto-Fenton solar, UV-A / foto-Fenton e UV-C / H ₂ O ₂	MC-LR	FREITAS <i>et al.</i> , 2013
Fotocatálise (WO ₃)	MC-LR	ZHAO <i>et al.</i> , 2015
Reagente de Fenton	MC-RR	ZHONG <i>et al.</i> , 2009
UV/H ₂ O ₂	MC-LR	LIU <i>et al.</i> , 2016
Fotólise UV-B e UV-B / H ₂ O ₂	MC-LR	MOON <i>et al.</i> , 2017
Fotocatálise AgBr / Ag ₃ PO ₄ e Ag / BrP	MC-LR, MC-YR e MC-RR	WANG, YANG e SHIMIZU, 2013
Fotocatálise (TiO ₂)	[D-Leu]-MC-LR	VILELA <i>et al.</i> , 2012
UV / H ₂ O ₂ , UV / S ₂ O ₈ ²⁻ e UV / HSO ₅ ⁻	MC-LR, MC-RR, MC-YR e MC-LA	HE <i>et al.</i> , 2015

Fonte: Autor (2019)

3.7.1 Fotocatálise heterogênea

A fotocatalise heterogênea é um processo que inclui uma variedade de reações catalíticas que ocorrem através da ativação de um semicondutor através da utilização de fótons da radiação ultravioleta (solar ou artificial). Os catalisadores semicondutores são caracterizados pela presença das bandas de valência e bandas de condução, sendo a região entre elas chamadas de *band gap* (SIEVERS, 2011).

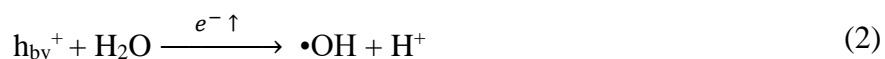
Nesse sentido, assim como os átomos ou moléculas de um sólido são agrupados, seus níveis de energia também possuem esta característica, expressando-a em forma de bandas. A teoria do band gap propõe para o sólido cristalino duas bandas: a Banda de Condução (BC), caracterizado pelos orbitais antiligantes LUMO (do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) e a Banda de Valência (BV), composta pelos orbitais ligantes HOMO (do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*), sendo estas bandas separadas por uma região, denominada de *band gap* (GAYA, 2014). A energia de *band gap* é a energia mínima que deve ser fornecida pela radiação para que o elétron seja excitado e promovido da BV de menor energia para a BC de maior energia (KUMAR E PANDEY, 2017).

Na fotocatalise heterogênea, as reações fotocatalíticas são iniciadas quando o semicondutor (fotocatalisador) absorve um fóton de radiação UV com uma energia maior ou igual a do *band gap*, excitando o elétron da banda de valência para banda de condução, gerando um buraco ou sitio oxidante (h_{bv}^+) e um sitio redutor (e_{bc}^-), denominado de par elétron-buraco

(e^- / h^+) que acontece na superfície do condutor e permite a sua atuação como catalisador em uma reação, conforme nota-se na Equação 1 (IBHADON e FITZPATRICK, 2013; CERVANTES, ZAIA e SANTANA, 2009).



Os buracos formados na banda de valência (h_{bv}^+) do fotocatalisador reage com a água, formando o radical hidroxila e o cátion hídrón com a liberação de um elétron através da seguinte reação (Equação 2) (RIBEIRO *et al.*, 2015):



O sítio h_{bv}^+ também consegue oxidar o íon hidroxila, formando um radical hidroxila (Equação 3) (CHEN *et al.*, 2014):



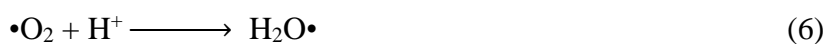
As lacunas em h_{bv}^+ ainda podem reagir diretamente com as espécies adsorvidas na superfície do semiconductor, ocasionando sua oxidação, através da seguinte reação (Equação 4) (RIBEIRO *et al.*, 2015):



Além disso, o elétron da banda de condução (e_{bc}^-) reduz o oxigênio molecular, levando a formação do radical superóxido ($\bullet\text{O}_2$), conforme a Equação 5 (HAQUE, BAHNEMANN e MUNEEER, 2012):



Em seguida o radical superóxido pode reagir com o próton, produzindo o radical hidroperóxido ($\text{H}_2\text{O}\bullet$), como nota-se na Equação 6 (COLMENARES e LUQUE, 2014):



Os radicais hidroperóxido podem se unir, formando peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (Equação 7) (ZIOILLI e JARDIM, 1998):



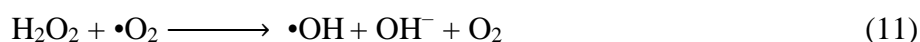
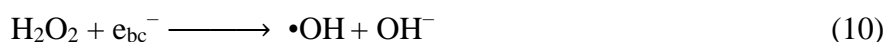
O radical superóxido também pode reagir com o radical hidroperóxido, levando a formação do ânion hidroperóxido e oxigênio molecular, como observa-se na Equação 8 (ZIOILLI e JARDIM, 1998):



Por sua vez, o ânion hidroperóxido reage com o cátion hídon, produzindo peróxido de hidrogênio (Equação 9) (COLMENARES e LUQUE, 2014):



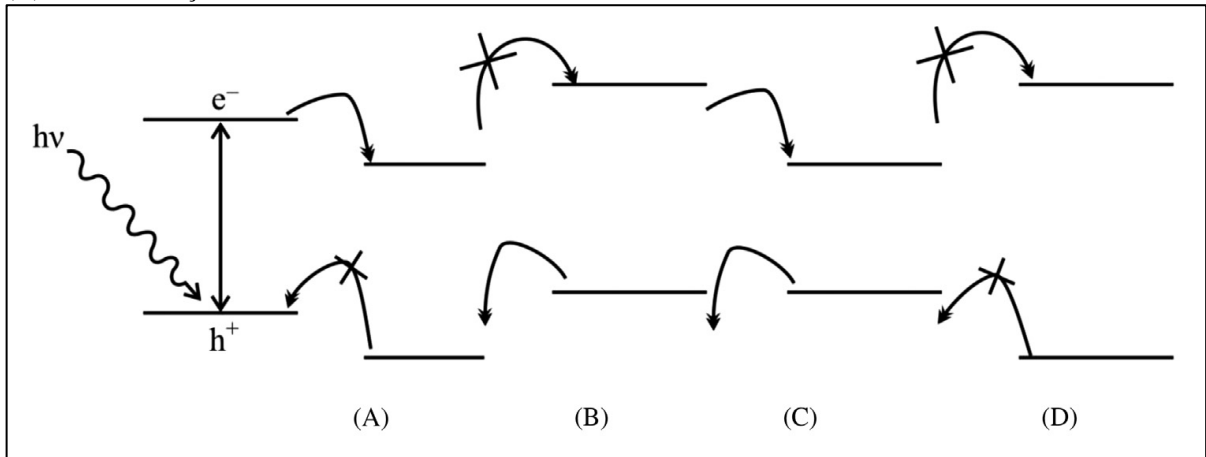
O peróxido de hidrogênio pode ser reduzido ou reagir com o radical superóxido, levando a formação de radicais hidroxilas que também pode participar de outras reações devido a seu poder oxidativo (Equação 10 e 11) (AL-RASHEED, 2005):



Segundo Ameta, Solanki, *et al.* 2018, os semicondutores e o substrato podem interagir de quatro diferentes maneiras (Figura 10), dependendo das posições da BV e BC, além dos níveis redox, assim pode ocorrer:

- A redução do substrato, quando seu nível redox é menor que a BC do semicondutor;
- A oxidação do substrato, quando seu nível redox é maior que a BV do semicondutor;
- Nem a redução e nem a oxidação, quando o nível redox do substrato se apresenta maior que a BC e menor que a BV do semicondutor;
- A oxidação e a redução, quando o substrato apresenta nível redox menor que a BC e maior que a BV.

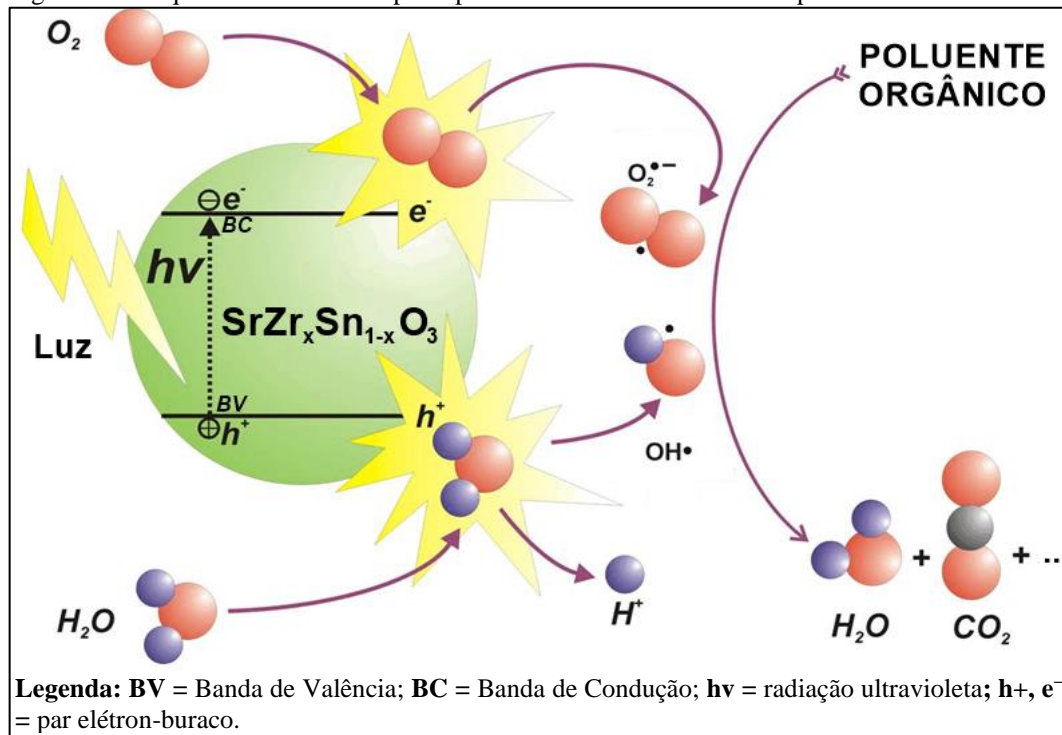
Figura 10 – Diferentes possibilidades das reações fotocatalíticas: (A) redução, (B) oxidação, (C) reação redox e (D) nenhuma reação.



Fonte: Ameta, Solanki, *et al.* (2018)

Os semicondutores podem ser utilizados para fotocatalisar diversas reações com os substratos, levando a mineralização de diversos poluentes orgânicos, como aromáticos, halo-hidrocarbonetos, corantes, surfactantes, pesticidas e inseticidas. A atividade fotocatalítica dos semicondutores podem ser otimizadas, a partir da diminuição da energia de band gap de modo que coincida com a absorção da luz visível e a banda de condução deve ser elevada para atender a capacidade de redução (AMETA, SOLANKI, *et al.*, 2018; YAN *et al.*, 2013). A Figura 11 resume os princípios eletrônicos envolvidos nas reações fotocatalíticas.

Figura 11 – Esquema mostrando os princípios eletrônicos envolvidos nos processos fotocatalíticos.



Fonte: Adaptado de Ibhaddon e Fitzpatrick (2013)

Os processos fotocatalíticos tem sido amplamente utilizado no tratamento de águas para eliminar poluentes nocivos à saúde humana, pois possui várias vantagens, Saliby *et al.* (2016) apontam algumas delas:

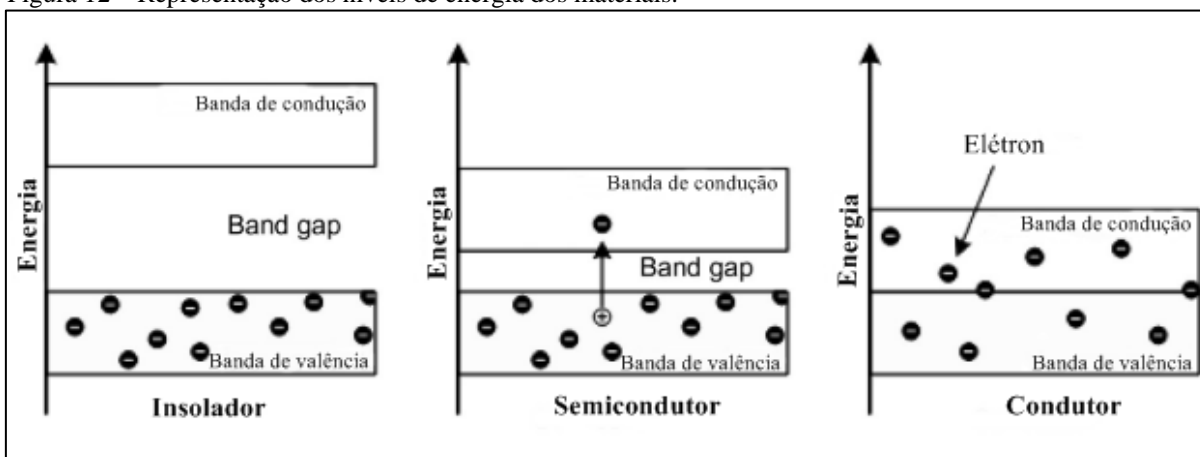
- Conseguir uma mineralização (degradação) total dos contaminantes, mesmo que este esteja em pequenas concentrações;
- Evita a formação de subprodutos tóxicos, prejudiciais à saúde humana;
- Produz poucos resíduos, quando comparados com outros AOPs e os tratamentos convencionais;
- Possibilidade de utilizar a luz solar, reduzindo os custos deste tipo de AOP.

Entretanto, para Cervantes, Zaia e Santana (2009), quando a luz solar ou artificial é utilizada nos processos fotocatalíticos, é possível que ocorra os mecanismos de foto-oxidação e fotossensibilização, tornando-se difícil de diferenciar se o mecanismo de oxidação fotocatalítica é maior que a oxidação fotossensibilizada. Dentro da fotocatalise heterogênea alguns fotocatalisadores tem sido largamente estudado, logo os conceitos acerca destes materiais, bem como algumas aplicações serão melhor discutidas a seguir.

3.8 Fotocatalisadores

Segundo Ameta, Solanki, *et al.* (2018), os fotocatalisadores são materiais que absorvem radiação e agem como catalisadores, alterando a velocidade de uma reação química, originando um fenômeno denominado de fotocatalise. Este processo fotoquímico inclui reações que acontecem utilizando luz (radiação) e um semicondutor que geralmente é um fotocatalisador. Para os autores, com base na Energia de *Band Gap* (E_g) produzido pela diferença entre a banda de valência (HOMO) e banda de condução (LUMO), os materiais podem ser classificados em três principais categorias (Figura 12): metal ou condutor ($E_g < 1.0$ eV), semicondutor ($E_g < 1.5-3.0$ eV) e isolante ($E_g > 5.0$ eV).

Figura 12 – Representação dos níveis de energia dos materiais.



Fonte: Adaptado de Ameta, Solanki, *et al.* (2018)

De acordo com Gaya (2014), os isoladores são caracterizados pelo grande intervalo entre a banda de valência e banda de condução, enquanto nos condutores, não é observado aparentemente esse espaço devido à sobreposição de orbitais moleculares, já os semicondutores possuem um intervalo de banda intermediário, sendo distinguido do isolador pelo tamanho da banda apresentada.

Os semicondutores inorgânicos são considerados como sucedidos fotocatalisadores, mostrando bons resultados nas mais diversas aplicações. Estas substâncias se apresentam na forma de óxidos sólidos e os mais utilizados na fotocatalise heterogênea são: TiO_2 (HAIDER, *et al.*, 2017), ZnO (STIEBEROVA *et al.*, 2017), CdS (CHENG *et al.*, 2018), WO_3 (DONG *et al.*, 2017), SnO_2 (ZHAO *et al.*, 2015), ZnS (MANSUR e MANSUR, 2015), CdTe (HU *et al.*, 2018), $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (MUKHERJEE *et al.*, 2016), AgNbO_3 (HAN *et al.*, 2019) e SrTiO_3 (SHAHABUDDIN *et al.*, 2016), sendo o TiO_2 o mais utilizado e referenciado na literatura por apresentar boa propriedade fotocatalítica na degradação de diversos poluentes orgânicos (GAYA, 2014; PANG *et al.*, 2014).

Entretanto, os óxidos metálicos mistos, como CaSnO_3 , SrSnO_3 e ZnSnO_3 têm sido amplamente estudados e chamado a atenção dos pesquisadores por apresentar distorções e inclinação em suas estruturas (LUCENA *et al.*, 2017; ONG *et al.*, 2015; ALAMMAR *et al.*, 2017). Devido as suas boas propriedades fotocatalíticas, estes óxidos semicondutores atuam como fotocatalisadores, sendo aplicado em estudos voltados a fotocatalise heterogênea (CHEN e UMEZAWA, 2014).

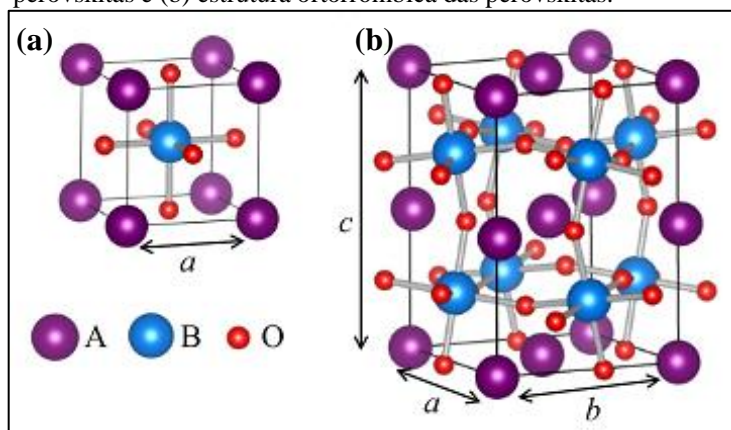
Para degradar as microcistinas diversos pesquisadores tem desenvolvido fotocatalisadores em diferentes sistemas e testado sua eficiência, dentre eles destacam-se: WO_3 -baseado em nanopartículas (ZHAO *et al.*, 2015), F-Ce-TiO_2 (WANG *et al.*, 2017), TiO_2 e ZnO

(JACOBS *et al.*, 2013), C_3N_4/TiO_2 (SONG *et al.*, 2018), nanopartículas de ZnO (SUDRAJAT e BABEL, 2018), Ag/Ag₂O-BiVO₄ (WU *et al.*, 2017) e nanotubos de TiO₂ (SU *et al.*, 2013).

3.8.1 As perovskitas $SrZr_xSn_{1-x}O_3$

Os óxidos mistos são denominados de perovskitas devido apresentarem a mesma estrutura molecular do óxido de cálcio e titânio (CaTiO₃), um mineral descoberto na década de 1930 pelo geólogo Gustav Rouse que o descreveu e denominou de perovskita em homenagem ao mineralogista russo Count Lev Aleksevich von Perovski. As perovskitas apresentam fórmula ABO₃, onde o sitio A é normalmente maior que o sitio B e análogo ao tamanho dos ânions do sitio O. Além disso, sua estrutura é considerada como uma rede cúbica de face centrada (Figura 13 (a)), com os átomos A nos cantos, B no centro e O na face deste cubo. A estrutura da perovskita apresenta um sistema tridimensionalmente conectado por um octaedro BO₆, com os íons do sitio A fazendo um octaedro cúbico AO₁₂ com o objetivo de preencher os espaços vazios do octaedros (HOSSAIN *et al.*, 2017).

Figura 13 – Representação da: (a) estrutura cúbica ideal das perovskitas e (b) estrutura ortorrômbica das perovskitas.



Fonte: Weston *et al.* (2018)

Embora as perovskitas apresentem uma estrutura ideal cúbica, a grande maioria dos compostos dessa classe apresentam desvios, sendo caracterizados por ligeiras distorções em sua geometria (Figura 13 (b)) com perda de sua simetria. Assim, as perovskitas, tais como SrSnO₃, e SrZrO₃ podem se cristalizar estruturas em estruturas diferentes como ortorrômbica, romboédrica, tetragonal, monoclinica ou triclinica. As distorções são atribuídas a diferentes fatores como efeitos de tamanho, desvios que formam a composição ideal e ao efeito Jahn-Teller (JOHNSON e LEMMENS, 2007; KEAV *et al.*, 2014).

As perovskitas do tipo SrSnO_3 e SrZrO_3 possuem o mesmo tipo de estrutura, a ortorrômbica (Figura 13 (b)). Entretanto quando comparadas, o óxido de zirconato de estrôncio apresenta uma maior distorção em sua simetria, pois o cátion B (Zr) de sua estrutura apresenta um maior raio iônico (0.72 \AA) em relação ao do Sn que é de 0.69 \AA (BANNIKOV *et al.*, 2008).

Conforme revela Roosmalen, Vanroosmalen, Cordfunke (1992) e Ctibor (2018), a estrutura do SrZrO_3 a temperatura ambiente é ortorrômbica com grupo espacial pnma , devido a diferenças na temperatura de preparação e impurezas, porém esta perovskita pode sofrer transições de fases, saindo de baixa para alta simetria, resultando provavelmente no grupo espacial $\text{Pm}3\text{m}$ a uma temperatura de 1063 K.

De acordo com Kennedy, Qasim e Knight (2015), o SrSnO_3 apresenta uma estrutura ortorrômbica e pertence ao grupo espacial Pbnm no intervalo de temperatura de 8 e 350 K. No entanto, é observada uma anomalia em aproximadamente 230 K, a qual pode ser explicada pela presença de nanodomínios polares na desordem das inclinações octaédricas. Além disso, estudos realizados por Mountstevens, Redfern e Attfield (2005), mostraram que este material apresenta transição de simetria ortorrômbica de Pbnm para Imma em 909 K e uma transição de primeira ordem para uma fase tetragonal $I4/\text{mcm}$ em 1073 K.

Os compostos do tipo $\text{SrTi}_{1-x}\text{Sn}_x\text{O}_3$ podem ser obtidos a partir de reações no estado sólido e pelo método dos precursores poliméricos. Estes tipos de óxidos mistos foram estudados por Lavinsky *et al.* (2019) em relação assimetria e simetria do material em decorrência da substituição dos cátions na estrutura da perovskita. Os autores verificaram por meio de técnicas de caracterização que a adição de Sn da rede resulta no aumento do volume das células unitárias e uma redução na simetria. Além disso, os modos vibracionais mais afetados pela presença dos dois cátions com massas e raios iônicos diferentes no sistema foram o da ligação B-cátion.

As perovskitas do tipo ABO_3 com $\text{A} = \text{Ba}, \text{Ca}, \text{Sr}, \text{B}$, são óxidos que vem sendo amplamente pesquisados devido a sua aplicabilidade dentro da área tecnológica. Essas estruturas podem ser modificadas utilizando diferentes métodos de sínteses, o que leva a simetrias e propriedades distintas (SUDHAPARIMALA e PRASHANNASUVAITHA, 2018).

Os óxidos mistos como $\text{La}_x\text{Ba}_x\text{FeO}_{3-\delta}$ (NASRI *et al.*, 2016), SrZrO_3 (SHI, LIANG e QI, 2016), LaFeO_3 (MAHAPATRA *et al.*, 2018) e outros, apresentam propriedades dielétricas, podendo ser aplicados na fabricação de células fotovoltaicas (MESQUITA, ANDRADE e MENDES, 2018), células de combustíveis (ZHOU *et al.*, 2016), baterias de lítio (LI *et al.*, 2018), capacitores termicamente estáveis (KIM *et al.*, 2014) e sensores de umidade (FARAHANI, WAGIRAN, URBAN, 2017). Como semicondutores, as perovskitas do tipo ABO_3 vem sendo estudada devido a sua boa propriedade fotocatalítica, sendo utilizadas na

degradação de vários poluentes orgânicos (MIAO *et al.*, 2017; GOMEZ-SOLÍS *et al.*, 2018), entre eles a microcistina (WANG *et al.*, 2013).

As perovskitas podem ser obtidas por diversos métodos de síntese, dentre eles podemos citar: a reação no estado sólido, sol-gel (CERNEA *et al.*, 2013), técnicas hidrotérmicas (GIRISH *et al.*, 2015), pirólise spray ultrassônica (HSIEH *et al.*, 2018), co-precipitação (DJOUD e OMARI, 2015), hidrotermal assistida por micro-ondas (PRADO-GONJAL, SCHMIDT e MORÁN, 2015) e o métodos dos precursores poliméricos (LUCENA *et al.*, 2013).

O método sol-gel apresenta desvantagens, as quais podemos citar: o alto custo dos precursores utilizados, demora no processo sintético dificuldades na síntese de monólitos e no controle de propriedades químicas, como o pH e instabilidade, bem como exige um controle minucioso nas condições experimentais durante a síntese para garantir uma boa reprodutibilidade dos materiais (SCHMIDT *et al.*, 1998; CAMLIBEL e ARIK, 2017).

O método de reação no estado sólido pode não ocorrer mesmo quando as condições termodinâmicas são favoráveis, além disto, fases indesejáveis podem ser formadas, a distribuição do material pode ser não homogênea, é necessário utilizar altas temperatura que podem não ser suficientes para levar a taxa de reação desejada devido a sublimação dos componentes envolvidos, possíveis reações com cadinho, dificuldades no monitoramento da reação, necessidade de moagem do material e realização de uma mistura extensiva, tornando-se um processo intensivo de energia (LI, 2008; ATHAYDE *et al.*, 2016).

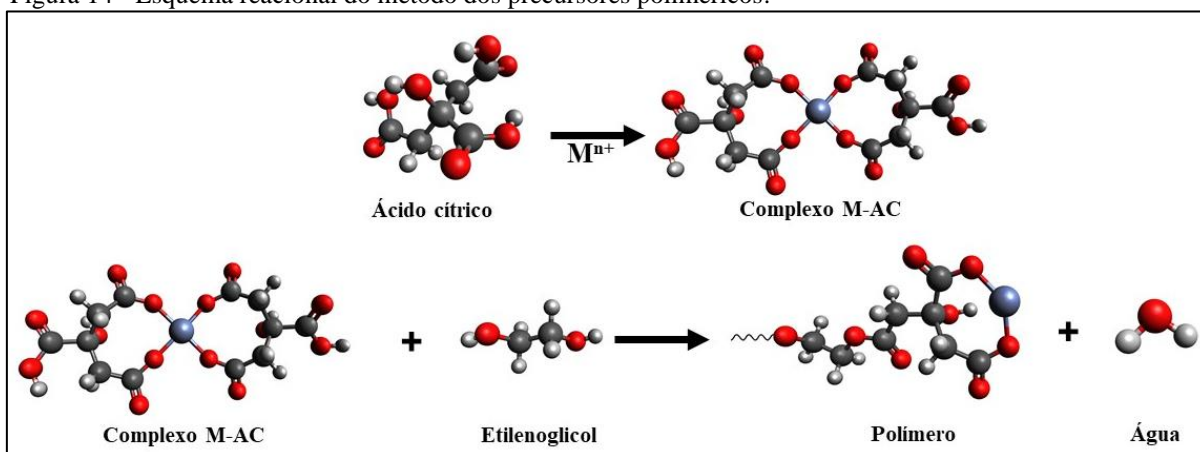
Cada metodologia de síntese das perovskitas possui sua peculiaridade, o método dos precursores poliméricos apresenta algumas vantagens, tais como: a ausência de fases secundárias, grande área de superfície e do volume dos poros, o que é útil para os processos fotocatalíticos, baixa temperatura durante a rota sintética, controle na estequiometria dos sistemas, além de garantir uma boa reprodutibilidade (SOUZA *et al.* 2018; MARTINEZ, MENESES e SILVA, 2014; PIMENTEL *et al.*, 2005). Em decorrência dos pontos positivos apresentados, este método é promissor para sintetizar os óxidos mistos $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$, logo iremos melhor discutir sua metodologia no tópico a seguir.

3.8.2 Método dos Precursores Poliméricos

O método dos precursores poliméricos é uma derivação do método de Pechini e tem se destacado como uma metodologia promissora e alternativa na obtenção de nanopartículas de diversos tipos de óxidos, filmes finos e pós nano-cristalinos, devido a sua simplicidade e versatilidade. (SUNDE, GRANDE e EINARSRUD, 2016). O método de Pechini (1967)

consiste na obtenção de uma resina polimérica a partir da formação de quelatos de cátions metálicos e ácido carboxílicos, geralmente o ácido cítrico, em uma proporção de 1 mol com para 2 a 8 mols, respectivamente. Na etapa seguinte, após a formação do complexo estável é adicionado um poliálcool para que ocorra uma reação de poliesterificação, sob aquecimento e agitação com uma temperatura menor que 100 °C (DIMESSO, 2016; RIBEIRO *et. al.*, 2013), conforme ilustra a Figura 14.

Figura 14 - Esquema reacional do método dos precursores poliméricos.



Fonte: Adaptado de Braga (2014)

O ácido cítrico é de extrema importância, pois forma complexos quelatos estáveis com vários metais, com exceção dos monovalentes, já o etilenoglicol é utilizado para estatizar o complexo metal-ácido cítrico, pois possui dois grupos hidroxil-álcool que tem uma grande afinidade por metais. Além disso, a formação da resina polimérica por meio de sucessivas reações de esterificação é favorecida pela presença dos dois grupos hidroxilas (OH) do etilenoglicol e os três grupos carboxílicos ($-COOH$) do ácido cítrico (MARTINELLI, 2007). Em relação a temperatura durante a reação poliesterificação, Souza *et al.* (2018) utilizou 90 °C e a manteve constante até a redução de 2/3 do volume inicial, utilizando uma proporção de 60:40 de ácido cítrico e etilenoglicol.

A resina polimérica é então, submetida a dois tratamentos térmicos para obtenção do material exatamente com a estequiometria desejada. Assim, a primeira calcinação deve ser realizada em temperaturas próximas de 473 K para decomposição das cadeias poliméricas (combustão de parte da matéria orgânica). O segundo tratamento térmico é realizado com temperaturas variando entre 473 K e 1073 K, ocasionando a oxidação dos cátions e levando a obtenção das fases cristalinas (MARTINELLI, 2011).

Durante o processo de síntese, a etapa mais crítica é a obtenção do precursor amorfo que após os tratamentos térmicos adequados permite a obtenção dos óxidos mistos pretendido. De

maneira geral, este tipo de metodologia permite obter perovskitas com alta área superficial, partículas menores, bom grau de homogeneidade química e distribuição de fases controladas (HOSSAIN *et al.*, 2017; PECHINI, 1967).

No que se refere a otimização do processo de síntese dos pós precursores alguns agentes são influenciadores, tais como: a relação entre ácido cítrico e metal que está ligada com a estequiometria dos sistemas modificados; a proporção entre ácido cítrico e etileno glicol que apesar de não afetar a estequiometria, necessita de uma maior variação de temperatura e um maior tempo de eliminação da matéria orgânica (CARREÑO *et al.*, 2002; ZANETTI, 1997).

Para Sánchez *et al.* (2010), a utilização do método dos precursores poliméricos permite a obtenção de partículas em escala nanométrica. Suslov *et al.* (2017) sintetizou dois tipos de óxidos, o titanato de bário-estrôncio ($\text{Ba}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{TiO}_3$) e titanato de lantânio-lítio ($\text{La}_{0.5}\text{Li}_{0.5}\text{TiO}_3$) e por microscopia eletrônica de varredura observou que os materiais tinham o tamanho de 450-500 nm e 700-750 nm, respectivamente.

Para avaliar a propriedade fotocatalítica destes materiais, a quimiometria torna-se extremamente útil, pois permite realizar uma análise multivariada dos dados. Nesse sentido, Alijani *et al.* (2014) sintetizou o N-TiO₂-P25 e por meio do planejamento do tipo composto central estudou a degradação do ácido vermelho 73. Behnajady e Hajiahmadi (2013) otimizou os efeitos de ânions inorgânicos na presença de TiO₂ utilizando o planejamento também do tipo composto central com o objetivo de avaliar, por meio da superfície de resposta, a degradação do ácido vermelho 17, já Babajani e Jamshidi (2019) sintetizou nanopartículas de óxido de zinco dopado com irídio para estudar a degradação do verde malaquita utilizando planejamento do tipo Box Behnken, todos os autores citados obtiveram resultados promissores em seus trabalhos. Logo, dada a importância da quimiometria e para um melhor entendimento sobre esta área, seus conceitos serão apresentados no tópico seguinte.

3.9 Quimiometria

A quimiometria é uma área da Química que utiliza métodos matemáticos, estatísticos e outras técnicas que empregam a lógica para projetar ou selecionar medidas ideais para os procedimentos e experimentos, de forma a extrair a maior quantidade de informações, a partir da análise dos dados químicos. Os primeiros registros quimiométricos surgiram no início dos anos 70 pelos pesquisadores Svante Wold, Bruce L. Kowalski e D.L. Massart, porém o nome quimiometria foi introduzido posteriormente por S. Wold, que a incluiu como um campo de estudo dentro da Química (HÉBERGER, 2008).

Um grande fato que contribuiu para o avanço da quimiometria foi o desenvolvimento de computadores mais modernos e acessíveis, logo no passado os poderosos algoritmos que passavam horas em *desktops* ou exigiam acesso a *mainframes*, tornaram-se ferramentas para utilização em laboratórios químicos. Em consonância com esta grande revolução encontrava-se o crescimento da química instrumental com o desenvolvimento de instrumentos rápidos e automatizados, que promoviam a geração de conjuntos de dados multivariados a partir de técnicas como a cromatografia hifenizada e multidimensional ou RMN, necessitando assim de métodos que pudessem tratar esses dados gerados (BRERETON *et al.*, 2017).

A quimiometria pode ser considerada uma área recente dentro da química analítica e desde seu surgimento, muitos métodos são utilizados no intuito de tornar possível a interpretação e o processamento de dados que antes não poderiam ser analisados. Assim, a quimiometria foi inicialmente aplicada na química analítica quantitativa, como calibração NIR, resolução HPLC e deconvolução UV / Vis (SIMÕES, 2008; BRERETON *et al.*, 2017).

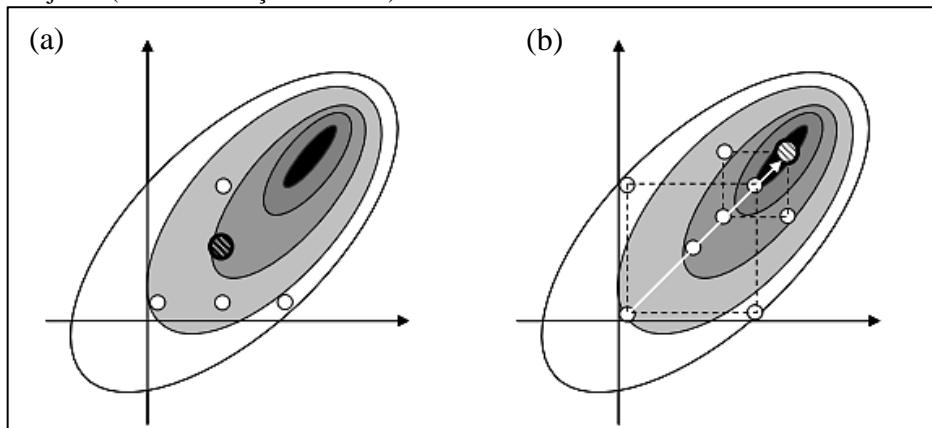
Com o passar dos anos, a quimiometria juntamente com as técnicas instrumentais passou a auxiliar diversos estudos, tais como: o desenvolvimento de novos fármacos (SINGH *et al.*, 2013), análise de poluentes em solos (MOSTERT, AYOKO e KOKOT, 2010) e água (ROUT *et al.*, 2013), o exame de documentos forenses (BORBA *et al.*, 2017) e preparação de nanomateriais (DIL *et al.*, 2017).

Desde seu surgimento diversas ferramentas quimiométricas foram desenvolvidas no intuito de realizar tratamento de dados em diferentes aplicações. Nesse sentido, as principais áreas da quimiometria são: reconhecimento e classificação de padrões, calibração multivariada modelagem e monitoramento de processos e monitoramento de processos multivariados, estrutura - modelagem de (re) atividade e planejamento e otimização de experimentos (OLIVIERI, 2014; SIMÕES, 2008; WOLD e SJÖSTRÖM, 1998).

3.9.1 Planejamento e otimização de experimentos

O planejamento de experimentos (DOE, do inglês *Design of Experiments*) é um método quimiométrico que busca determinar a influência de mudanças dos fatores experimentais em um processo sobre o resultado do processo. Assim, o DOE fornece informações sobre a interação entre os fatores, bem como acerca do funcionamento do sistema como um todo, o que não é obtido mantendo algumas condições constantes e testando um único fator por vez (Figura 15) (OLSSON, 2006; ANDERSON, 1997).

Figura 15 – Variáveis estudadas (a) separadamente (sem utilizar o DOE) e (b) em conjunto (com a utilização do DOE).



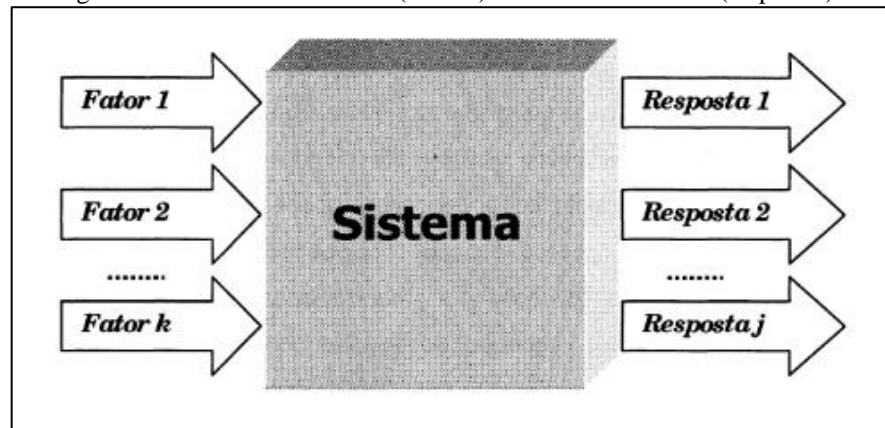
Fonte: Olsson (2006)

De acordo com Barros Neto, Scarminio e Bruns (2001), um bom planejamento ocorre quando projeta-se um experimentos de modo que ele seja capaz de fornecer exatamente a informação que se deseja. Assim, inicialmente precisa-se saber o que de fato procura-se, pois, dependendo do objetivo traçado, algumas técnicas podem ser mais vantajosas, enquanto outras são inócuas.

Para realizar um DOE é preciso definir o problema, as variáveis (fatores), bem escolher a região de interesse, a partir da determinação de um intervalo de variabilidade para cada parâmetro indicado. O número de valores que as variáveis podem assumir é restrito e depende de cada DOE. Assim, pode-se lidar com variáveis discretas qualitativas e quantitativas. As variáveis contínuas quantitativas são discretizadas dentro de seu intervalo. Além disso, a princípio pode ser que não se conheça a região de interesse, levando a exclusão do planejamento ideal definido inicialmente, portanto, a região deve ser ajustada mais tarde, assim que o erro for detectado. O DOE e o número de níveis (valores diferentes que uma variável pode assumir conforme sua discretização) são selecionados a partir dos números de experimentos obtidos. A quantidade de níveis pode ser ou não, a mesma para todas variáveis (CAVAZZUTI, 2013).

As respostas obtidas a partir da utilização do DOE são as variáveis de saída, nas quais poderão ser ou não afetadas pela modificação provocadas nos fatores (manipulações). Dependendo do problema a ser estudado, várias respostas de interesse são obtidas (Figura 16) e se necessário essas podem ser avaliadas simultaneamente (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2001).

Figura 16 – Representação de um sistema que pode ter uma função desconhecida, interligando as variáveis de entrada (fatores) as variáveis de saída (respostas).



Fonte: Barros Neto, Scarminio e Bruns (2001)

A utilização do DOE é importante, já que é crescente a exigência quanto a diminuição de custos e a otimização de propriedades de diferentes produtos e processos. Uma vantagem de utilizar esse método quimiométrico é que ele mostra como os fatores estão interagindo na resposta de uma ampla gama de valores, sem a necessidade de testar diretamente todos os valores possíveis (MOREIRA *et al.*, 2016; ANDERSON, 1997).

Leardi (2009) cita as cinco etapas que devem ser consideradas na realização de um planejamento experimental:

- Definição do objetivo experimental;
- Detecção de todos os fatores que podem ter efeito sobre o sistema;
- Elaboração do Planejamento experimental;
- Realização das experiências, conforme o planejamento anteriormente elaborado;
- Análise dos dados obtidos a partir dos testes realizados.

A otimização de experimentos está relacionada com o estabelecimento das condições experimentais, sendo um procedimento realizado com o objetivo de produzir a melhor resposta possível. A natureza da resposta varia conforme o tipo de procedimento experimental utilizado, bem como o propósito para qual a resposta é requerida (CALDAS *et al.*, 2011).

Simões (2008) afirma que para a construção de planejamentos otimizados os seguintes procedimentos devem ser realizados:

- Especificação do tipo de planejamento;
- Determinação da região de interesse;
- Seleção dos números de sequencias a serem realizadas;
- Especificação do critério ótimo;

- Realização da escolha dos pontos do modelo para obtenção do conjunto de pontos candidatos de interesse do pesquisador.

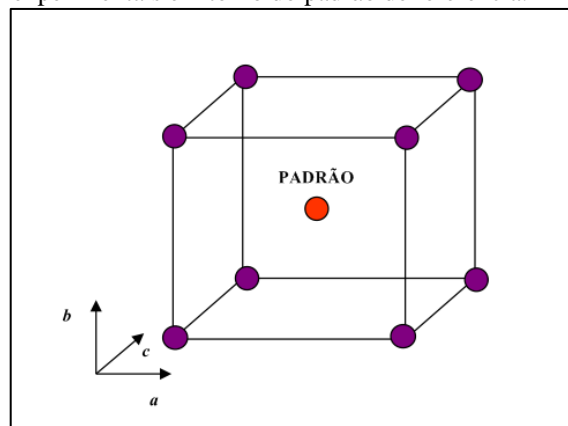
Um bom planejamento experimental se constitui em uma técnica efetivamente econômica que a partir de um número relativamente pequeno de experimentos apresenta resultados confiáveis, que quando analisados corretamente produzirá resultados estatisticamente seguros. Uma das principais vantagens na utilização de DOE é o exame metódico dos efeitos das variáveis, especialmente de suas interações que podem contribuir para resolução de problemas complexos (BARAD, 2014).

Conforme Eriksson *et al.* (2000), o DOE pode ser utilizado pela indústria nos processos de pesquisa, desenvolvimento e produção, auxiliando em:

- Otimização de processos de fabricação, bem como da instrumentação analítica;
- Sondagem e identificação dos fatores determinantes;
- Testes de robustez dos métodos aplicados e dos produtos desenvolvidos;
- Realização de experimentos de formulação.

O DOE baseia-se no procedimento de seleção da quantidade de tentativas, bem como as condições para executá-las. Esta técnica envolve a realização de um conjunto ensaios experimentais que sejam representativos em relação a variável de entrada. Nesse sentido, uma forma comum do DOE é inicialmente definir um padrão de referência e em seguida realizar novas experiências representativas em torno dele, conforme ilustrado na Figura 17. Os novos experimentos realizados são dispostos simetricamente em torno do padrão de referência, mais conhecido como ponto central (ERIKSSON *et al.*, 2000; BALAMURUGAN e SAMSOLOMAN, 2014).

Figura 17 – Distribuição simétrica dos pontos experimentais em torno do padrão de referência.



Fonte: Adaptado de Rüttimann e Wegener (2015)

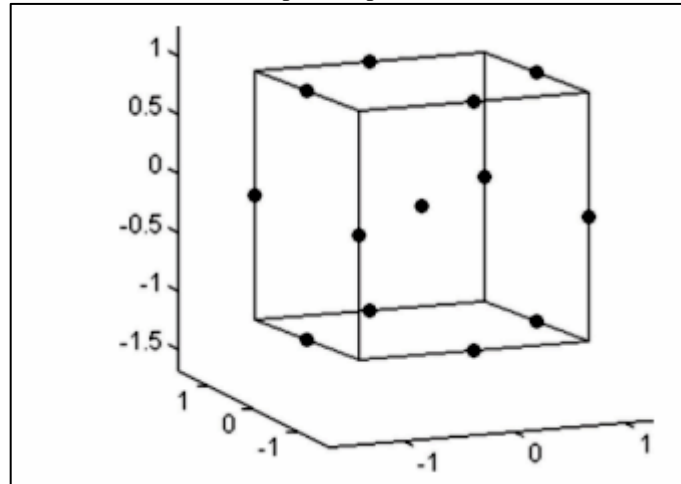
O DOE pode ser considerado uma técnica que apresenta múltiplos propósitos, já que pode ser aplicada a experimentos físicos e de simulação, além de auxiliar na investigação de um valor numérico de uma expressão analítica complexa, cujos os parâmetros são variados ou outros problemas de decisão, aos quais os efeitos entre os fatores precisam ser avaliados (BARAD, 2014; BOX, STUART HUNTER e HUNTER, 2005). Existem diversas técnicas de planejamento e otimização de experimentos, como o planejamento fatorial, composto central e o modelo de Box Behnken.

3.9.1.1 Planejamento do tipo Box-Behnken

O planejamento do tipo Box-Behnken foi desenvolvido por Box e Behnken (1960) a partir da elaboração de um novo modelo de planejamento baseado em três níveis para a adaptação de superfície de resposta. Este tipo de DOE é formado por meio da combinação de experimentos fatoriais 2^k , em que k é o número de fatores, com projetos de blocos incompletos. O modelo Box-Behnken é esférico com todos os pontos em uma esfera de raio $\sqrt{2}$, além disso, este DOE não contém nenhum ponto nos vértices da região cúbica criada pelos limites superior e inferior de cada variável (MANOHAR *et al.*, 2013).

Nesse sentido, este planejamento supera algumas lacunas do design composto central, evitando os pontos axiais e os situados no canto do *design* ou ignorando a combinação de fatores extremos. Este DOE apresenta três níveis (baixo, médio e alto), conforme a Figura 18 e se caracteriza por ser totalmente rotativo, já que ele fornece a propriedade desejável da variação constantes em todos os pontos que estão equidistantes do centro de design. Somasse a isto, quando comparado com o composto central, esse tipo de planejamento fornece um menor número de ensaios experimentais para um mesmo número de fatores avaliados (SAHU e ANDHARE, 2018).

Figura 18 – Cubo para o modelo Box-Behnken, que é caracterizado por possuir um ponto central, pontos localizados no centro da aresta e não possuir pontos nos vértices.



Fonte: Sahu e Andhare (2018)

Conforme relata Kittidecha e Marasinghe (2015), o número de experimentos utilizados na elaboração do planejamento do tipo Box-Behnken é definido por

$$N = 2k(k-1) + C_0 \quad (27)$$

Onde: N é o número de ensaios a ser realizado, k é a quantidade de fatores e C_0 é o número de repetições no ponto central.

De acordo com Mourabet *et al.* (2014) e Manohar *et al.* (2013) a performance e otimização deste tipo de planejamento pode ser avaliada analisando a resposta (y) obtida, sendo esta dependente dos fatores de entrada (X_1, X_2, \dots, X_k), a partir da seguinte relação:

$$y = f(X_1, X_2, \dots, X_k) + \varepsilon \quad (28)$$

Onde f é a função da resposta, cujo formato é desconhecido, enquanto ε é o resíduo associado aos ensaios realizados. A resposta pode ser representada em um gráfico tridimensional ou de contorno, os quais visualiza-se a forma da superfície de resposta. Assim, uma equação polinomial de segunda ordem é normalmente utilizada para ajustar os dados experimentais e determinar os termos relevantes do modelo:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (29)$$

Onde β_0 é o coeficiente constante, β_i é o efeito linear do fator de entrada X_i , β_{ij} é a interação entre os fatores lineares, β_{ii} é o efeito quadrático do fator de entrada X_i e ε é o erro aleatório.

Gujral, Kapoor e Jaimini, (2018) apontam algumas características e vantagens na utilização do planejamento Box-Behnken:

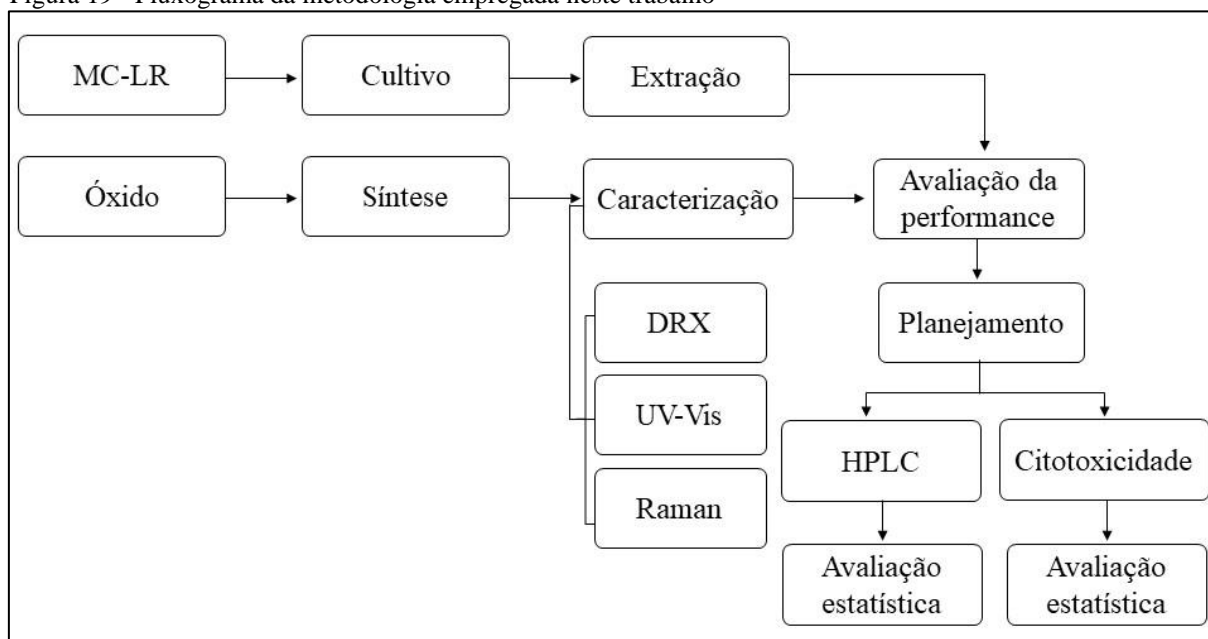
- Não são adequados para realizar experimentos sequenciais;
- Todos os fatores são estudados em três níveis (baixo, médio e alto);
- Realiza menos ensaios experimentais, já que possuem menos pontos em comparação com os projetos de compostos centrais;
- Não possui pontos axiais;
- Garante que todos os fatores não sejam ajustados simultaneamente em seus níveis mais baixos ou mais altos.

4 METODOLOGIA

4.1 Local de realização da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Química Sanitária e Ambiental (LAQUISA) da Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários (EXTRABES), no Laboratório de Pesquisa em Ciências Ambientais (LAPECA) do Centro de Ciências e Tecnologia (CCT) e no Laboratório de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), localizados na cidade de Campina Grande, estado da Paraíba, situada no agreste e distante à 120 km de João Pessoa, capital do estado. O trabalho foi executado seguindo o fluxograma da figura 19 que será melhor discutido a seguir.

Figura 19 - Fluxograma da metodologia empregada neste trabalho



Fonte: Autor (2019)

4.2 Cultivo da *Microcystis aeruginosa*

A cepa *Microcystis aeruginosa*, produtora da microcistina-LR foi cedida pelo Prof. Dr. Armando Augusto Henriques Vieira, vinculado ao Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos. Esta cianobactéria foi obtida a partir do isolamento de células coletadas no Rio Tietê, localizado em São Paulo.

A espécie de *Microcistina*-LR é cultivada pelo LAQUISA na Sala de Cultura de Algas e Cianobactérias (Figura 20). O cultivo foi realizado em meio ASM-1, adequado para o crescimento microbiano, com temperatura controlada (24 ± 1) °C, fotoperíodo de 12 horas recebendo em torno de 1.200 LUX, fornecido por lâmpadas tubulares fluorescentes de 40 W e 12 horas sem a iluminação.

Figura 20 – Sala de cultivo da microcistina-LR.



Fonte: Autor (2019)

Após alcançar a fase exponencial de crescimento, aproximadamente 15 a 18 dias, o cultivo foi replicado para volumes maiores, ou seja, transferiu-se uma pequena quantidade do cultivo de *microcistina*-LR antigo para uma cultura nova. As células foram replicadas em volumes menores de 10 mL em tubos de ensaio e depois em volumes maiores de 1.000 mL até atingir 2.000 mL. O repique foi realizado em câmara de fluxo laminar equipada com um bico de Bunsen, com toda vidraria esterilizada e em temperatura ambiente.

Após replicado, o cultivo passou ser aerado continuamente, através da utilização de um compressor de ar para aeração de aquário (Inalar Compact-NS). Para evitar a contaminação das células da toxina pelo ar, as vidrarias contendo as células da toxina foram autoclavadas utilizando pipetas de Pasteur, algodão e papel alumínio.

O cultivo da *Microcystis aeruginosa* foi baseado no método Estático, também chamado de Batch, o qual ocorre a transferência das células que não atingiram a fase de crescimento estacionário, sendo realizado a cada 15-18 dias, quando o cultivo apresenta o crescimento na ordem de 10^6 células.mL⁻¹, denominado de exponencial. Para quantificar a densidade celular aplicou-se o método de sedimentação proposto por Utermöhl (1958) e a contagem de células utilizando um microscópio invertido.

O meio de cultura ASM-1 utilizado foi modificado de Gorham *et al.* (1964) e Zagatto e Aragão (1992), sendo preparado a partir de soluções denominadas de A, B, C e D (Tabela 6), conforme a tabela 6, diluídas em 1.000 mL de água deionizada com posterior correção do pH para 7,4. A solução foi esterilizada em autoclave vertical (PRISMATEC) à 120 °C, pressão de 1 atm, durante 20 minutos.

Tabela 6 – Soluções utilizadas para preparo do meio de cultura ASM-1.

Soluções Estoque	Nutrientes	Quantidade (g)
Sol. A	NaNO ₃	8,5000
	MgSO ₄ + 7H ₂ O	2,4500
	MgCl ₂ + 6H ₂ O	2,0500
	CaCl ₂ + 2H ₂ O	1,4500
Sol. B	KH ₂ PO ₄	8,7000
	Na ₂ HPO ₄ + 12H ₂ O	17,8000
	H ₃ BO ₃	28,4000
Sol. C	MnCl ₂ + 4H ₂ O	13,9000
	FeCl ₂ + 6H ₂ O	10,8000
	ZnCl ₂	3,3500
	CoCl ₂ + 6H ₂ O	0,1900
Sol. D	CuCl ₂ + 2H ₂ O	0,0140
	EDTA titriplex	18,6000

Fonte: Adaptado de Gorham *et al.* (1964); Zagatto e Aragão (1992)

Toda vidraria utilizada foi esterilizada, assim, inicialmente foram imersas em solução de ácido clorídrico (5%) durante 24 horas, em seguida ocorreu a autoclavagem a 121 °C e pressão de 1 atm durante 20 minutos e por último foram submetidas a radiação UV durante um período de 30 minutos.

4.3 Extração da MC-LR

Ao atingir a fase exponencial de crescimento com a concentração de 10⁶ células.mL⁻¹, depois de aproximadamente 15 dias de incubação, o cultivo foi submetido a lise celular pelo congelamento e descongelamento, realizado três vezes consecutivas para promover a liberação da microcistina-LR para o meio líquido.

Após a ruptura celular, a solução da toxina foi submetida a consecutivos processos de centrifugação a 3.600 rpm em centrífuga Baby da marca Fanem e modelo 206, utilizando tubos (falcon), por aproximadamente 10 minutos. A cada etapa de centrifugação o sobrenadante clarificado foi mantido e posteriormente filtrado utilizando papel filtro.

Em seguida, iniciou-se a Extração em Fase Sólida (EFS) utilizando uma bomba a vácuo (Vacuum Manifold) com cartuchos octadecilsilano tipo C18 (Vertepark) (Figura 21), que no primeiro uso foram condicionados com a passagem de 5 mL de metanol (NEON, grau analítico) e 5 mL de água destilada, deixando o vácuo ligado por 20 minutos para secagem da sílica.

Figura 21 – Bomba a vácuo.



Fonte: Autor (2019)

Logo depois de centrifugado e condicionado, a solução com MC-LR foi passada em pequenos volumes nos cartuchos C18 e eluído com 5 mL de metanol, sob fluxo contínuo de 5 mL/min., recomendado para que não ocorra perdas do analito por carreamento. Após eluído, o extrato concentrado foi recolhido em frascos âmbar de 50 mL e armazenados.

Por último, a partir do volume final da microcistina-LR concentrada, foi recolhido uma alíquota, para quantificação da toxina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a um Espectrômetro de Massas (HPLC-MS). O extrato armazenado foi conservado em freezer até o momento de sua utilização nos ensaios experimentais.

4.4 Síntese dos óxidos modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$

Os óxidos modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ ($X = 0,25; 0,50; 0,75$) foram elaborados com base no método dos precursores poliméricos, a partir da formação de um quelato entre o ácido carboxílico, ácido crítico e os cátions metálicos utilizados, sendo posteriormente polimerizado com o uso do etilenoglicol levando a formação de um poliéster, que foi tratado termicamente para obtenção de um material cristalino. Os citratos de estanho e zircônio foram obtidos a partir da descrição disponíveis na literatura.

A síntese dos fotocatalisadores puros e modificados foi realizada, colocando-se a solução de citrato de estanho (solução 1) e o ácido nítrico em um béquer com agitação constantemente a temperatura de 60 °C. Posteriormente, foram adicionadas quantidades

estequiométricas previamente estabelecidas da solução de citrato de zircônio, originando os óxidos modificados (solução 2).

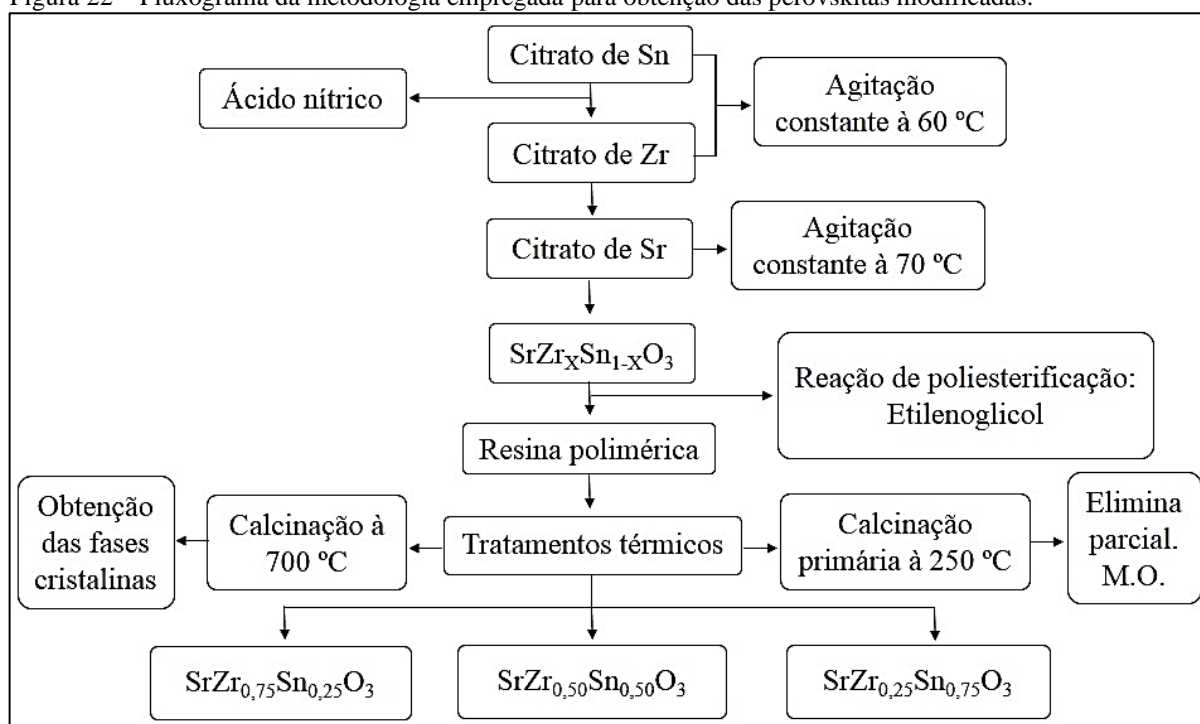
Uma solução de citrato de estrôncio (solução 3) foi preparada sob agitação constante e temperatura de 70 °C, a partir do nitrato de estrôncio, sendo em seguida adicionada solução 1 em quantidades estequiométricas.

Por último, a adição de etilenoglicol foi realizada, no intuito de promover a reação de polimerização e em seguida a solução foi aquecida até atingir 90 °C sob agitação constante para ocorrer a eliminação de NO_x e levar a formação do gel polimérico, também denominado de resina, sendo este levado à capela para evaporar e reduzir pela metade do volume inicialmente utilizado.

A adição de cada uma das soluções descritas anteriormente, foi realizada em um forno do tipo mufla para ocorrer a calcinação primária a 250°C por 1 h. Esta etapa do processo foi realizada de maneira gradativa utilizando-se uma razão de aquecimento de 2 °C.min⁻¹.

O pó precursor obtido a partir da calcinação foi desprendido com um auxílio de um pistilo e almofariz, sendo em seguida passado em uma peneira de 100 mesh para ocorrer a homogeneização da granulometria. O pó foi então tratado a 250 °C por um período de 2 horas em atmosfera de ar sintético, sendo realizado com uma razão de aquecimento de 2 °C.min⁻¹ e recristalizado em um forno do tipo mufla a 700 °C. O fluxograma da Figura 22 resume a metodologia empregada para obtenção dos óxidos modificados.

Figura 22 – Fluxograma da metodologia empregada para obtenção das perovskitas modificadas.



Fonte: Adaptado de Alves *et al.* (2009)

4.5 Caracterização das estruturas de $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$

As perovskitas foram caracterizadas utilizando técnicas de difração de raios x, espectroscopia de Raman e espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, no intuito de verificar se as modificações foram realmente obtidas. A caracterização foi realizada em parceria com o Laboratório de Combustíveis e Materiais do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba, LACOM/DQ/CCEN/UFPB.

4.5.1 Difração de Raios X

As medidas foram realizadas em um espectrômetro de difração de raios X, de modelo XRD-6000, da marca SHIMADZU, que possui potência de 2 kVA, voltagem de 30 kV e corrente de 30 mA. As fendas utilizadas nesta análise foram a de dispersão 1° , divergência 1° , além da fenda de recepção que possuía 0,3 mm e as amostras foram submetidas a varreduras entre $2\theta=10-90^\circ$.

4.5.2 Espectroscopia de Raman

Os óxidos estruturalmente modificados foram também submetidos a análises em um espectrofotômetro Raman com acessório para fotoluminescência, acoplado a um microscópio Renishaw Raman com in Via um diodo de laser de estado sólido que realiza operação a cada 5 minutos de exposição do detector.

4.5.3 Espectroscopia de Absorção na Região do UV-Vis

As amostras foram submetidas a análises em um Espectrofotômetro UV-Visível, modelo UV-2550 da marca SHIMADZU, sendo os registros dos espectros foram obtidos na região de 900 nm a 190 nm.

4.5 Planejamento experimental

Para avaliar a performance dos óxidos de perovskitas $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ estruturalmente modificados, foi utilizado um planejamento do tipo Box Behnken elaborado no programa Statistica®. Este tipo de delineamento foi utilizado, pois permite avaliar o mesmo número de fatores de um planejamento do tipo fatorial 3^3 , realizando menos experimentos.

Neste trabalho foram estudados três níveis e três fatores, totalizando 15 ensaios, enquanto se aplicado o planejamento fatorial 3^3 deveriam ser realizados 27 experimentos, assim, o planejamento do tipo Box Behnken, torna-se mais viável, devido a limitação na quantidade de amostra.

Os fatores estudados foram: tempo, massa do óxido modificado e estequiometria, variando nos níveis mínimo (-), intermediário (0) e máximo (+). A quantidade de radiação foi mantida constante (2 lâmpadas UVC de 30 W). A Tabela 7 apresenta os fatores e níveis estudados.

Tabela 7 – Fatores e Níveis estudados.

Fator	Nível mínimo (-)	Nível intermediário (0)	Nível máximo (+)
X1: Massa do óxido (g)	0,1000	0,2000	0,3000
X2: Tempo (h)	5	9	16
X3: Estequiometria	$\text{SrZr}_{0,75}\text{Sn}_{0,25}\text{O}_3$	$\text{SrZr}_{0,50}\text{Sn}_{0,50}\text{O}_3$	$\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$

Fonte: Autor (2019)

Os fatores foram escolhidos a partir de estudos de artigos científicos, acompanhamento do processo de síntese dos óxidos de perovskitas modificados e resultados promissores na degradação de outro poluente orgânico (MOMANI, SMITH e EL-DIN, 2008; KLAFKE, 2016).

A Tabela 3 apresenta a matriz experimental do planejamento Box Behnken codificada que foi utilizada para realização dos experimentos.

Tabela 8 - Matriz de planejamento Box Behnken codificada.

Exp.	X1	X2	X3
1	-	-	0
2	+	-	0
3	-	+	0
4	+	+	0
5	-	0	-
6	+	0	-
7	-	0	+
8	+	0	+
9	0	-	-
10	0	+	-
11	0	-	+
12	0	+	+
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Fonte: Autor (2019)

O planejamento do tipo Box Behnken com três fatores permite escrever um modelo de regressão polinomial de segunda ordem para otimização experimental, a partir da Equação:

$$\hat{y} = \hat{b}_0 + \hat{b}_1x_1 + \hat{b}_2x_2 + \hat{b}_3x_3 + \hat{b}_{12}x_1x_2 + \hat{b}_{13}x_1x_3 + \hat{b}_{23}x_2x_3 + \hat{b}_{11}x_{11}^2 + \hat{b}_{22}x_{22}^2 + \hat{b}_{33}x_{33}^2 + E \quad \text{Eq (30)}$$

Sendo:

\hat{y} : A medição da resposta a partir da combinação dos fatores;

$\hat{b}_0 - \hat{b}_3$: Coeficiente de regressão;

E: Erro experimental;

x_1, x_2, x_3 : Fatores avaliados.

4.6 Degradação Fotocatalítica

Os experimentos, definidos pelo modelo Box Behnken, foram realizados utilizando um reator fotocatalítico, composto por uma câmara de radiação contendo três lâmpadas UVC da marca Phillips, com potência de 30 W e que absorvem no comprimento de onda 254 nm. As lâmpadas são acopladas na parte superior do reator e possuem circuitos independentes (Figura 23).

Figura 23 – Reator fotocatalítico utilizado.



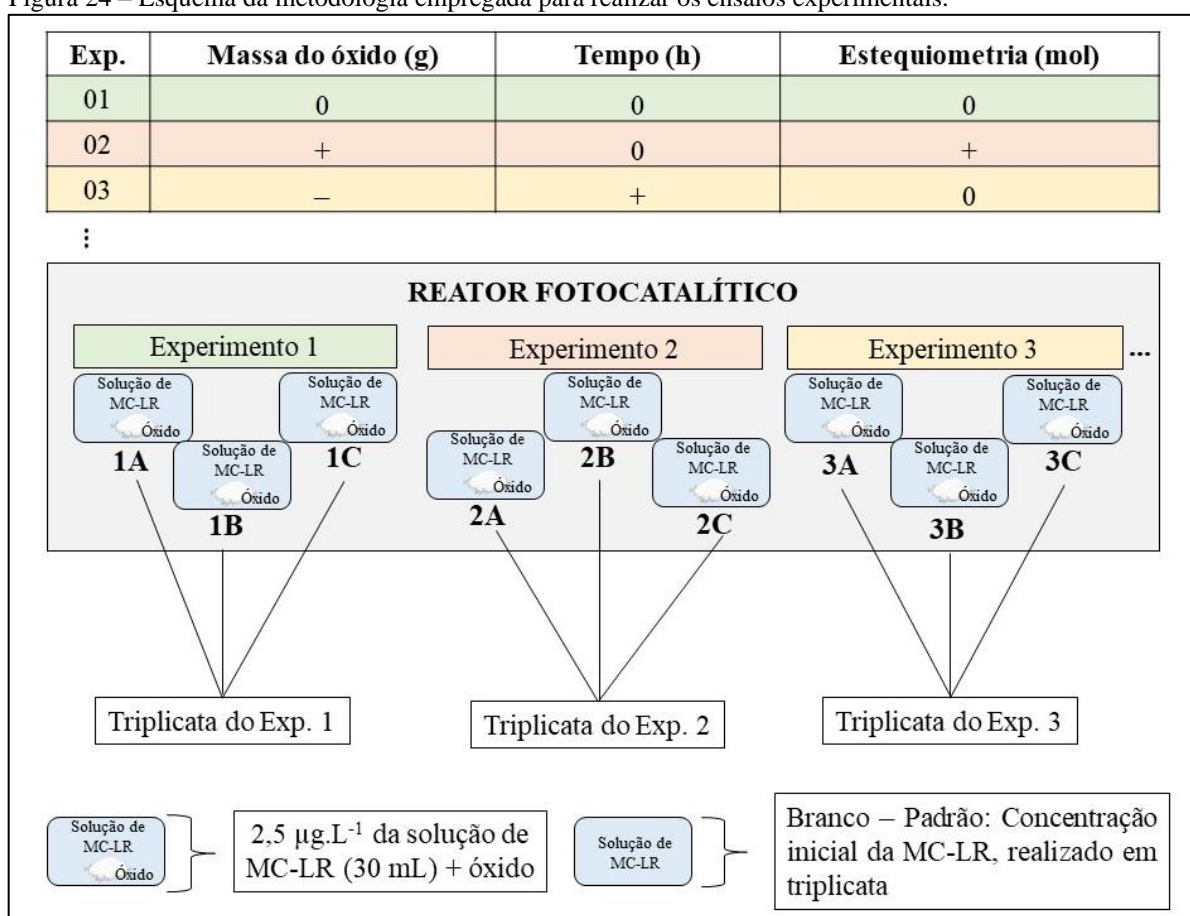
Fonte: Autor (2019)

A partir da solução de microcistina-LR semipurificada, com a concentração de $8\mu\text{g.L}^{-1}$, preparou-se 1 L de solução estoque com concentração de $2,5\mu\text{g.L}^{-1}$ que foi utilizada para realização dos ensaios.

Cada experimento realizado utilizou 30 mL da solução estoque de microcistina-LR que foi colocada em um recipiente de vidro, a qual foi posteriormente adicionada a quantidade adequada de óxido definida pelo planejamento experimental. A solução foi levada para o reator, onde foi exposta a radiação UVC pelo tempo definido também no planejamento experimental. O número de lâmpadas UVC foi mantido constante (2 lâmpadas de 30 W).

A fim de avaliar a performance dos fotocatalisadores em relação a fotodegradação da microcistina-LR, além das soluções submetidas as condições experimentais definidas pelo modelo Box Behnken, uma porção da solução estoque na qual não se adicionou óxido e que não foi submetida a radiação UVC, também foi analisada por HPLC e submetida aos testes de hemólise. Na Figura 24 pode-se visualizar um esquema da metodologia adotada para os ensaios experimentais.

Figura 24 – Esquema da metodologia empregada para realizar os ensaios experimentais.



Fonte: Autor (2019)

4.7 Quantificação da microcistina-LR por HPLC-MS

A quantificação e identificação da microcistina-LR nas amostras foi realizada utilizando um cromatógrafo líquido, Thermo Scientific, modelo ultimate 3000, acoplado a um espectrômetro de massas também da Thermo Scientific, modelo LCQ Fleet. Os parâmetros utilizados nas corridas cromatográficas estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9 – Descrição dos parâmetros utilizados na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas.

PARÂMETROS	DESCRIÇÃO
Pré-Coluna	Cartucho ULTRA C18 (3 x 2,1 mm)
Coluna	KINETEX C18 (2,6 µm x 100 mm x 2,1 mm)
Gradiente de concentração	50% H ₂ O e 50% de acetonitrila e 1% de ácido fórmico (isocrático)
Tempo total de análise	5 minutos
Volume de injeção da amostra	100 µL
Gases utilizados	Hélio e Nitrogênio
Temperatura do capilar	350 °C
Voltagem do detector	5 kV
Interface	Electrospray ionization (ESI) - modo positivo
Íons monitorados	Monitoramento no modo positivo FULLSCAN
Intervalo de varredura <i>m/z</i>	0 até 5 minutos (800 a 1050). Monitoramento no modo positivo de ionização, varredura dos íons no modo FULLSCAN, e SIM para Microcistina LR: <i>m/z</i> = 995,5560 (M + H) ⁺
Tempo de acumulação de íons no octapolo	Microcistina-LR: 100 milissegundos
Temperatura do Forno da coluna	40 °C

Fonte: Autor (2019)

A curva de calibração foi elaborada a partir de uma solução padrão com concentração de 101 µg.L⁻¹ obtida e certificada pela National Research Council, Canadá. Para isso foram analisados sete pontos com as respectivas concentrações: 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 7,5; 15; 30 µg.L⁻¹. Todos os pontos foram preparados utilizando como solvente água/metanol (50:50), conforme as características descritas na Tabela 9. A curva obtida foi linear com um coeficiente de correlação ($r^2 = 0.9908$).

4.8 Estudo da citotoxicidade da MC-LR

A citotoxicidade das soluções resultantes dos experimentos de fotodegradação, bem como da solução estoque foi analisada utilizando um teste de atividade hemolítica (LÓCIO,

2018). Este estudo também poderia ser realizado a partir de testes com artêmias, no entanto, devido a pequena quantidade de amostra disponível, optou-se pelos testes de atividade hemolítica que permitiu avaliar o produto final da fotodegradação quanto ao seu potencial carcinogênico.

Os testes de hemólise foram realizados em eritrócitos humanos frescos (tipo O+). Inicialmente, as soluções de MC-LR obtidas em cada experimento foram diluídas em soro fisiológico (1:10). Lavou-se as células sanguíneas por três vezes utilizando uma solução tamponada com fosfato. Em seguida, adicionou-se 2 mL da solução de MC-LR diluída e 2 mL da solução de hematócrito a um tubo de ensaio, deixando a solução incubadas durante 1h. Os testes foram realizados em triplicata e o ácido acético a 5% LT foi utilizado como droga hemolítica padrão. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 5 min. e o sobrenadante foi transferido para um outro tubo de ensaio. A hemoglobina libertada foi monitorada através da medição da absorbância a 540 nm utilizando um espectrofotômetro, Coleman, modelo 35/D. A porcentagem de hemólise foi calculada através da seguinte Equação:

$$\% \text{ hemólise} = \frac{\text{absorbância da amostra} - \text{absorbância do branco}}{\text{absorbância do controle do ácido acético a 5\% LT}} \times 100 \quad \text{Eq (31)}$$

4.9 Avaliação estatística dos dados obtidos

A partir da realização dos testes experimentais definidos pelo planejamento experimental do tipo Box Behnken, foi realizado o tratamento dos dados obtidos, utilizando o software Statistica® da statsoft, versão 10.

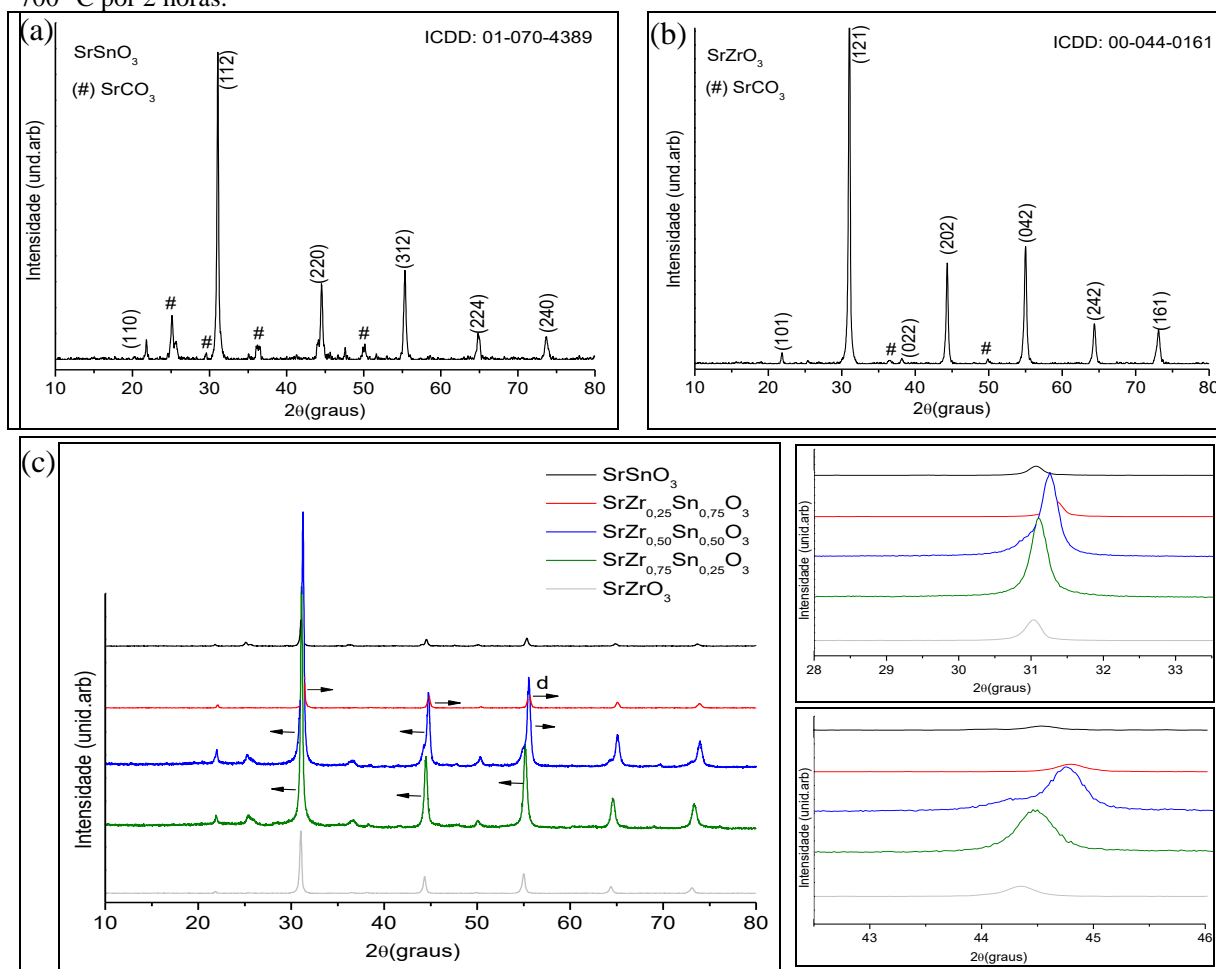
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do óxido

5.1.1 Difração de Raios-X

Os padrões de Difração de Raios X (DRX) dos óxidos modificados no sistema $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ calcinados a 700 °C por 2h são apresentados na Figura 25. As amostras apresentam picos bem definidos, referente a fase principal da estrutura da perovskita ortorrômbica (Pbnm), confirmadas por meio da indexação dos picos utilizando fichas cristalográfica ICDD 01-070-4389 (SrSnO_3) e 00-044-0161 (SnZrO_3) e para os óxidos substituídos. A análise permitiu avaliar o comportamento estrutural das amostras a longo alcance e dentro do seu limite de detecção.

Figura 25 – Padrões de DRX do(s) (a) SrSnO_3 , (b) SrZrO_3 e (c) óxidos modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ calcinado a 700 °C por 2 horas.



Fonte: Autor (2019)

Em adição, observa-se na Figura 25 (a) e (b), a formação de fase secundária com a presença de picos referentes ao carbonato de estrôncio, em torno de 25,3°; 36,2°; 44,2° e 50,0°, conforme a ficha ICDD 00-005-0418. Verifica-se ainda que, a formação de tais fases ocorreu mais intensamente no estannatos de estrôncio, pois possuem uma grande facilidade de formação de carbonatos durante a eliminação da matéria orgânica. Entretanto, estas fases secundárias não dificultam o processo de cristalização dos óxidos modificados. (LEE, *et al.*, 2012; ALVES, *et al.*, 2009; HU *et al.*, 2010).

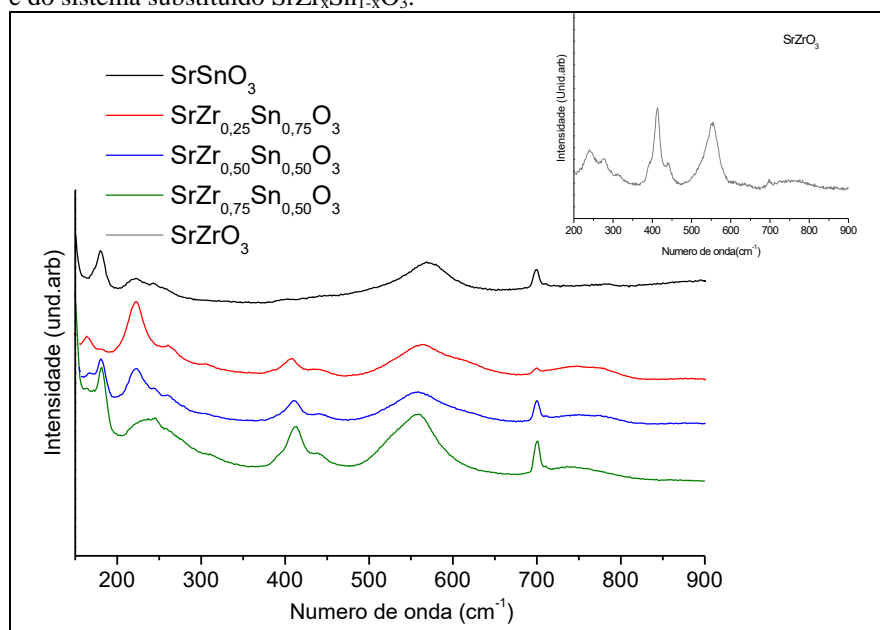
Os cátions que ocupam os sítios A e B da estrutura ABO_3 , possuem papel importante em relação ao grau de distorção e inclinações cooperativas na estrutura da perovskita ortorrômbica. Assim, pode-se observar para o sistema estudado ($SrZr_xSn_{1-x}O_3$) que o aumento da quantidade do Zr^{4+} no sítio B, favorece maior grau de distorções, devido ao seu maior raio, o que pode ser evidenciado nos padrões de DRX, onde pode-se observar um descolamento dos picos para maiores valores de teta. Este tipo de comportamento pode estar relacionado com uma maior desordem no sistema cristalino a longo alcance, devido ao rearranjo do cátion no sítio do octaedro dos óxidos modificados (Figura 25) (TARRIDA, LARGUEM e MADON, 2009).

Verificou-se ainda que os óxidos modificados no sistema $SrZr_xSn_{1-x}O_3$ apresentou picos bem definidos e com menores deslocamentos, logo pode-se afirmar que este tipo de sistema é mais ordenado, devido a mudança do cátion B em seu respectivo sítio (CAVALCANTE *et al.*, 2007; TARRIDA, LARGUEM e MADON, 2009; BOHNEMANN *et al.*, 2009).

5.1.2 Espectroscopia Raman

A técnica de espectroscopia Raman possui uma melhor sensibilidade quando comparada com a DRX, esta geralmente revela informações da estrutura a longo alcance, aquela além de permitir detectar as distorções a curto alcance, indica a simetria do material avaliado. A Figura 26 apresenta os espectros Raman do sistema substituído estudado $SrZr_xSn_{1-x}O_3$ e dos óxidos puros, ou seja, sem modificações estruturais.

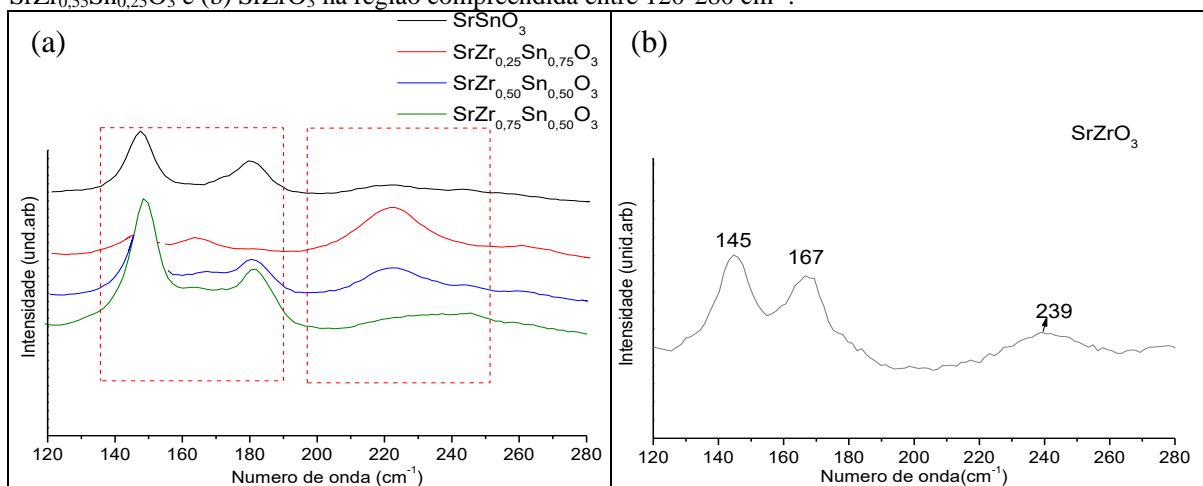
Figura 26 – Espectros Raman das perovskitas puras (sem modificações estruturais) e do sistema substituído $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$.



Fonte: Autor (2019)

Os resultados dos espectros do Raman (Figura 26) revelam que as amostras puras de SrZrO_3 e SrSnO_3 apresentam modos ativos típicos de perovskitas do tipo ortorrômbicas com 24 modos ativos no Raman, de acordo com a representação irreduzível, $\Gamma_{\text{Raman}} = 7A_g + 5B_{1g} + 7B_{2g} + 5B_{3g}$, porém não são observados todos os modos devido à sobreposição de alguns modos previstos ou baixa polarizabilidade das ligações químicas (ZHANG, TANG, YE, 2006; TARRIDA, LARGUEM e MADON, 2009; NAKAMOTO, 1986). Para uma melhor apresentação e entendimento dos dados, dividiu-se o espectro Raman em duas regiões, a primeira compreendida entre 120-280 cm^{-1} (Figura 27 (a) e (b)) e a segunda de 400-640 cm^{-1} .

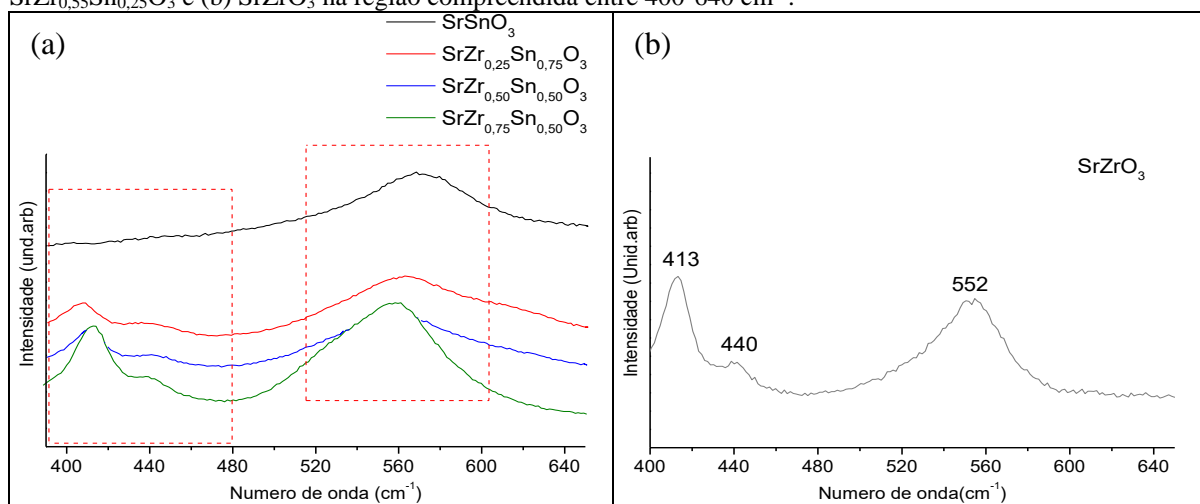
Figura 27 – Espectros Raman do sistema modificado $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$: (a) SrSnO_3 , $\text{SrZr}_{0.25}\text{Sn}_{0.75}\text{O}_3$, $\text{SrZr}_{0.50}\text{Sn}_{0.50}\text{O}_3$, $\text{SrZr}_{0.55}\text{Sn}_{0.25}\text{O}_3$ e (b) SrZrO_3 na região compreendida entre 120-280 cm^{-1} .



Fonte: Autor (2019)

De acordo com a Figura 27 ((a) e (b)), nota-se uma mudança do perfil das perovskitas na região entre 147 a 180 cm^{-1} , relacionado aos modos vibracionais de rede no sítio dodecaedro, cátion A da estrutura ABO_3 , que é também chamada de região do modificador de rede (TARRIDA, LARGUEM e MADON, 2009; ZHANG, TANG e YE, 2006). A substituição de um cátion menor (Sn^{4+}) por um cátion maior (Zr^{4+}) promove mudanças significativas nos modos vibracionais ativos dessas amostras, principalmente no sistema modificado $\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$ que apresentou mudanças expressivas em relação a região formadora de rede no sítio octaedro, do cátion B da estrutura ABO_3 , especialmente na região 223 cm^{-1} que é o modo vibracional da ligação B-O quando em comparação com as demais estruturas modificadas, apresentando assim um maior número de modos ativos no espectro Raman (ver tabela 10). A Figura 28 apresenta a região selecionada entre 400-640 cm^{-1} .

Figura 28 – Espectros Raman do sistema modificado $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$: (a) SrSnO_3 , $\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$, $\text{SrZr}_{0,50}\text{Sn}_{0,50}\text{O}_3$, $\text{SrZr}_{0,75}\text{Sn}_{0,25}\text{O}_3$ e (b) SrZrO_3 na região compreendida entre 400-640 cm^{-1} .



Fonte: Autor (2019)

Conforme verifica-se na Figura 28 ((a) e (b)), todos os sistemas apresentaram variações nos perfis de bandas nas regiões entre 407-412 cm^{-1} , referente ao modo torsional da ligação B- O_3 e 558-560 cm^{-1} do modo estiramento da ligação B-O (Figura 26 e Tabela 10). Além disso, conforme a literatura, foi verificada a presença das bandas entre 698-750 cm^{-1} que estão relacionadas com as vibrações de segunda ordem como resultado da sobreposição de vários modos ativos (TARRIDA, LARGUEM e MADON, 2009; ZHANG, TANG e YE, 2006; NAKAMOTO, 1986).

Tabela 10 – Frequências (cm^{-1}) das bandas dos espectros de Raman e designações para os sistemas modificados calcinados a 700 °C por 2 horas, onde: mfc – muito fraca; mft – muito forte; m – médio; fc – fraco; ft – forte.

MODOS	PRESENTES NESTE TRABALHO					Tarrida, (2009)	Zang, (2006)
	Sr _{100%}	Zr _{25%}	Zr _{50%}	Zr _{75%}	Zr _{100%}	SrZrO ₃	SrSnO ₃
Rede (Sr-BO ₃)	113(mfc)	113(mfc)	114(fc)	116(mfc)	116(fc)	95	119
	147(mft)	146(m)	148(ft)	148(mft)	-	109	150
	180(ft)	162(m)	167(mfc)	164(mfc)	-	118	168
		180(mfc)	180(m)	181(fc)	143(mft)	134	
					163(ft)	146	
						169	
					193		
Ligação (B-O)	222(m)	223(mft)	222(m)			239	220
	242(fc)	262(mfc)	244(mfc)	235(fc)	242(m)	279	257
		305(mfc)	261(mfc)		276(fc)		305
Torsional (B-O ₃)				309(mfc)	313(fc)	316	
	403(mfc)	405(m)	409(m)	412(m)	414(mft)	395	403
		436(fc)	440(mfc)	438(mfc)	440(fc)	415	
					442		
Estiramento (B-O)	567(ft)	562(ft)	558(m)	557(m)	553(mft)	478	551
						554	596
Vibrações de segunda ordem	699(m)	700(fc)	700(m)	704(m)	698(fc)	621	713
		750(m)				655	890
						755	
Totais de modos ativos	08	12	11	10	10	18	11

Fonte: Autor (2019)

Os espectros de Raman dos sistemas $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ evidenciaram que a composição da perovskita estruturalmente modificada $\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$ pode apresentar um melhor potencial de fotodegradação da microcistina-LR em relação com os demais sistemas, já que apresentou um maior número de bandas ativas nos espectros Raman. Conforme apresenta a literatura, quanto maior o número de bandas observadas nos espectros de Raman, maior é o grau de distorção da estrutura da perovskita ortorrômbica, maior polarizabilidade da molécula e como consequência maior a migração de elétrons na rede cristalina, favorecendo assim o processo de fotodegradação dos poluentes orgânicos (ZHANG, TANG e YE, 2006; NAKAMOTO, 1986).

5.1.3 Espectroscopia UV-Visível

Os espectros de UV-Visível através da absorbância das amostras permitiram calcular a energia de “gap”, ajustado pelo método de Wood e Tauc (1972), conforme a Equação 31. Este modelo divide o espectro em três regiões: a de altos, médios e baixos valores de energia do

fóton. No entanto, normalmente é levantado o valor do “gap” ótico, a partir da região de valores de energia altos (SOLEDADE, 2003; WOOD e TAUC, 1972). A tabela 11 apresenta os valores de *band gap* para o sistema modificado $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$.

$$E_\alpha = (E - E_g)^{1/n} \quad \text{Eq (31)}$$

Sendo: E = Energia; E_g = Energia de gap ótico; α = Absorbância; n= Coeficiente experimental

Tabela 11 – Valores de “band gap” dos sistemas modificados $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$

Concentração de Zr^{4+} no sistema $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$	Energia de gap experimental (eV)
0	3,9
0,25	4,0
0,50	4,2
0,75	4,4
1,00	5,2

Fonte: Autor (2019)

Foi verificado que o aumento da quantidade do cátion substituinte no sistema modificado $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ levou a um aumento nos valores de energia de “band gap” dos óxidos sintetizados (Tabela 11), devido a substituição de forma gradativa do cátion Sn^{4+} , de tamanho menor por Zr^{4+} de tamanho maior, nos sítios dodecaedro e octaedro na estrutura perovskita ortorrômbica, confirmando o que foi observado nos espectros de Raman, a qual a modificação $\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$ apresenta uma maior assimetria, devido a presença de maior números de modos ativos no Raman (TARRIDA, LARGUEM e MADON, 2009; ZHANG, TANG e YE, 2006; UDAWATTE, KAKIHANA e YOSHIMURA, 2000).

Os diferentes perfis e números de bandas apresentados nos espectros de Raman (Figura 24), bem como os distintos valores de “band gap” obtidos a partir das curvas de absorção na região do visível destes materiais, podem ser atribuídos a competição simultânea entre os diferentes cátions B nos sítios octaedro, o qual promove uma distinção nos níveis de polarizabilidade eletrônica na estrutura da perovskita ortorrômbica (ZHANG, TANG e YE, 2006; MOUNTSTEVENS, ATTFIELD e REDFERN, 2003).

O óxido modificado $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$ envolve transições de fases que colabora para uma melhor propriedade fotocatalítica do material. De acordo com estudos realizados por Bannikov *et al.* (2008), os estados 2p do O da estrutura SrSnO_3 estão localizados na parte superior da banda de valência e formam um pico intenso em 1,0 eV, já o orbital 5p e 5s do Sn estão localizados entre 4,2 e 6,7 eV, muito longe dos estados 2p do O e formando algumas

sobreposições. Além disto, o autor observou a hibridação do orbital d do Sn com os orbitais 2p do O e que a parte superior e inferior das bandas de valência e condução são formadas pelos estados 2p do O, d do Sn, 2p do O e s do Sn.

5.2 Planejamento Box Behnken

A Tabela 12 mostra o planejamento Box Behnken 3^3 decodificado. O planejamento em questão foi composto por 15 experimentos, nos quais foram variados em três níveis, a massa do óxido; sua estequiometria, ou seja, a variação na quantidade de zircônia e estanho contida na perovskita e o tempo de exposição à radiação UV. Foram medidas duas respostas, a porcentagem de degradação relacionada a diminuição da concentração da MC-LR após a fotocatalise (monitorada por HPLC-MS) e a porcentagem de hemólise das soluções submetidas a fotocatalise (monitorada pelos testes de atividade hemolítica).

Tabela 12 - Matriz de planejamento Box Behnken decodificada.

Exp.	Massa do óxido (g)	Tempo (h)	Estequiometria	%Degradação	%Hemólise
1	0,1000	5	SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃	29,95	27,22
2	0,3000	5	SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃	38,97	41,11
3	0,1000	16	SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃	35,64	22,22
4	0,3000	16	SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃	31,16	28,33
5	0,1000	9	SrZr _{0,75} Sn _{0,25} O ₃	29,48	30,00
6	0,3000	9	SrZr _{0,75} Sn _{0,25} O ₃	17,54	22,78
7	0,1000	9	SrZr _{0,25} Sn _{0,75} O ₃	29,48	16,67
8	0,3000	9	SrZr _{0,25} Sn _{0,75} O ₃	14,56	20,56
9	0,2000	5	SrZr _{0,75} Sn _{0,25} O ₃	39,90	13,89
10	0,2000	16	SrZr _{0,75} Sn _{0,25} O ₃	39,19	23,89
11	0,2000	5	SrZr _{0,25} Sn _{0,75} O ₃	39,90	21,67
12	0,2000	16	SrZr _{0,25} Sn _{0,75} O ₃	35,23	40,00
13	0,2000	9	SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃	16,87	26,67
14	0,2000	9	SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃	19,46	27,78
15	0,2000	9	SrZr _{0,50} Sn _{0,50} O ₃	18,72	27,22

Fonte: Autor (2019)

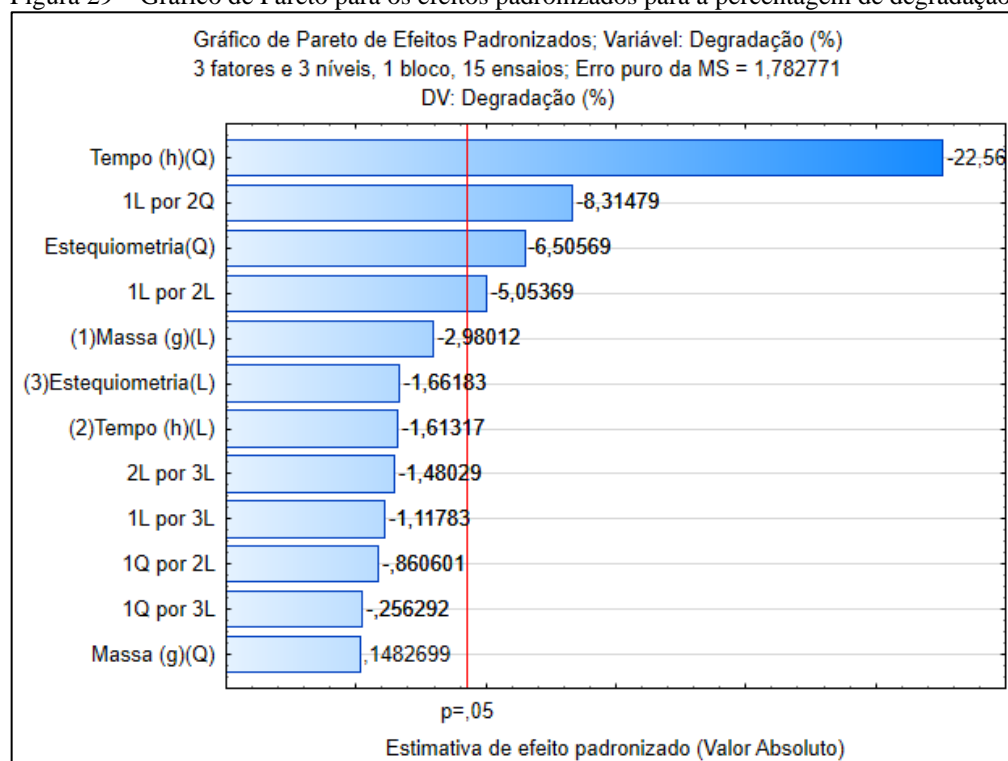
5.2.1 Porcentagem de degradação da MC-LR pelo óxido modificado (dados obtidos por HPLC-MS)

Para avaliar os resultados da porcentagem de degradação da MC-LR, relacionada a diminuição da concentração desta toxina em solução após o processo de fotocatalise, elaborou-se um modelo, considerando as variáveis lineares e quadráticas separadamente, bem como suas

respectivas interações. A Figura 29 mostra o gráfico de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e suas interações.

De acordo com o gráfico de Pareto, que ilustra a influência das variáveis independentes (massa, tempo e estequiometria) sobre a variável dependente (porcentagem de degradação da MC-LR), os fatores individuais tempo quadrático e estequiometria quadrática, bem como a interação entre a massa linear e tempo quadrático e a interação entre massa e tempo lineares foram significativas por apresentar significância maior que 0,05 ($p > 0,05$).

Figura 29 – Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados para a percentagem de degradação.



Fonte: Autor (2019)

De acordo com a Tabela 13, a equação para o modelo ajustado contendo apenas os efeitos significativos pode ser expressa por: $Y = 31,75 - 15,68(X_2^2) - 4,52(X_3^2) - 6,75(X_1 * X_2) - 7,85(X_1 * X_2^2)$, onde: Y é a resposta avaliada e X_1 , X_2 e X_3 representam as variáveis independentes: massa, tempo e estequiometria, respectivamente.

A relação entre as variáveis independentes e a variável dependente foi definida por um modelo que considerou os fatores lineares e quadráticos de forma independente, assim como suas interações. O coeficiente de determinação para este modelo foi $R^2 = 0,99706$ e $R^2_{ajustado} = 0,97942$, indicando que apenas 0,29% da variação total não foi explicada pelo modelo. Pode-se observar que os valores de $R^2_{ajustado}$ e R^2 são concordantes. (YETILMEZSOY *et al.*,

2009) e seus alto valores demonstram a alta significância do modelo e a boa relação entre as variáveis dependentes e independentes.

A análise estatística dos valores da porcentagem de degradação obtidos por meio dos experimentos realizados (Tabela 12) permitiu determinar quais fatores e/ou interações eram significativos para o modelo. A Tabela 13 mostra a estimativa dos efeitos e do erro puro para a porcentagem de degradação.

Tabela 13 – Estimativa dos efeitos e erro padrão para a porcentagem de degradação. Erro puro = 1,782771.

Estimativas dos efeitos; Var.: Degradação (%); R-qu =, 99706; Aju., 97942 (projeto Box-Behnken de 3 fatores, 1 bloco, 15 ensaios 3 fatores e 3 níveis, 1 bloco, 15 ensaios; Erro Puro da MS = 1,782771 DV: Degradação(%))										
Fatores	Efeitos	Err.Padr. Erro Puro	t(2)	p	-95,% Limt.Cnf.	+95,% Limt.Cnf.	Coeff.	Err.Padr. Coef.	-95,% Limt.Cnf.	+95,% Limt.Cnf.
Mean/Interc.	31,7502	0,385440	82,3739	0,000147	30,0918	33,4086	31,75021	0,385440	30,09179	33,40862
(1)Massa (g)(L)	-2,9658	0,995203	-2,9801	0,096565	-7,2478	1,3162	-1,48291	0,497601	-3,62392	0,65809
Massa (g)(Q)	0,1030	0,694862	0,1483	0,895729	-2,8867	3,0928	0,05151	0,347431	-1,44336	1,54639
(2)Tempo (h)(L)	-1,6054	0,995203	-1,6132	0,248045	-5,8874	2,6766	-0,80271	0,497601	-2,94372	1,33829
Tempo (h)(Q)	-15,6817	0,694862	-22,5681	0,001958	-18,6715	-12,6920	-7,84086	0,347431	-9,33574	-6,34599
(3)Estequiometria(L)	-1,6539	0,995203	-1,6618	0,238437	-5,9359	2,6282	-0,82693	0,497601	-2,96793	1,31408
Estequiometria(Q)	-4,5206	0,694862	-6,5057	0,022822	-7,5103	-1,5308	-2,26028	0,347431	-3,75516	-0,76541
1L por 2L	-6,7477	1,335205	-5,0537	0,036995	-12,4926	-1,0028	-3,37386	0,667602	-6,24632	-0,50140
1L por 2Q	-7,8503	0,944132	-8,3148	0,014158	-11,9125	-3,7880	-3,92513	0,472066	-5,95627	-1,89399
1Q por 2L	-0,8125	0,944132	-0,8606	0,480152	-4,8748	3,2498	-0,40626	0,472066	-2,43740	1,62488
1L por 3L	-1,4925	1,335205	-1,1178	0,379895	-7,2375	4,2524	-0,74627	0,667602	-3,61873	2,12619
1Q por 3L	-0,2420	0,944132	-0,2563	0,821679	-4,3042	3,8203	-0,12099	0,472066	-2,15212	1,91015
2L por 3L	-1,9765	1,335205	-1,4803	0,276940	-7,7214	3,7684	-0,98824	0,667602	-3,86070	1,88422

Fonte: Autor (2019)

A tabela 14 apresenta a análise de variância (ANOVA) para a porcentagem de degradação. A partir da ANOVA pode-se comparar a variação entre os grupos, bem como dentro deles, as quais são denominados de fatores. Esta variação é representada na tabela como a Soma Quadrática (SS) e a Média Quadrática (MQ), sendo esta última a soma da variação dentro dos grupos dividida pelos graus de liberdade (df). A tabela ainda utiliza os valores de F e p, o primeiro é um teste o qual leva em consideração a taxa de duas amostras de variância, já o segundo é a probabilidade de as variáveis ou suas interações serem significativas dentro do nível de significância considerado ($\alpha=0,05$).

Tabela 14 – Análise de variância para a resposta de porcentagem de degradação.

ANOVA; Var.:% Hemólise; R-quá=,99919; Aju:,99434 (projeto Box-Benhken de 3 fatores, 1 bloco, 15 ensaio. 3 fatores e 3 níveis, 1 Bloco, 15 Ensaios; Erro Puro da MS=,308651
DV: %Hemólise

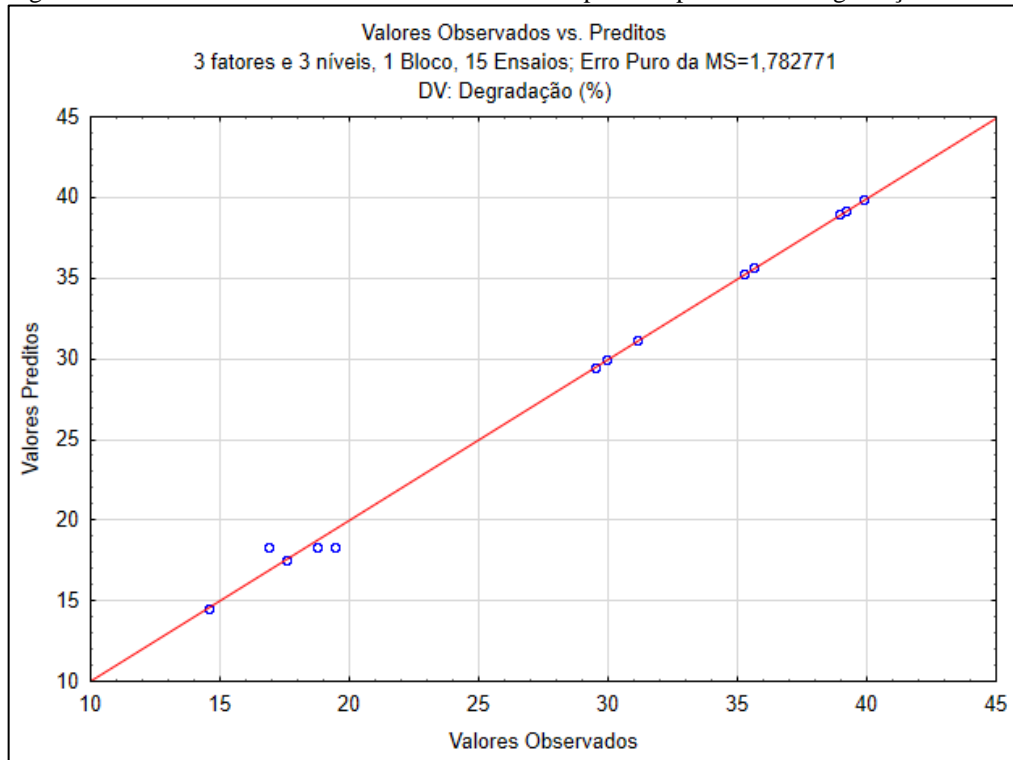
Fator	SS	Df	MQ	F	P
(1)Massa (L)	15,833	1	15,8330	8,8811	0,096565
Massa (Q)	0,039	1	0,0392	0,0220	0,895729
(2)Tempo (L)	4,639	1	4,6393	2,6023	0,248045
Tempo (Q)	908,000	1	907,9998	509,3193	0,001958
(3)Estequiometria(L)	4,923	1	4,9234	2,7617	0,238437
Estequiometria(Q)	75,454	1	75,4541	42,3240	0,022822
1L por 2L	45,532	1	45,5316	25,5398	0,036995
1L por 2Q	123,253	1	123,2531	69,1357	0,014158
1Q por 2L	1,320	1	1,3204	0,7406	0,480152
1L por 3L	2,228	1	2,2277	1,2496	0,379895
1Q por 3L	0,117	1	0,1171	0,0657	0,821679
2L por 3L	3,906	1	3,9065	2,1912	0,276940
Erro Puro	3,566	2	1,7828		
Total SS	1213,033	14			

Fonte: Autor (2019)

Assumindo que os erros seguem uma distribuição normal, pode-se utilizar as médias quadráticas para testar a significância da equação de regressão, a partir do teste F. O $F_{\text{calculado}}$ é dado pela razão entre a média quadrática da regressão ($MQR = 1209,47$) e a média quadrática dos resíduos ($MQR = 1,7828$). O valor de $F_{\text{calculado}}$ é comparado com o valor de $F_{\text{Crítico}(1, n-2)}$ para os graus de liberdade adequado, no nível de confiança desejado. Caso $MQR/MQR > F_{\text{Crítico}}$ tem-se evidências estatísticas para acreditar que existe uma relação entre as variáveis independentes e a variável dependente. Quanto mais alto o valor de MQR/MQR mais alta nossa confiança nesta afirmação. Para o modelo construído neste trabalho $MQR/MQR = 678,41 > F_{(1,13)} = 4,67$, a 95% de confiança, o que mostra que existe uma relação entre as variáveis estudadas e consequentemente a significância do modelo construído.

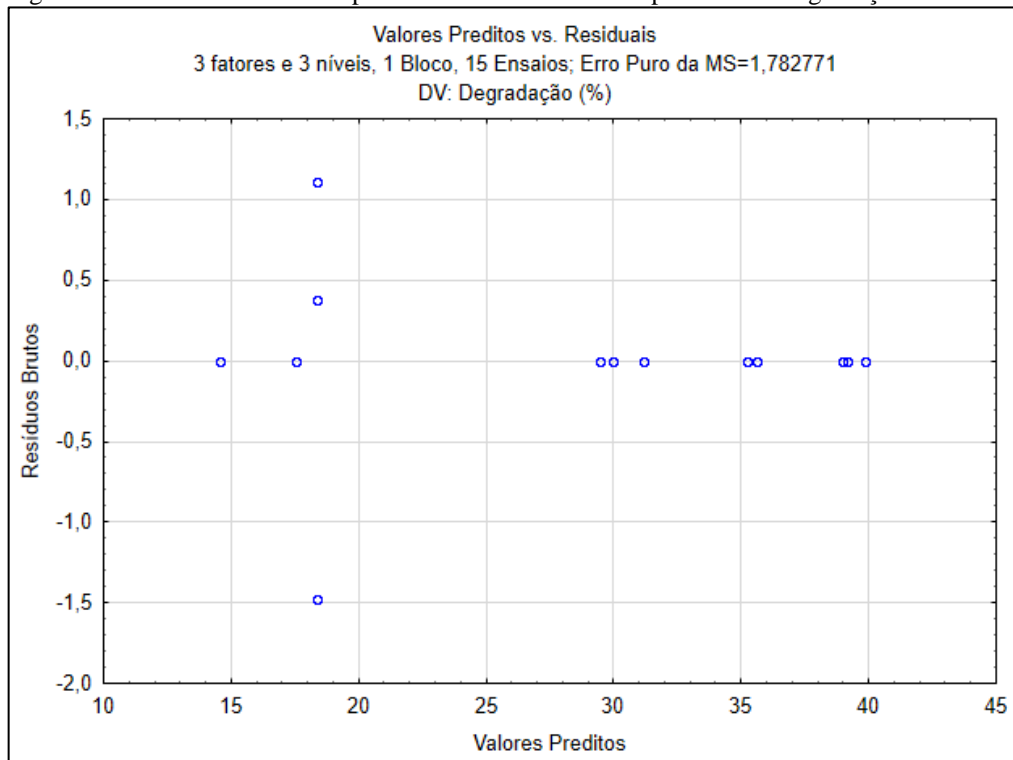
A Figura 30 mostra a boa concordância entre os valores observados experimentalmente e os previstos pelo modelo e a Figura 31 a distribuição aleatória dos resíduos.

Figura 30 – Gráfico dos valores observados versus os preditos para a % de degradação.



Fonte: Autor (2019)

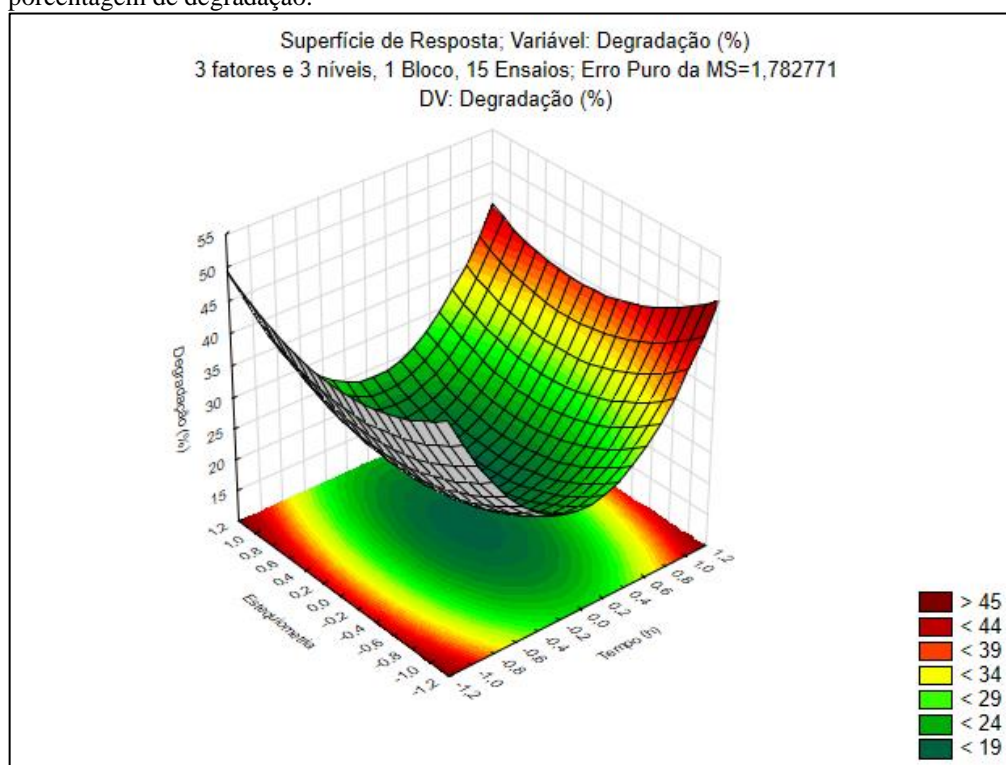
Figura 31 – Gráfico dos valores preditos versus os residuais para a % de degradação.



Fonte: Autor (2019)

De acordo com a superfície de resposta da Figura 32, porcentagens de degradação superiores a 50% seriam atingidas utilizando-se os óxidos nos níveis mínimo e máximo, ou seja, que aqueles que possuem maior grau de desordem estrutural, em tempos nos níveis máximo ou mínimo.

Figura 32 – Gráfico de superfície de resposta em função da estequiometria e tempo para a porcentagem de degradação.

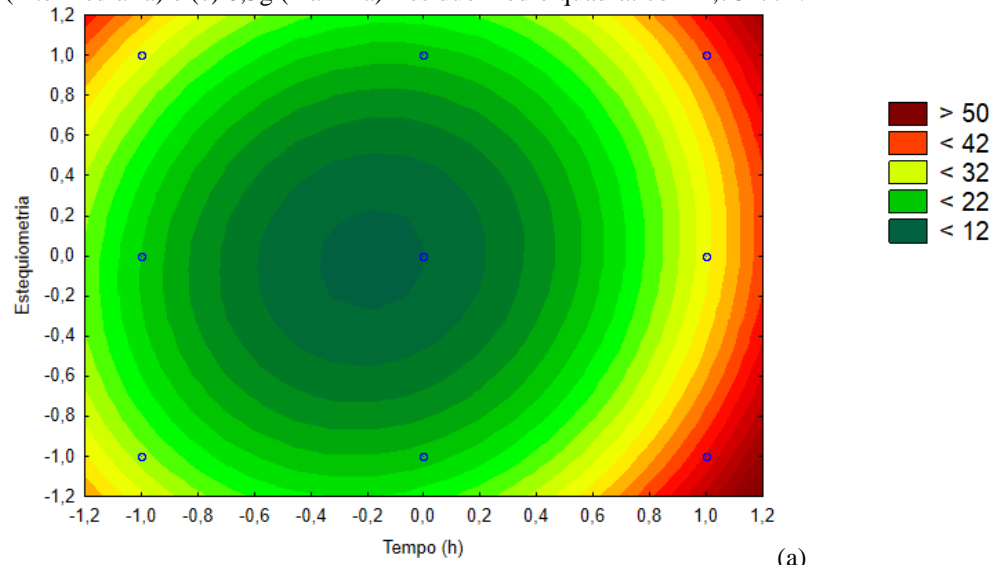


Fonte: Autor (2019)

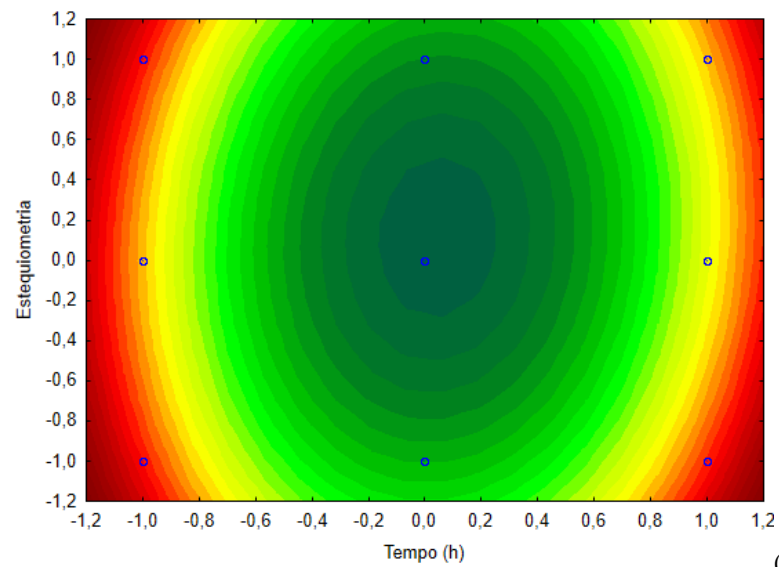
A Tabela 12 que mostra os maiores valores de porcentagem de degradação alcançados foram em torno de 40% (experimento 11). Este experimento utilizou tempo e massa no nível mínimo, 5h e 0,2g, respectivamente, e óxido no nível máximo ($\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$). O óxido utilizado, $\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$, se caracteriza como um óxido com grande desordem estrutural, o que favorece a migração dos elétrons e conseqüentemente as propriedades fotocatalíticas. De forma geral os óxidos com menor desordem estrutural $\text{SrZr}_{0,50}\text{Sn}_{0,50}\text{O}_3$ apresentaram menor performance e necessitaram de maior tempo ou maior massa de óxido para alcançar melhores níveis de porcentagem de degradação.

Os gráficos de contorno da Figura 33, mostram que tempos intermediários levam a baixos valores de porcentagem de degradação, enquanto, tempos mínimos e máximo conduzem a porcentagens de degradação em níveis superiores a 40% para as três composições dos óxidos estudados, utilizando massas nos níveis intermediários ou máximo, principalmente. Neste trabalho não foi possível entender esse fenômeno.

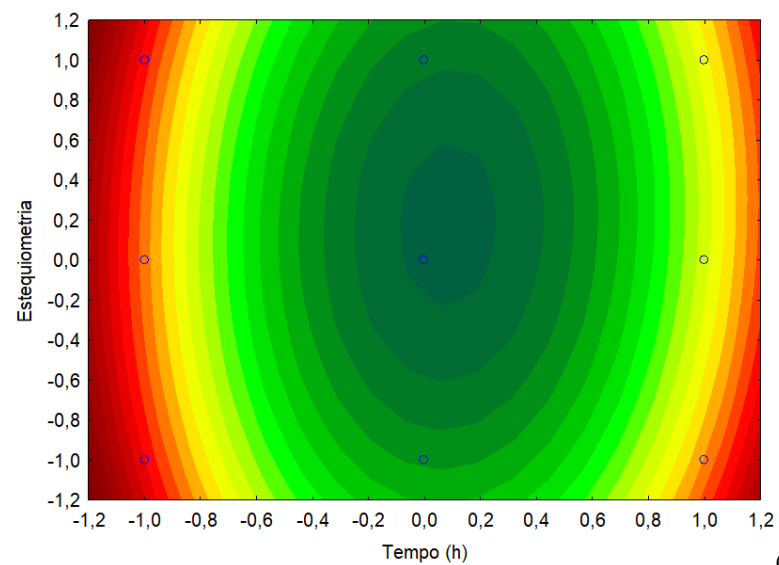
Figura 33 – Gráfico de contorno em função da estequiometria do óxido e do tempo para a massa de (a) 0,1g (mínima), (b) 0,2g (intermediária) e (c) 0,3g (máxima) Resíduo médio quadrático = 1,782771.



(a)



(b)



(c)

5.2.2 Avaliação da citotoxicidade das soluções após a fotocatalise (testes de atividade hemolítica)

A fim de avaliar a citotoxicidade das soluções contendo MC-LR após passarem pelos experimentos de fotocatalise, ou seja, o produto da reação fotocatalítica entre a MC-LR e o óxido modificado, foram realizados os experimentos definidos na tabela 12. A relação entre as variáveis independentes e a variável dependente foi definida por um modelo que considerou os fatores lineares e quadráticos separadamente, bem como suas interações. O coeficiente de determinação para este modelo foi $R^2=0,99919$ e $R^2_{ajustado}=0,99434$, indicando que apenas 0,081% da variação total não foi explicada pelo modelo. Pode-se observar que os valores de $R^2_{ajustado}$ e R^2 são concordantes. (YETILMEZSOY *et al.*, 2009). O alto valor de R^2 demonstra a alta significância do modelo e a boa relação entre as variáveis dependentes e independentes.

A análise estatística dos valores da porcentagem de hemólise obtidos por meio dos experimentos realizados (Tabela 12) permitiu determinar quais fatores e/ou interações eram significativos para o modelo. A Tabela 15 mostra a estimativa dos efeitos e do erro puro para a porcentagem de hemólise.

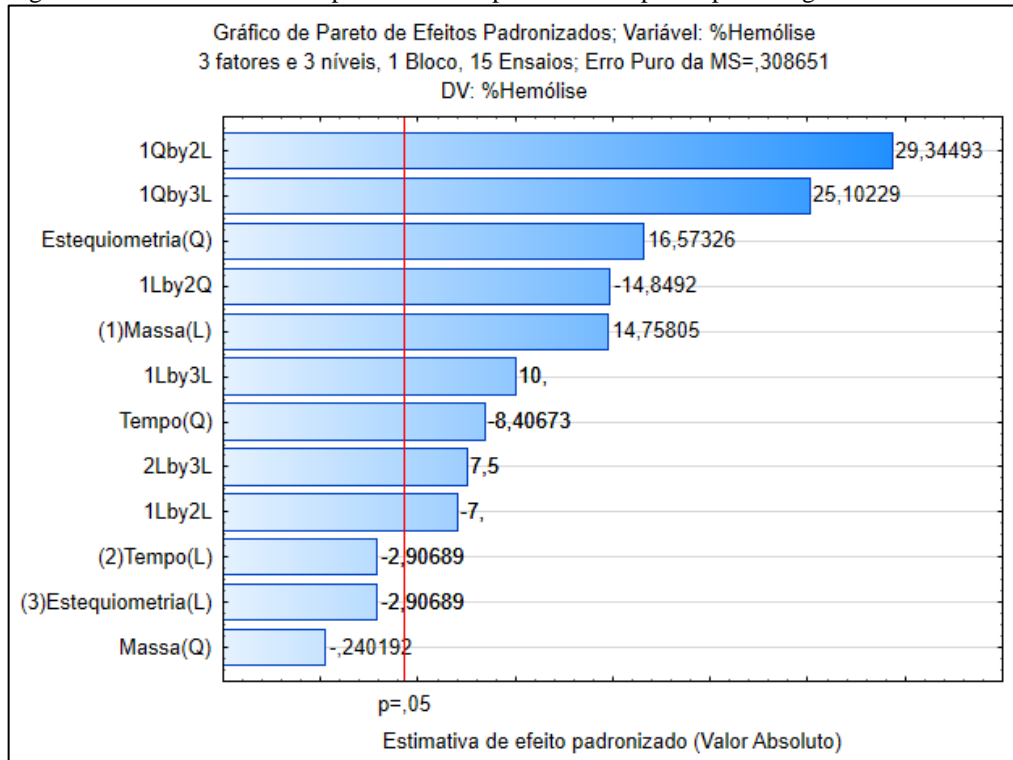
Tabela 15 – Estimativa dos efeitos e erro padrão para a porcentagem de hemólise. Resíduo médio quadrático = 0,308651.

Estimativas dos efeitos; Var.: Degradação (%); R-qu = ,99919; Aju:,99434 (projeto Box-Behnken de 3 fatores, 1 bloco, 15 ensaios 3 fatores e 3 níveis, 1 bloco, 15 ensaios; Erro Puro da MS = ,308651 DV: Hemólise(%))										
Fatores	Efeitos	Err.Padr.	t(2)	P	-95,%	+95,%	Coeff.	Err.Padr.	-95,%	+95,%
		Erro Puro			Limt.Cnf.	Limt.Cnf.		Coef.	Limt.Cnf.	Limt.Cnf.
Mean/Interc.	25,69482	0,160377	160,2147	0,000039	25,00477	26,38487	25,69482	0,160377	25,00477	26,38487
(1)Massa (g)(L)	6,11120	0,414093	14,7580	0,004560	4,32950	7,89290	3,05560	0,207046	2,16475	3,94645
Massa (g)(Q)	-0,06945	0,289125	-0,2402	0,832556	-1,31345	1,17456	-0,03472	0,144562	-0,65672	0,58728
(2)Tempo (h)(L)	-1,20372	0,414093	-2,9069	0,100771	-2,98542	0,57798	-0,60186	0,207046	-1,49271	0,28899
Tempo (h)(Q)	-2,43059	0,289125	-8,4067	0,013856	-3,67459	-1,18659	-1,21530	0,144562	-1,83730	-0,59329
(3)Estequiometria(L)	-1,20372	0,414093	-2,9069	0,100771	-2,98542	0,57798	-0,60186	0,207046	-1,49271	0,28899
Estequiometria(Q)	4,79174	0,289125	16,5733	0,003621	3,54773	6,03574	2,39587	0,144562	1,77387	3,01787
1L por 2L	-3,88895	0,555564	-7,0000	0,019804	-6,27934	-1,49855	-1,94447	0,277782	-3,13967	-0,74927
1L por 2Q	-5,83342	0,392843	-14,8492	0,004505	-7,52369	-4,14315	-2,91671	0,196421	-3,76184	-2,07158
1Q por 2L	11,52795	0,392843	29,3449	0,001159	9,83768	13,21821	5,76397	0,196421	4,91884	6,60911
1L por 3L	5,55564	0,555564	10,0000	0,009852	3,16524	7,94603	2,77782	0,277782	1,58262	3,97302
1Q por 3L	9,86126	0,392843	25,1023	0,001583	8,17099	11,55152	4,93063	0,196421	4,08549	5,77576
2L por 3L	4,16673	0,555564	7,5000	0,017317	1,77633	6,55713	2,08336	0,277782	0,88817	3,27856

Fonte: Autor (2019)

A estimativa dos efeitos (Tabela 15) e o gráfico de Pareto (Figura 34) mostram, em relação aos efeitos principais, que a massa linear, o tempo quadrático, a estequiometria quadrática, bem como todas as interações lineares e quadráticas dos efeitos principais foram consideradas significativas para o modelo (valores destacados em vermelho, com $p>0,05$).

Figura 34 – Gráfico de Pareto para os efeitos padronizados para a percentagem de hemólise.



Fonte: Autor (2019)

De acordo com a Tabela 15, a equação para o modelo ajustado contendo apenas os efeitos significativos pode ser expressa por $Y = 25,69 + 6,11(X_1) - 2,43(X_2) + 4,79(X_3) - 3,89(X_1 * X_2) - 5,83(X_1 * X_2^2) + 11,53(X_1^2 * X_2) + 5,55(X_1 * X_3) + 9,86(X_1^2 * X_3) + 4,17(X_2 * X_3)$, onde: Y é a resposta avaliada e X_1 , X_2 e X_3 representam as variáveis independentes: massa, tempo e estequiometria, respectivamente.

A Tabela 16 apresenta a análise de variância (ANOVA) para a porcentagem de hemólise. A partir da ANOVA pode-se comparar a variação entre os grupos, bem como dentro deles, as quais são denominados de fatores. Esta variação é representada na tabela como a Soma Quadrática (SS) e a Média Quadrática (MQ), sendo esta última a soma da variação dentro dos grupos dividida pelos graus de liberdade (df). A tabela ainda utiliza os valores de F e p, o primeiro é um teste o qual leva em consideração a taxa de duas amostras de variância, já o segundo é a probabilidade de as variáveis ou suas interações serem significativas dentro do nível de significância considerado ($\alpha=0,05$).

Tabela 16 – Análise de variância para a resposta de porcentagem de hemólise.

ANOVA; Var.:% Hemólise; R-qua=,99919; Aju:,99434 (projeto Box-Benhken de 3 fatores, 1 bloco, 15 ensaio. 3 fatores e 3 níveis, 1 Bloco, 15 Ensaios; Erro Puro da MS=,308651
DV: %Hemólise

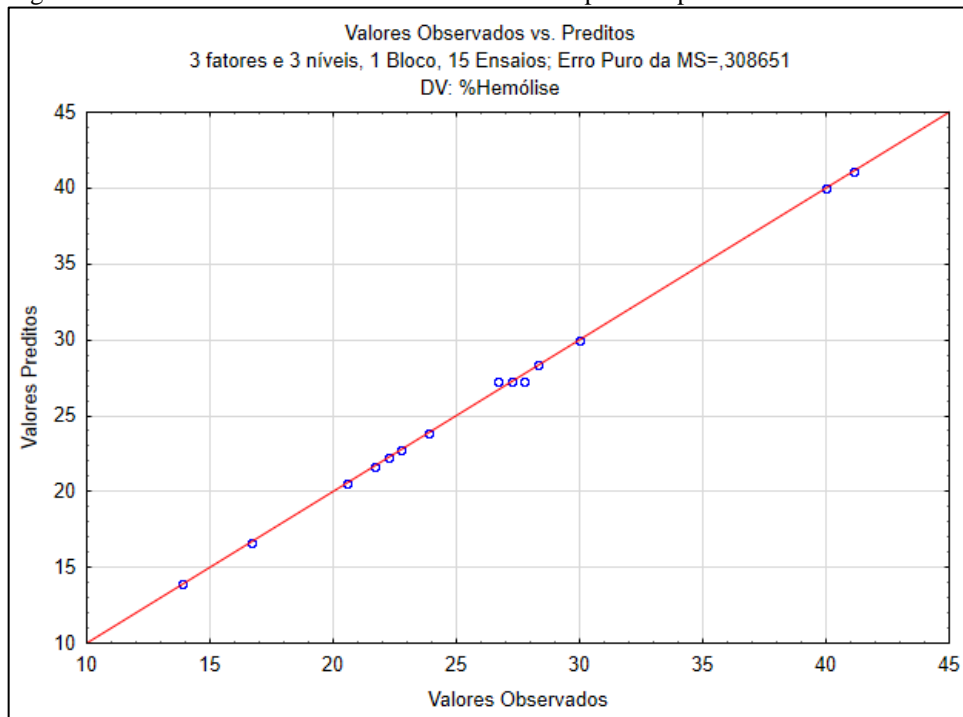
Fator	SS	Df	MQ	F	P
(1)Massa (L)	67,2242	1	67,2242	217,8000	0,004560
Massa (Q)	0,0178	1	0,0178	0,0577	0,832556
(2)Tempo (L)	2,6081	1	2,6081	8,4500	0,100771
Tempo (Q)	21,8133	1	21,8133	70,6731	0,013856
(3)Estequiometria(L)	2,6081	1	2,6081	8,4500	0,100771
Estequiometria(Q)	84,7781	1	84,7781	274,6731	0,003621
1L por 2L	15,1239	1	15,1239	49,0000	0,019804
1L por 2Q	68,0576	1	68,0576	220,5000	0,004505
1Q por 2L	265,7871	1	265,7871	861,1250	0,001159
1L por 3L	30,8651	1	30,8651	100,0000	0,009852
1Q por 3L	194,4887	1	194,4887	630,1250	0,001583
2L por 3L	17,3616	1	17,3616	56,2500	0,017317
Erro Puro	0,6173	2	0,3087		
Total SS	763,7261	14			

Fonte: Autor (2019)

Os valores obtidos na ANOVA (tabela 16) confirmaram que, a um nível de significância de 0,05, a massa linear, o tempo quadrático, a estequiometria quadrática, separadamente, bem como todas as interações lineares e quadráticas dos efeitos principais influenciaram na performance do sistema modificado $\text{SrZr}_x\text{Sn}_{1-x}\text{O}_3$, quanto a degradação da MC-LR, o qual levou a uma maior diminuição na citotoxicidade da solução contendo MC-LR após a reação de fotocatalise com o óxido. Assumindo que os erros seguem uma distribuição normal, pode-se utilizar as médias quadráticas para testar a significância da equação de regressão, a partir do teste F. O F calculado ($F_{\text{calculado}}$) é dado pela razão entre a média quadrática da regressão ($MQR = 763,11$) e a média quadrática dos resíduos ($MQR = 0,3087$). O valor de $F_{\text{calculado}}$ é comparado com o valor de $F_{\text{Crítico}(1, n-2)}$ para os graus de liberdade adequado, no nível de confiança desejado. Caso $MQR/MQr > F_{\text{Crítico}}$ tem-se evidencias estatísticas para acreditar que existe uma relação entre as variáveis independentes e a variável dependente. Quanto mais alto o valor de MQR/MQr mais alta nossa confiança nesta afirmação. Para o modelo construído neste trabalho $MQR/MQr = 2472,00 > F_{(1,13)} = 4,67$, a 95% de confiança, o que mostra que existe uma relação entre as variáveis estudadas e consequentemente a significância do modelo construído.

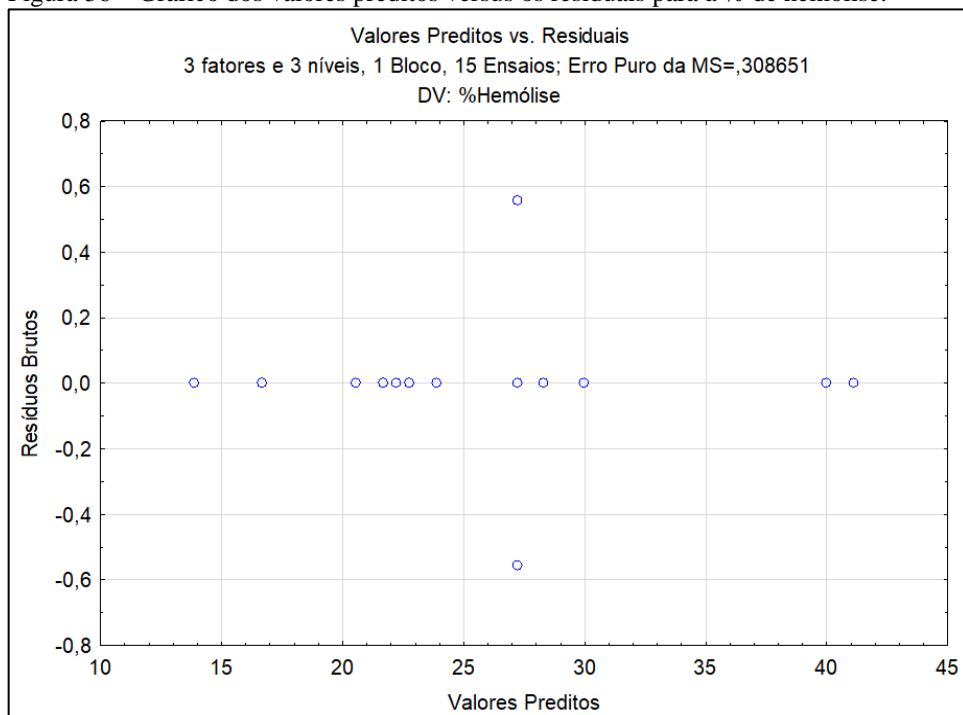
O gráfico dos valores observados vs valores preditos (Figura 35) atesta a qualidade do modelo e a Figura 36 mostra uma distribuição aleatória dos resíduos.

Figura 35 – Gráfico dos valores observados versus os preditos para a % de hemólise.



Fonte: Autor (2019)

Figura 36 – Gráfico dos valores preditos versus os residuais para a % de hemólise.



Fonte: Autor (2019)

De forma geral, pode-se observar que os óxidos que apresentaram melhor performance fotocatalítica foram aqueles modificados com a maior variação na proporção zircônia:estanho em sua composição (níveis máximo e mínimo), em especial o $\text{SrZr}_{0,75}\text{Sn}_{0,25}\text{O}_3$ que apresentou

uma porcentagem de hemólise de 13,89%, utilizando 0,2000 g de óxido por 5 horas de reação fotocatalítica.

Os gráficos de contorno das figuras 37, 38 e 39 nas quais são fixados a estequiometria, massa e tempo, respectivamente, mostram as condições onde são obtidas as menores % hemólise (área em verde). De forma geral é possível observar que os menores valores de hemólise foram obtidos para os óxidos nos níveis mínimo e máximo (ou seja, mais modificados). As melhores condições, uma maior área de baixas porcentagem de hemólise, foram obtidas para o óxido $\text{SrZr}_{0,75}\text{Sn}_{0,25}\text{O}_3$ utilizando-se uma massa intermediária e tempo no nível mínimo a intermediário. No entanto para esse óxido baixos valores de hemólise foram alcançados para todos os níveis de tempo de exposição estudados e utilizando massa de 0,1g até no máximo 0,25g. As condições que forneceram uma menor área de baixos valores de hemólise foi quando se utilizou o tempo em nível máximo, qualquer nível de massa.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os obtidos por Klafke (2016), que demonstrou que a atividade fotocatalítica dos óxidos modificados estudados está relacionada com a sua desordem estrutural que favorece a migração dos elétrons na rede cristalina e conseqüentemente a formação do par elétron/buraco na superfície do catalisador, favorecendo suas propriedades fotocatalíticas. De fato, de acordo com a literatura (ZANG, TANG, YE, 2006; MOUNTSTEVENS, ATTFIELD, REDFERN, 2003), a maior competição simultânea entre os diferentes cátions B nos sítios octaedros, que promoveram diferentes níveis de polarizabilidade eletrônica na estrutura ortorrômbica do óxido, conforme comprovado pelas análises de espectroscopia Raman. De fato, os óxidos que apresentaram mais altas porcentagem de degradação e de hemólise foram aqueles com maior modificação estrutural.

Figura 37 – Gráfico de contorno em função da massa do óxido e do tempo para a estequiometria (a) $\text{SrZr}_{0,75}\text{Sn}_{0,25}\text{O}_3$, (b) $\text{SrZr}_{0,50}\text{Sn}_{0,50}\text{O}_3$ e (c) $\text{SrZr}_{0,25}\text{Sn}_{0,75}\text{O}_3$. Resíduo médio quadrático = 0,308651.

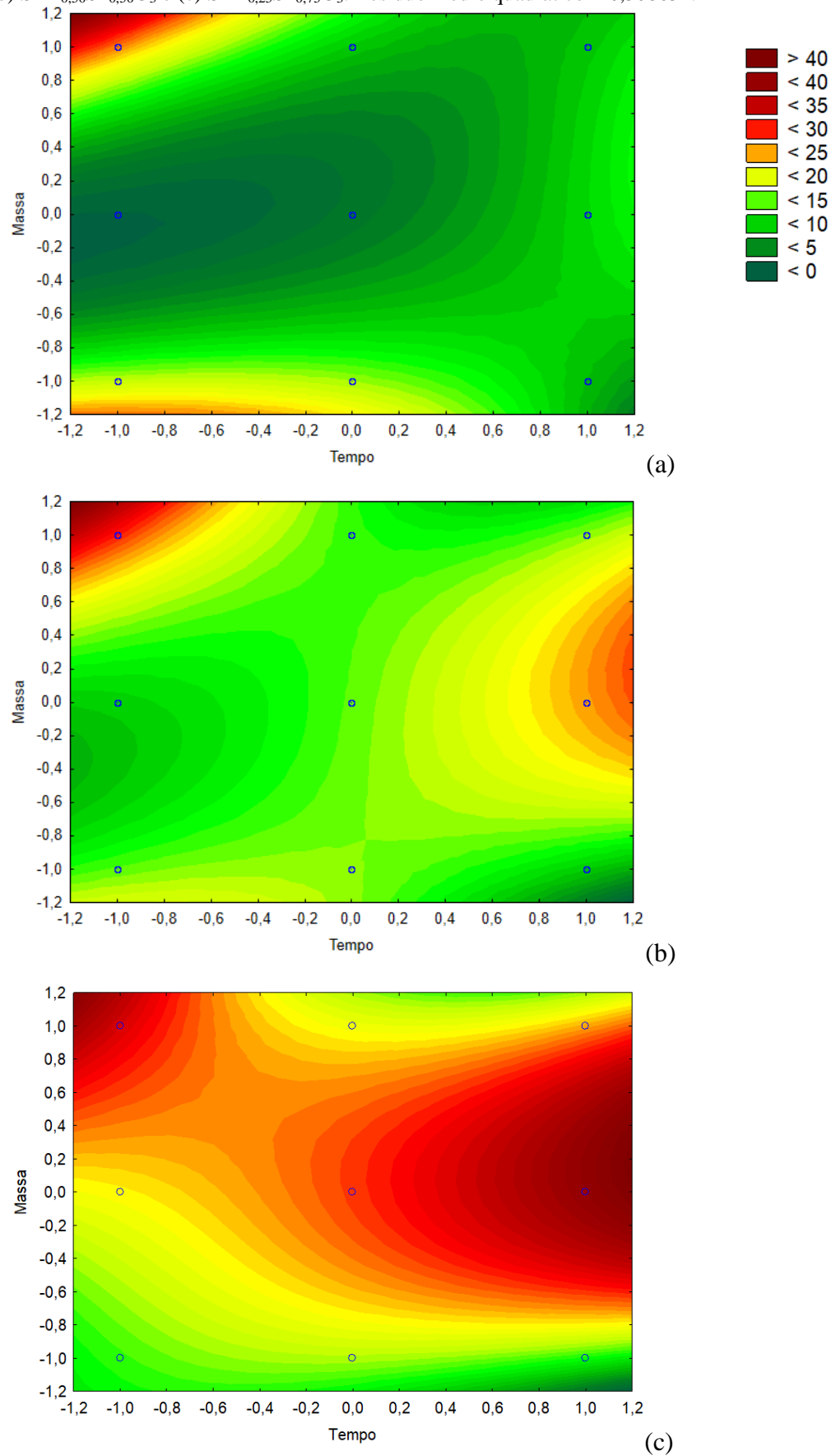
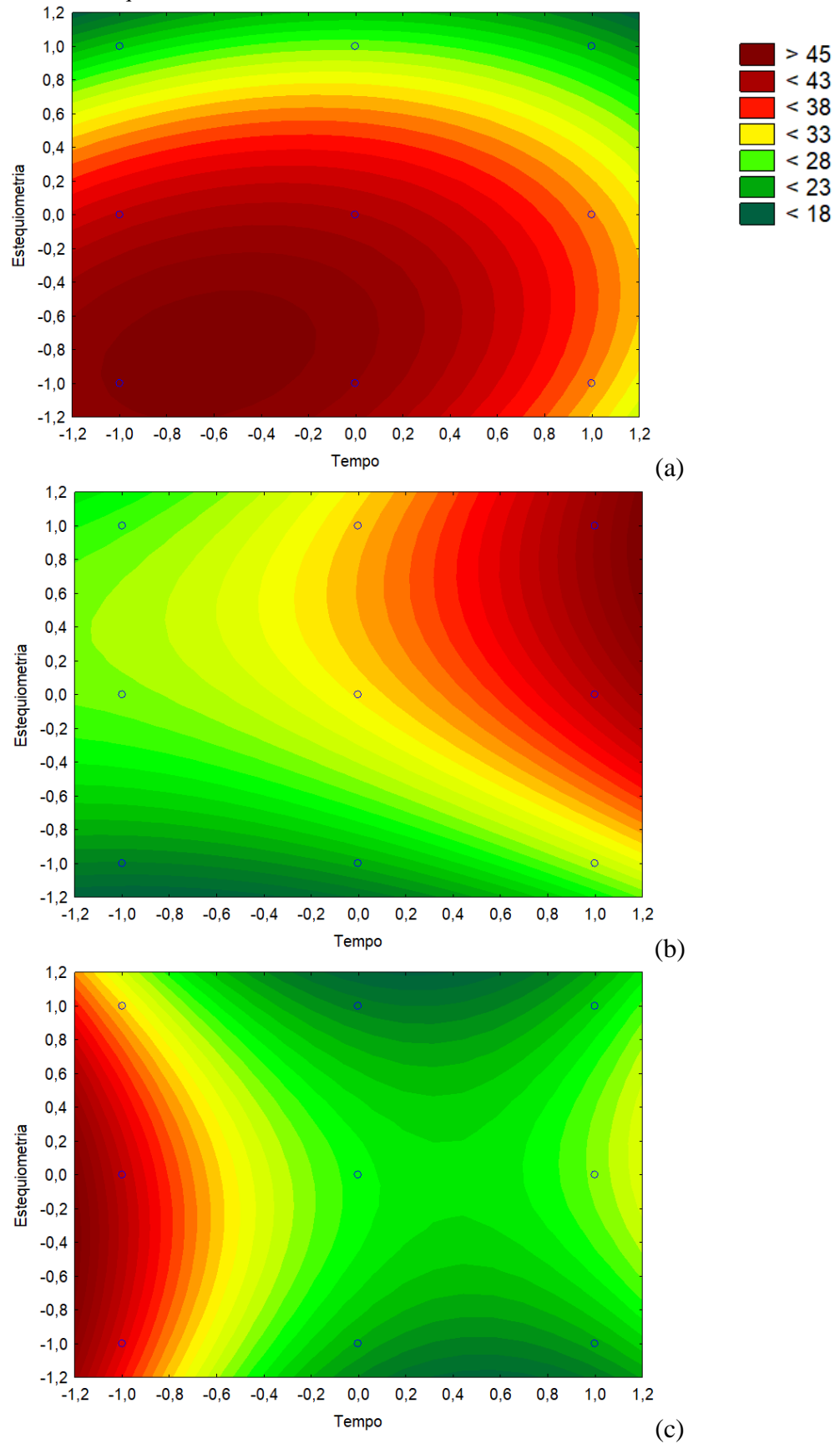
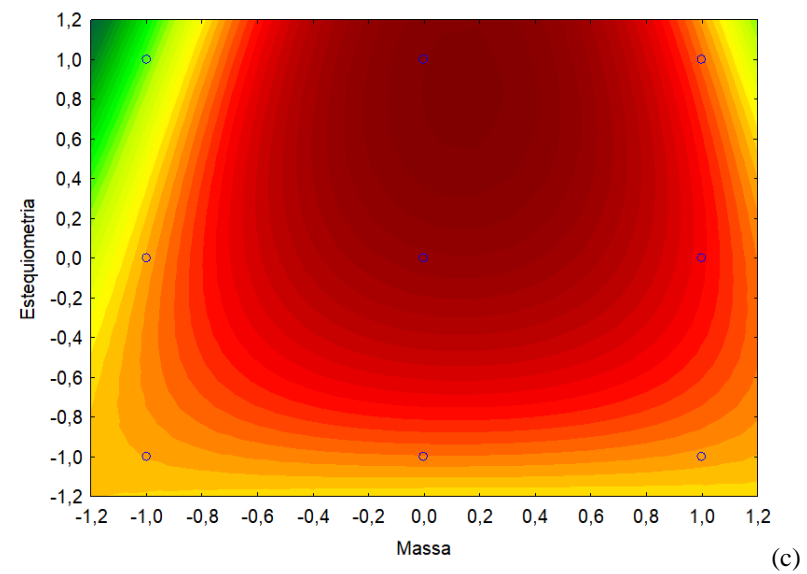
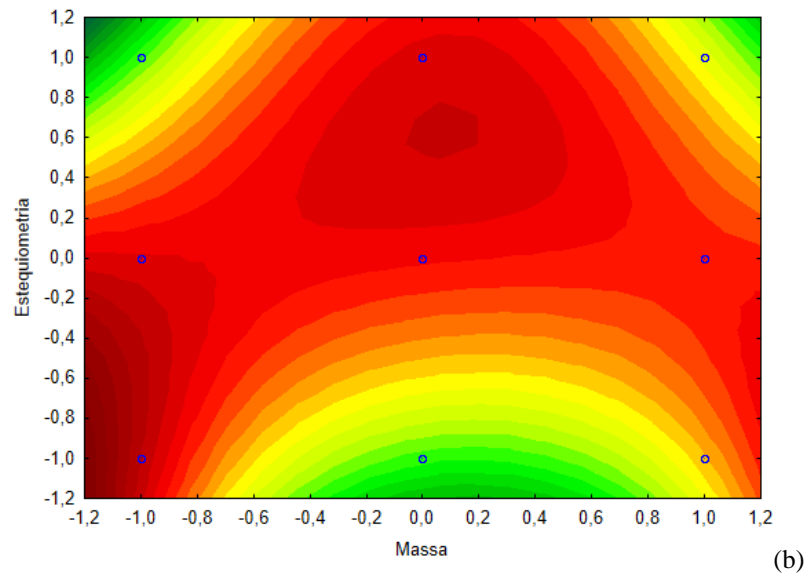
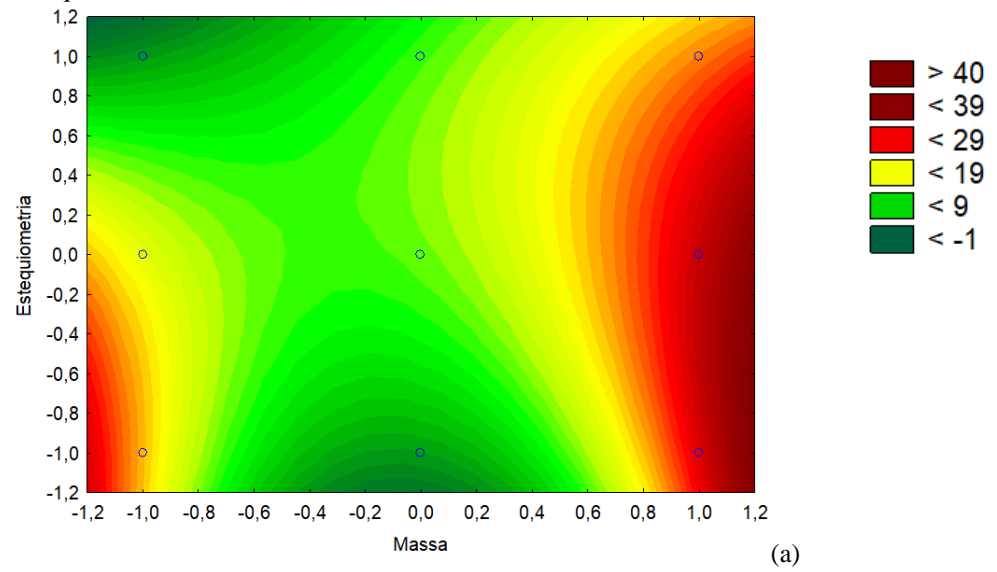


Figura 38 – Gráfico de contorno em função da estequiometria do óxido e do tempo para a massa de (a) 0,1g, (b) 0,2g e (c) 0,3g. Resíduo médio quadrático = 0,308651.



Fonte: Autor (2019)

Figura 39 – Gráfico de contorno em função da estequiometria e massa do óxido para o tempo de (a) 5h, (b) 9h e (c) 16h. Resíduo médio quadrático = 0,308651.



5.3 Estudo dos subprodutos após a fotodegradação da microcistina-LR

Os espectros de massa dos experimentos 2, 9 e 11 foram registrados no modo de varredura no modo “FULL MS2”. Estes experimentos foram escolhidos por serem o que apresentaram os maiores valores de porcentagem de degradação e porcentagem de hemólise. Neles foram identificados, os fragmentos com razão massa/carga (m/z) de 155,0; 224,9; 267,0; 397,1; 555,0; 683,7; 862,8 e 996,8; que se mostraram presentes, com pequenas variações, em todos os três experimentos investigados. Estes fragmentos são característicos da estrutura da MC-LR, como mostram os artigos relacionados na Tabela 17.

Tabela 17 - Principais fragmentos sugeridos com sua respectiva m/z .

m/z	Fragmento sugerido	Referência
866	[Ala-Adda-Arg- (Glu ou MeAsp) -Leu-Mdha + H] ⁺	Zhang <i>et al.</i> , 2016
682	[Arg-Adda-Glu-Mdha + H] ⁺	Puddick <i>et al.</i> , 2015
553	[Ala-Arg- (Glu ou MeAsp) -Leu-Mdha + H] ⁺	Zhang <i>et al.</i> , 2016
397	[Glu-Mdha-Ala-Leu + H] ⁺	Puddick <i>et al.</i> , 2015
267	[Mdha-Ala-Leu + H] ⁺	Puddick <i>et al.</i> , 2015
155	[Mdha-Ala + H] ⁺	Puddick <i>et al.</i> , 2015
135	Fragmento Adda [Fenil-C ₃ H ₆ O]	Domínguez-Pérez <i>et al.</i> , 2017

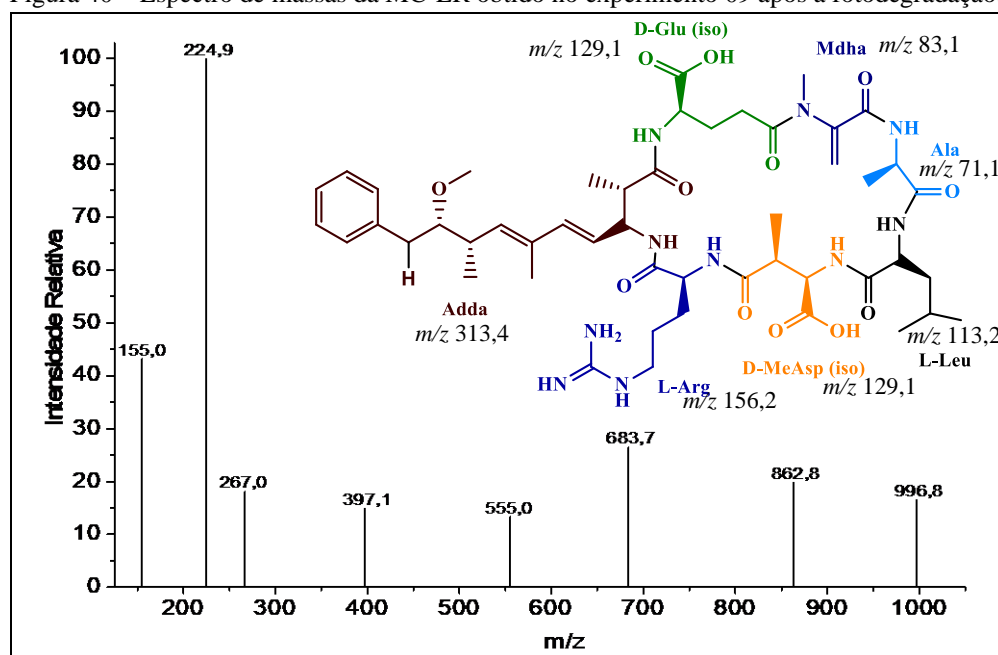
Fonte: Autor (2019)

De acordo com Silva (2015), a estrutura da microcistina-LR é composta por diversos aminoácidos, sendo uma molécula relativamente grande, caracterizada por vários grupos funcionais em diferentes posições, os quais são suscetíveis ao rompimento das ligações e levam a formação de subprodutos da degradação. As clivagens dessas ligações peptídicas geram fragmentos que correspondem a diferença entre a m/z do íon molecular (995) e os radicais dos peptídeos rompidos (SONG *et al.*, 2009).

Lobón e colaboradores (2017) utilizaram eletrodos de carbono acoplado ao TiO₂ para degradar a MC-LR e conseguiram identificar os fragmentos com m/z 995,5; 851,4; 540,5; 318,2; 302,3; 274,3 e 218,2. Neste trabalho, o pico base foi o de m/z 274,3 e os picos superior m/z 540,5 apresentaram uma intensidade significativamente baixa o que comprova a eficiência da degradação da molécula em questão.

O fragmento com m/z 135 é característico da clivagem do aminoácido Adda que é responsável por grande parte da toxicidade da molécula. A ruptura da ligação nesta parte da estrutura da MC-LR foi detectada a partir de sua oxidação (m/z 134) nos experimentos 02, 09 e 11 avaliados. A Figura 40 apresenta o espectro de massas obtido na fotodegradação do ensaio 09 que apresentou uma maior degradação, conforme revelou os dados da HLPC-MS.

Figura 40 – Espectro de massas da MC-LR obtido no experimento 09 após a fotodegradação.



Fonte: Autor (2019)

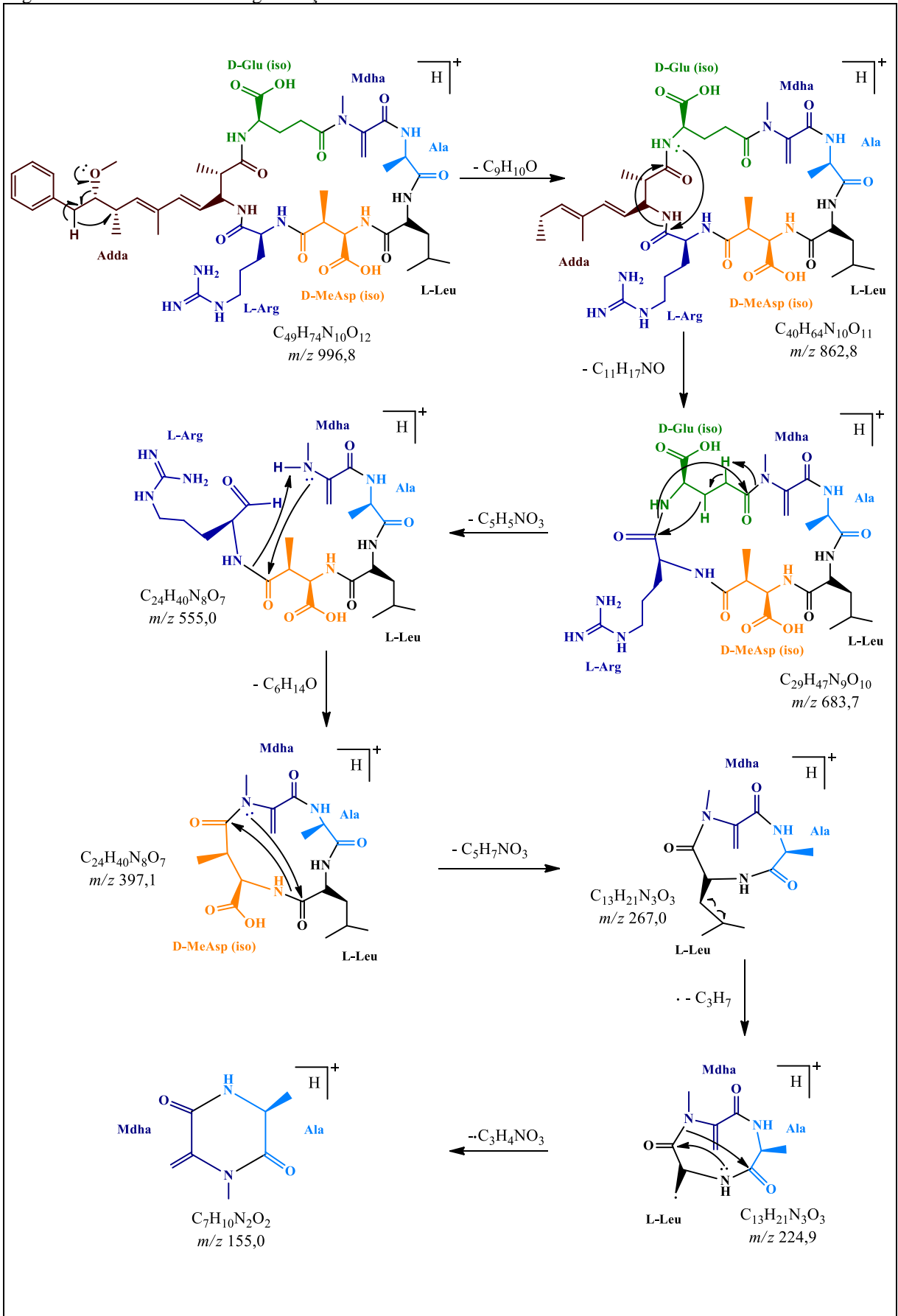
Observa-se no espectro da Figura 40, que no experimento 09 o íon molecular foi de 996,8 $[M+H]^+$ e a primeira perda foi do fragmento Adda $[M-Fenil-C_3H_6O + H]^+$, gerando um íon de m/z de 862,8; seguido da liberação da outra parte do mesmo aminoácido $[M-C_{11}H_{17}NO + H]^+$, gerando um íon de m/z 683,7. Em seguida, ocorreu a ruptura do Glu $[M-C_5H_5NO_3 + H]^+$, gerando o íon de m/z 555,0 e do Arg $[M-C_6H_{14}O + H]^+$, detectando um íon com m/z 397,1. Na sequência houve o rompimento da ligação e a liberação do MeAsp $[M-C_5H_7NO_3 + H]^+$, com posterior clivagem no Leucina $[M-C_3H_7 + H]^+$, a qual resultou no pico base, isto é, o pico de maior intensidade (m/z 224,9) com fórmula molecular de $[C_{13}H_{21}N_3O_3 + H]^+$, sendo a perda da outra parte resultante desta ruptura $[M-C_3H_4NO_3 + H]^+$ ocasionada em seguida, gerando um íon de m/z 155,0 referente ao fragmento $[Mdma-Ala + H]^+$.

A degradação fotocatalítica que resulta na diminuição da concentração da MC-LR em solução, bem como na diminuição da citotoxicidade da mesma, relacionadas a eficiência dos óxidos modificados estudados, depende do par elétron-buraco formado na superfície do fotocatalisador $SrZr_xSn_{1-x}O_3$ a partir da excitação da banda de condução e valência, dando ao material propriedade catalítica. Assim, este começa a servir como fontes redox, por exemplo, podendo reagir com a água adsorvida e gerar radicais hidroxilas que começam a desencadear diversas reações internas, inicialmente na estrutura cíclica da MC-LR (QIAO *et al.*, 2005).

Segundo Albuquerque (2017), o processo de degradação da microcistina-LR mediado pelo radical hidroxila, inicia-se por meio da incorporação deste radical nas ligações 2, 3 ou 4 da porção Adda da estrutura da toxina. Em seguida, observa-se rearranjos na estrutura, os quais

ocasionam a eliminação de grupos mais lábeis, como por exemplo o Adda, bem como reações de ciclização molecular que levam a formação de ciclos com menor massa molar. Na figura 41 é proposta uma possível rota de fotodegradação da MC-LR pelo óxido modificado em solução aquosa.

Figura 41 – Possível rota de fragmentação da MC-LR.



Na Figura 41, o local de início da degradação da microcistina-LR, são as duplas conjugadas no anel aromático as mais propensas para os ataques dos radicais formados pelo fotocatalisador, o que é corroborado pelo trabalho de Liu *et al.*, (2016) que observou ataques nas ligações dieno conjugadas, no anel benzeno e no grupo metoxi da cadeia lateral do Adda, sendo o primeiro, indicador de que o ataque foi realizado por $\bullet\text{OH}$.

Segundo Zhao e colaboradores (2015), o ataque dos radicais hidroxilas nos locais mais lábeis da molécula leva a produção de muitos tipos de produtos intermediários, os quais podem ser degradados também pelo mesmo radical mencionado. Foi observado que os intermediários identificados no presente trabalho possuíam a estrutura cíclica intacta, sendo linearizada no decorrer da degradação. Vale salientar ainda que, os peptídeos de massas menores foram verificados pela quebra dos aminoácidos L-Arg e L-Leu, conforme verificado por Silva (2015) e Albuquerque (2017). Em estudos realizados por Sui *et al.*, (2014) foi constatada três principais rotas de degradação da MC-LR, a hidroxilação do anel aromático e das ligações diênicas do Adda, bem como as interações internas na estrutura cíclica da cianobactéria.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com as técnicas de caracterização utilizadas, espectroscopia Raman e difratogramas de Raio X, foi possível confirmar a presença das fases cristalinas através da indexação dos picos utilizando as fichas cristalográficas ICDD 00-044-0161 (SnZrO₃) e 01-077-1798 (SrSnO₃). Deste modo pode-se afirmar que a perovskita SrZr_xSn_{1-x}O₃ foi obtida com êxito pelo método dos precursores poliméricos, baseado no método de Pechini.

A performance dos óxidos sintetizados quanto a degradação da microcistina LR em água foi avaliada utilizando um planejamento Box Behnken onde variou-se três fatores em três níveis. A utilização deste tipo de planejamento trouxe como vantagem a utilização de um número reduzido de experimentos (15 experimentos) e a possibilidade de variar os parâmetros de interesse nos níveis mínimo, intermediário e máximo. E a partir deste foi possível avaliar quais as melhores condições experimentais para a aplicação investigada. Os fatores estudados (variáveis independentes) foram massa, tempo de exposição à radiação UVC e estequiometria das composições do óxido. E as variáveis dependentes a porcentagem de degradação e porcentagem de hemólise. Neste sentido, de acordo com as análises estatísticas, foi verificado que para a primeira resposta estudada (porcentagem de degradação) os fatores individuais tempo quadrático e estequiometria quadrática, bem como a interação entre a massa linear e tempo quadrático e a interação entre massa linear e tempo linear foram significativos para a performance fotocatalítica dos óxidos modificados estudados. Para a porcentagem de hemólise, os fatores individuais massa linear, tempo quadrático, estequiometria quadrática, bem como todas as interações lineares e quadráticas dos efeitos principais afetaram a resposta estudada.

De acordo com as avaliações estatísticas e gráficos de superfície de resposta, o óxido que apresentou a melhor performance fotocatalítica foi o que possui o maior grau de assimetria, perovskita SrZr_{0,75}Sn_{0,25}O₃ proporcionando uma degradação de quase 39,9% da concentração inicial de MC-LR e porcentagem de hemólise de 13,89% (experimento 9 da Tabela 12). Esses resultados foram obtidos utilizando 0,2000 g de óxido (para 30 mL de solução aquosa contendo MC-LR na concentração de 2,5 µg.L⁻¹ e um tempo de exposição de 5h.

Diante do exposto pode-se afirmar que os óxidos investigados, em especial o SrZr_{0,25}Sn_{0,75}O₃ e SrZr_{0,75}Sn_{0,75}O₃, apresentam potencial para a remoção da MC-LR em águas e que o produto de degradação possui uma toxicidade menor que 14%.

7 PERSPECTIVAS

- ✓ Estudar a influência de fatores como pH e presença de eletrólitos na performance dos óxidos modificados estudados;
- ✓ Avaliar a capacidade fotocatalítica dos óxidos estudados para soluções mais concentradas;
- ✓ Investigar a performance do óxido modificado para remoção de MC-LR em águas residuais;
- ✓ Realizar testes de atividade hemolítica com outras tipagens sanguíneas.

REFERÊNCIAS

ABBAS, I.; ZAHEER, S. Advanced oxidation process for wastewater treatment : A review. **American International Journal of Research in Science, Technology, Engineering & Mathematics**, v. 3, n. 7, p. 189–191, 2014.

AGRAWAL, M.; YADAV, S.; PATEL, C.; RAIPURIA, N.; AGRAWAL, M. K. Bioassay methods to identify the presence of cyanotoxins in drinking water supplies and their removal strategies. **European Journal of Experimental Biology**, v. 2, n. 2, p. 321–336, 2012.

AHMAD, R. Gravity separation/sedimentation. *In*: KEELEY, J. (Ed.). **Water Encyclopedia**. 5. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2005. p. 4112.

AKTER, S.; VEHNÄÄINEN, M.; KANKAANPÄÄ, H.; LAMMINMÄKI, U. Rapid and highly sensitive non-competitive immunoassay for specific detection of nodularin. **Microorganisms**, v. 5, n. 3, p. 58, 2017.

AL-RASHEED, R. Water treatment by heterogeneous photocatalysis an overview. **4th SWCC Acquired Experience Symposium**, p. 1–14, 2005.

ALAMMAR, T.; HAMM, I.; GRASMIK, V.; WARK, M.; MUDRING, A. V. Microwave-assisted synthesis of perovskite SrSnO_3 nanocrystals in ionic liquids for photocatalytic applications. **Inorganic Chemistry**, v. 56, n. 12, p. 6920–6932, 2017.

ALBUQUERQUE, M. V. C. **Avaliação da degradação de microcistina-LR no tratamento de abastecimento em sistema convencional seguido por Processo Oxidativo Avançado (POA)**. 2017. 126 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

ALIJANI, S.; MOGHADDAM, A. Z.; VAEZ, M.; TOWFIGHI, J. Synthesis of N-TiO₂-P25 coated on ceramic foam by modified sol-gel method for Acid Red 73 degradation under visible-light irradiation. **Research on Chemical Intermediates**, v. 41, n. 7, p. 4489–4509, 2014.

ALJUBOURYA, D. A. D. A.; PALANIANDY, P.; AZIZ, H. B. A.; FERROZ, S. Comparative study of advanced oxidation processes to treat petroleum wastewater. **Hungarian Journal of Industry and Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 97–101, 2015.

ALMEIDA, C. R.; SPIANDORELLO, F. B.; GIROLDO, D.; YUNES, J. S. The effectiveness of conventional water treatment in removing *Ceratium Furcoides* (Levander) langhans, *Microcystis sp* and microcystins. **Water SA**, v. 42, n. 4, p. 606–611, 2016.

ALTANER, S.; PUDDICK, J.; WOOD, S. A.; DIETRICH, D. R. Adsorption of ten microcystin congeners to common laboratory-ware is solvent and surface dependent. **Toxins**, v. 9, n. 4, p. 1–15, 2017.

ÁLVAREZ, X.; VALERO, E.; SANTOS, R. M. B.; VARANDAS, S. G. P.; SANCHES FERNANDES, L. F.; PACHECO, F. A. L. Anthropogenic nutrients and eutrophication in multiple land use watersheds: best management practices and policies for the protection of water resources. **Land Use Policy**, v. 69, n. August, p. 1–11, 2017.

ALVES, M. C. F.; SOUZA, S. C.; LIMA, H. H. S.; NASCIMENTO, M. R.; SILVA, M. R. S.; ESPINOSA, J. W. M.; LIMA, S. J. G.; LONGO, E.; PIZANI, P. S.; SOLEDADE, L. E. B.; SOUZA, A. G.; SANTOS, I. M. G. Synthesis of CaSnO_3 - SrSnO_3 thin films by chemical solution deposition. **Journal of Alloys Compounds**, v. 476, p. 507–512, 2009.

AMARAL, P. A. P. DO; CORAL, L. A.; NAGEL-HASSEMER, M. E.; BELLI, T. J.; LAPOLLI, F. R. Association of Dissolved air Flotation (DAF) with microfiltration for cyanobacterial removal in water supply. **Desalination and Water Treatment**, v. 51, n. 7–9, p. 1664–1671, 2013.

AMETA, R.; K. CHOHADIA, A.; JAIN, A.; PUNJABI, P. B. Fenton and photo-fenton processes. In: AMETA, S.; RAKSHIT, A. (Ed.). **Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment**. 1. ed. London: Elsevier, 2018. p. 49–87.

AMETA, R.; SOLANKI, M. S.; BENJAMIN, S.; AMETA, S. C. Photocatalysis. In: AMETA, S.; RAKSHIT, A. (Ed.). **Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment**. 1. ed. London: Elsevier, 2018. p. 135–175.

AMETA, S. C. Introduction. In: AMETA, S.; RAKSHIT, A. (Ed.). **Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment**. 1. ed. London: Elsevier, 2018. p. 1–12.

ANDERSEN, J.; HAN, C.; O'SHEA, K.; DIONYSIOU, D. D. Revealing the degradation intermediates and pathways of visible light-induced NF-TiO₂ photocatalysis of microcystin-LR. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 154–155, p. 259–266, 2014.

ANDERSON, M. Design of Experiments. **The Industrial Physicist**, v. 1, n. 1, p. 24–26, 1997.

ANTONIOU, M. G.; SHOEMAKER, J. A.; LA CRUZ, A. A. DE; DIONYSIOU, D. D. LC/MS/MS structure elucidation of reaction intermediates formed during the TiO₂ photocatalysis of Microcystin-LR. **Toxicon**, v. 51, n. 6, p. 1103–1118, 2008.

ANTONOPOULOU, M.; EVGENIDOU, E.; LAMBROPOULOU, D.; KONSTANTINOI, I. A review on advanced oxidation processes for the removal of taste and odor compounds from aqueous media. **Water Research**, v. 53, p. 215–234, 2014.

APELDOORN, M. E. VAN; EGMOND, H. P. VAN; SPEIJERS, G. J. A.; BAKKER, G. J. I. Toxins of cyanobacteria. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, n. 1, p. 7–60, 2007.

ARAGÃO-TAVARES, N. K. C.; MOURA, A. N.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Planktonic cyanobacteria forming blooms in reservoirs of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 8, n. 4, p. 662–668, 2013.

ARANDA-RODRIGUEZ, R.; JIN, Z.; HARVIE, J.; CABECINHA, A. Evaluation of three field test kits to detect microcystins from a public health perspective. **Harmful Algae**, v. 42, n. 1, p. 34–42, 2015.

ARAÚJO, K. S. DE; ANTONELLI, R.; GAYDECZKA, B.; GRANATO, A. C.; MALPASS, G. R. P. Perfis cognitivos de crianças e adolescentes com dislexia na WISC-III. **Arquivos Brasileiros de Psicologia**, v. 66, n. 2, p. 17–35, 2016.

ATHAYDE, D. D.; SOUZA, D. F.; SILVA, A. M. A.; VASCONCELOS, D.; NUNES, E. H. M.; COSTA, J. C. D.; VASCONCELOS, W. L. Review of perovskite ceramic synthesis and membrane preparation methods. **Ceramics International**, v. 42, n. 6, p. 6555–6571, 2016.

AZEVEDO, S. M. F. O.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E. M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. **Toxicology**, v. 181–182, p. 441–446, 2002.

AZEVEDO, S. M. F. O.; EVANS, W. R.; CARMICHAEL, W. W.; NAMIKOSHI, M. First report of microcystins from a brazilian isolate of the cyanobacterium *microcystis aeruginosa*. **Journal of Applied Phycology**, v. 6, n. 3, p. 261–265, 1994.

BABAJANI, N.; LAMSHIDI, S. Investigation of photocatalytic malachite green degradation by iridium doped zinc oxide nanoparticles: Application of response surface methodology. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 782, n. 1, p. 533–544, 2019.

BALAMURUGAN, S.; SAMSOLOMAN, D. P. Investigation of shell and tube heat exchangers by using a design of experiment. **Journal of Heat and Mass Transfer Research**, v. 1, n. 2, p. 59–66, 2014.

BANNIKOV, V. V.; SHEIN, I. R.; KOZHEVNIKOV, V. L.; IVANOVSKII, A. L. Magnetism without magnetic ions in non-magnetic perovskites SrTiO₃, SrZrO₃ and SrSnO₃. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 320, n. 1, p. 936–942, 2008.

BARAD, M. Design of Experiments (DOE)-a valuable multi-purpose methodology. **Applied Mathematics**, v. 5, n. 14, p. 2120–2129, 2014.

BARROS NETO, B. DE; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2001.

BEGUM, A. N.; TERAQ, J. Protective effects of alpha-tocotrienol against free radical induced impairment of erythrocyte deformability. **Bioscience, Biotechnology and biochemistry**, v. 66, n. 2., p. 398-403, 2002.

BEHNAJADY, M. A.; HAJIAHMADI, M. Intensification of Azo Dye Removal Rate in the Presence of Immobilized TiO₂ Nanoparticles and Inorganic Anions under UV-C Irradiation: Optimization by Response Surface Methodology. **International Journal of Photoenergy**, v. 2013, n. 1, p. 1–11, 2013.

BETANCOURT, W. Q.; ROSE, J. B. Drinking water treatment processes for removal of Cryptosporidium and Giardia. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1–2, p. 219–234, 2004.

BHOSALE, G. M.; SALKAR, P. V. D. Rehabilitation by chemical treatment for sand media of rapid sand filtration units for sangli city. **Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology**, v. 6, n. 5, p. 32–37, 2013.

BISHOP, C. T.; ANET, E. F. L. J.; GORHAM, P. R. Isolation and identification of the fast-death factor in microcystis aeruginosa NRC-1. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 1, p. 453–471, 1959.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.; HEREMAN, T.; CORDEIRO-ARAÚJO, M.; MACEDO-SILVA, I.; DIAS, C.; SASAKI, F.; MOURA, A. Phytotoxicity associated to microcystins: a review. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 4, p. 753–760, 2014.

BLÁHA, L.; BABICA, P.; MARŠÁLEK, B. Toxins produced in cyanobacterial water blooms - toxicity and risks. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 2, n. 2, p. 36–41, 2009.

BRAGA, A. N. S.; DUARTE-NETO, J. F.; MENEZES, R.; R.; LIRA, H. L.; NEVES, G. A. Síntese de mulita pelo processo sol-gel: Uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 9, n. 2, p. 60–73, 2014.

BOHNEMANN, J.; LIBANORI, R.; MOREIRA, M. L.; LONGO, E. High-efficient microwave synthesis and characterisation of SrSnO₃. **Chemical Engineering Journal**, v. 155, p. 905–909, 2009.

BORBA, F. D. S. L.; JAWHARI, T.; SALDANHA HONORATO, R.; JUAN, A. Confocal Raman imaging and chemometrics applied to solve forensic document examination involving crossed lines and obliteration cases by a depth profiling study. **The Analyst**, v. 142, n. 7, p. 1106–1118, 2017.

BOUHADDADA, R.; NÉLIEU, S.; NASRI, H.; DELARUE, G.; BOUAÏCHA, N. High diversity of microcystins in a Microcystis bloom from an algerian lake. **Environmental Pollution**, v. 216, p. 836–844, 2016.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Simplex-sum designs: a class of second order rotatable designs derivable from those of first order. **The Annals of Mathematical Statistics**, v. 31, n. 4, p. 838–864, 1960.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; GORDON HUNTER, W. **Statistics for experimenters: design, innovation, and discovery**. 2. ed. Nova Jersey: Wiley-Interscience, 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2011.

BRASIL, J.; ATTAYDE, J. L.; VASCONCELOS, F. R.; DANTAS, D. D. F.; HUSZAR, V. L. M. Drought-induced water-level reduction favors cyanobacteria blooms in tropical shallow lakes. **Hydrobiologia**, v. 770, n. 1, p. 145–164, 2016.

BRERETON, R. G.; JANSEN, J.; LOPES, J.; MARINI, F.; POMERANTSEV, A.; RODIONOVA, O.; ROGER, J. M.; WALCZAK, B.; TAULER, R. Chemometrics in analytical chemistry-part I: history, experimental design and data analysis tools. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 409, n. 25, p. 5891–5899, 2017.

BUKOWSKA, A.; KALIŃSKI, T.; KOPER, M.; KOSTRZEWSKA-SZLAKOWSKA, I.; KWIATOWSKI, J.; MAZUR-MARZEC, H.; JASSER, I. Predicting blooms of toxic cyanobacteria in eutrophic lakes with diverse cyanobacterial communities. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017.

BURATTI, F. M.; MANGANELLI, M.; VICHI, S.; STEFANELLI, M.; SCARDALA, S.; TESTAI, E.; FUNARI, E. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. **Archives of Toxicology**, v. 91, n. 3, p. 1049–1130, 2017.

BURATTI, F. M.; SCARDALA, S.; FUNARI, E.; TESTAI, E. The conjugation of microcystin-RR by human recombinant GSTs and hepatic cytosol. **Toxicology Letters**, v. 219, n. 3, p. 231–238, 2013.

CAGIDE, E.; BECHER, P. G.; LOUZAO, M. C.; ESPÍÑA, B.; VIEYTES, M. R.; JÜTTNER, F.; BOTANA, L. M. Hapalindoles from the cyanobacterium *Fischerella*: potential sodium channel modulators. **Chemical Research in Toxicology**, v. 27, n. 10, p. 1696–1706, 2014.

CALDAS, L. F. S.; FRANCISCO, B. B. A.; NETTO, A. D. P.; CASSELLA, R. J. Multivariate optimization of a spectrophotometric method for copper determination in brazilian sugar-cane spirits using the Doehlert design. **Microchemical Journal**, v. 99, n. 1, p. 118–124, 2011.

CAMLIBEL, N. O.; ARIK, B. Sol-gel applications in textile finishing processes. *In*: CHANDRA, U. (ed.). **Recent Applications in Sol-Gel Synthesis**. 1. ed. London: IntechOpen, 2017. p. 253–281.

CAMACHO, F. P.; OLIVEIRA RUIZ MORETI, L.; ARAKAWA, F. S.; SHIMABUKU, Q. L.; FRANCISCO DA SILVA, G.; VALVERDE, K. C.; SILVA, F. A. DA; WURZLER, G. T.; SILVA, G. N. DA; BERGAMASCO, R. Remoção de *microcystis aeruginosa* e microcistina em água eutrofizada através do processo combinado de coagulação/floculação seguido de nanofiltração. **e-xacta**, v. 6, n. 2, p. 45–53, 2013.

CARMICHAEL, W. The cyanotoxins. **Advances in Botanical Research**, v. 27, n. 1, p. 211–256, 1997.

CARMICHAEL, W. W.; BEASLEY, V.; BUNNER, D.; ELOFF, J. N.; FALCONER, I.; GORHAM, P.; HARADA, K. I.; KRISHNAMURTHY, T.; MIN-JUAN, Y.; MOORE, R. E.; RINEHART, K.; RUNNEGAR, M.; SKULBERG, O. M.; WATANABE, M. Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). **Toxicon**, v. 26, n. 11, p. 971–973, jan. 1988.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 72, n. 6, p. 445–459, 1992.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of Cyanobacteria. **Scientific America**, v. 270, n. 1 January, p. 64–72, 1994.

CARMICHAEL, W. W. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: “the cyanoHABs”. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 7, n. 5, p. 1393–1407, 2001.

CARMICHAEL, W. W.; BOYER, G. L. Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. **Harmful Algae**, v. 54, p. 194–212, 2016.

CARREÑO, N. L. V.; LEITE, E. R.; SANTOS, L. P. S.; LISBOA-FILHO, P. N.; LONGO, E.; ARAÚJO, G. C. L.; BARISON, A.; FERREIRA, A. G.; VALENTINI, A.; PROBST, L. F. D. Síntese, caracterização e estudo das propriedades catalíticas e magnéticas de nanopartículas de Ni dispersas em matriz mesoporosa de SiO₂. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 935–942, 2002.

CARVALHO, E. B., BORGES, E. L., CARLOS, L. M. B., SILVA, M. A. M., MAGALHÃES, S. M. M., GOMES, F. V. B. A. F., CARVALHO, M. J. C., QUIXADÁ, A. T. S., PITOMBEIRA, M. H. S. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 2, p. 149-152, 2007.

CARTER, J. **Chromatography : concepts, methods and applications**. 1. ed. New York: Library Press, 2017.

CASTRO, E.; AVELLANEDA, A.; MARCO, P. Combination of advanced oxidation processes and biological treatment for the removal of benzidine-derived dyes. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 33, n. 3, p. 873–885, 2014.

CASTRO, N. O.; MOSER, G. A. O. Florações algais nocivas e seus efeitos ambientais. **Oecologia Australis**, v. 16, n. 2, p. 235–264, 2012.

CAVALCANTE, L. S.; SIMÕES, A. Z.; SCZANCOSKI, J. C.; LONGO, V. M.; ERLO, R.; ESCOTE, M. T.; LONGO, E.; VARELA, J. A. SrZrO₃ powders obtained by chemical method : Synthesis , characterization and optical absorption behaviour. **Solid State Sciences**, v. 9, p. 1020–1027, 2007.

CAVALCANTI, E.; JÚNIOR, D. A.; ORLANDO, M.; MÉNDEZ, A. Removal of cyanobacteria toxins from drinking water by adsorption on activated carbon fibers 2. **Experimental Procedures**, v. 11, n. 3, p. 371–380, 2008.

CAVAZZUTI, M. Design of experiments. *In*: CAVAZZUTI, M. (Ed.). . **Optimization Methods: From Theory to Design Scientific and Technological Aspects in Mechanics**. 1. ed. London: Springer, 2013. p. 13–42.

CERNEA, M.; VASILIU, F.; PLAPCIANU, C.; BARTHA, C.; MERCIONIU, I.; PASUK, I.; LOWNDES, R.; TRUSCA, R.; ALDICA, G. V.; PINTILIE, L. Preparation by sol-gel and solid state reaction methods and properties investigation of double perovskite $\text{Sr}_2\text{FeMoO}_6$. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 33, n. 13–14, p. 2483–2490, 2013.

CERVANTES, T. N. M.; ZAIA, D. A. M.; SANTANA, H. DE. Estudo da fotocatalise heterogênea sobre Ti/TiO₂ na descoloração de corantes sintéticos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2423–2428, 2009.

CHANG, J.; CHEN, Z. L.; WANG, Z.; KANG, J.; CHEN, Q.; YUAN, L.; SHEN, J. M. Oxidation of microcystin-LR in water by ozone combined with UV radiation: The removal and degradation pathway. **Chemical Engineering Journal**, v. 276, p. 97–105, 2015.

CHEN, H.; UMEZAWA, N. Sensitization of perovskite strontium stannate srsno 3 towards visible-light absorption by doping. **International Journal of Photoenergy**, v. 2014, p. 1–3, 2014.

CHEN, Q.; JI, F.; GUO, Q.; FAN, J.; XU, X. Combination of heterogeneous fenton-like reaction and photocatalysis using Co-TiO₂ nanocatalyst for activation of KHSO₅ with visible light irradiation at ambient conditions. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, n. 12, p. 2440–2450, 2014.

CHEN, Y.; SHEN, D.; FANG, D. Nodularins in poisoning. **Clinica Chimica Acta**, v. 425, p. 18–29, 2013.

CHENG, L.; XIANG, Q.; LIAO, Y.; ZHANG, H. CdS-based photocatalysts. **Energy & Environmental Science**, v. 11, n. 1, p. 1362–1391, 2018.

CHEUNG, M. Y.; LIANG, S.; LEE, J. Toxin-producing cyanobacteria in freshwater: A review of the problems, impact on drinking water safety, and efforts for protecting public health. **Journal of Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 1–10, 2013.

CHLIPALA, G. E.; MO, S.; ORJALA, J. Chemodiversity in freshwater and terrestrial cyanobacteria – a source for drug discovery. **Current Drug Targets**, v. 12, n. 11, p. 1654–1673, 2011.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. 1. ed. London: CRC Press, 1999.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. 1. ed. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2006.

COLLIVIGNARELLI, M. C.; PEDRAZZANI, R.; SORLINI, S.; ABBÀ, A.; BERTANZA, G. H₂O₂based oxidation processes for the treatment of real high strength aqueous wastes. **Sustainability (Switzerland)**, v. 9, n. 2, p. 1–14, 2017.

COLMENARES, J. C.; LUQUE, R. Heterogeneous photocatalytic nanomaterials: prospects and challenges in selective transformations of biomass-derived compounds. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 3, p. 765–778, 2014.

CONTARDO-JARA, V.; KUEHN, S.; PFLUGMACHER, S. Single and combined exposure to MC-LR and BMAA confirm suitability of *Aegagropila linnaei* for use in green liver systems[®]-A case study with cyanobacterial toxins. **Aquatic Toxicology**, v. 165, p. 101–108, 2015.

CORAL, L. A.; PROENÇA, L. A. D. O.; JESUS BASSETTI, F. DE; LAPOLLI, F. R. Nanofiltration membranes applied to the removal of saxitoxin and congeners. **Desalination and Water Treatment**, v. 27, n. 1–3, p. 8–17, 2011.

CORBEL, S.; MOUGIN, C.; BOUAÏCHA, N. Cyanobacterial toxins: Modes of actions, fate in aquatic and soil ecosystems, phytotoxicity and bioaccumulation in agricultural crops. **Chemosphere**, v. 96, p. 1–15, 2014.

COSTA, M. R. A. DA; ATTAYDE, J. L.; BECKER, V. Effects of water level reduction on the dynamics of phytoplankton functional groups in tropical semi-arid shallow lakes. **Hydrobiologia**, v. 778, n. 1, p. 75–89, 2015.

CTIBOR, P. After-glow luminescence of SrZrO₃ prepared by plasma spraying. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 1, n. 1, p. 1–5, 2018.

D'AGOSTINO, P. M.; SONG, X.; NEILAN, B. A.; MOFFITT, M. C. Comparative proteomics reveals that a saxitoxin-producing and a nontoxic strain of *Anabaena circinalis* are two different ecotypes. **Journal of Proteome Research**, v. 13, n. 3, p. 1474–1484, 2014.

DAO, T.; LE, T.; PHAM, T.; DO-HONG, L.-C.; NGUYEN, P. Influences of cyanobacterial toxins microcystins on the seedling of plants. **Journal of Environmental Protection**, v. 5, n. 1, p. 35–41, 2014.

DAVIDSON, K.; GOWEN, R. J.; HARRISON, P. J.; FLEMING, L. E.; HOAGLAND, P.; MOSCHONAS, G. Anthropogenic nutrients and harmful algae in coastal waters. **Journal of Environmental Management**, v. 146, p. 206–216, 2014.

DENG, Y.; ZHAO, R. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in wastewater treatment. **Current Pollution Reports**, v. 1, n. 3, p. 167–176, 2015.

DIEHL, F.; RAMOS, P. B.; SANTOS, J. M. DOS; BARROS, D. M.; YUNES, J. S. Behavioral alterations induced by repeated saxitoxin exposure in drinking water. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 22, n. 1, p. 1–10, 2016.

DIL, E. A.; GHAEDI, M.; ASFARAM, A.; HAJATI, S.; MEHRABI, F.; GOUDARZI, A. Preparation of nanomaterials for the ultrasound-enhanced removal of Pb²⁺ ions and malachite green dye: Chemometric optimization and modeling. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 677–691, 2017.

DJOUD, L.; OMARI, M. Synthesis and characterization of perovskite oxides LaAl_{1-x}Ni_xO_{3-δ} (0 ≤ x ≤ 0.6) via co-precipitation method. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, v. 25, n. 4, p. 796-803, 2015.

DIMESSO, L. Pechini processes: An alternate approach of the sol–gel method, preparation, properties, and applications. *In*: KLEIN, L.; APARICIO, M.; JITIANU, A. (ed.). **Handbook of Sol-Gel Science and Technology**. 1. ed. Cham: Springer, 2016, p. 1–22.

DIXON, M. B.; FALCONET, C.; HO, L.; CHOW, C. W. K.; O'NEILL, B. K.; NEWCOMBE, G. Removal of cyanobacterial metabolites by nanofiltration from two treated waters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 188, n. 1–3, p. 288–295, 2011.

DOMÈNECH, X.; JARDIM, W. F.; LITTER, M. I. Procesos Avanzados de Oxidación para la eliminación de contaminantes. *In*: BLESA, M. (Ed.). **Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea**. 1. ed. Red CYTED VIII-G, 2001. p. 7–34.

DOMINGO, J. L. Aluminum (aluminium)/ toxicology. *In*: CABALLERO, B.; TRUGO, L. C.; FINGLAS, P. M. (Eds.). **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. 2. ed. San Diego: Elsevier, 2003. p. 160–166.

DOMÍNGUEZ-PÉREZ, D.; RODRÍGUEZ, A. A.; OSORIO, H.; AZEVEDO, J.; CASTAÑEDA, O.; VASCONCELOS, V.; ANTUNES, A. Microcystin-LR detected in a low molecular weight fraction from a crude extract of zoanthus sociatus. **Toxins**, v. 9, n. 89, p. 1–16, 2017.

DONG, P.; HOU, G.; XI, X.; SHAO, R.; DONG. WO₃-based photocatalysts: morphology control, activity enhancement and multifunctional applications. **Royal Society of Chemistry**, v. 1, n. 3, p. 1–19, 2017.

DURAI, P.; BATOOL, M.; CHOI, S. Structure and effects of cyanobacterial lipopolysaccharides. **Marine Drugs**, v. 13, n. 7, p. 4217–4230, 2015.

DURÁN-RIVEROLL, L. M.; CEMBELLA, A. D. Guanidinium toxins and their interactions with voltage-gated sodium ion channels. **Marine Drugs**, v. 15, n. 10, p. 1–28, 2017.

EBELING, J. M.; SIBRELL, P. L.; OGDEN, S. R.; SUMMERFELT, S. T. Evaluation of chemical coagulation-flocculation aids for the removal of suspended solids and phosphorus from intensive recirculating aquaculture effluent discharge. **Aquacultural Engineering**, v. 29, n. 1–2, p. 23–42, 2003.

EISENBRAND, G., POLL-ZOBEL, B., BAKER, V., BALLS, M., BLAAUBOER, B. J., BOOBIS, A., CARERE, A., KEVEKORDES, S., LHUGUENOT, J. C., PIETERS, R., KLEINER, J. Methods of in vitro toxicology. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 2, p. 1993-236, 2002.

EISENHUT, M.; RUTH, W.; HAIMOVICH, M.; BAUWE, H.; KAPLAN, A.; HAGEMANN, M. The photorespiratory glycolate metabolism is essential for cyanobacteria and might have been conveyed endosymbiotically to plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 44, p. 17199–17204, 2008.

ERIKSSON, L.; JOHANSSON, E.; WOLD, N. K.; WIKSTRÖM, C.; WOLD, S. 1 Introduction (Level 1). In: ERIKSSON, L. (Ed.). . **Design of Experiments - Principles and Applications**. 3. ed. Stockholm: Umetrics Academy, 2000. p. 7–24.

FARABEGOLI, F.; BLANCO, L.; RODRÍGUEZ, L. P.; VIEITES, J. M.; CABADO, A. G. Phycotoxins in marine shellfish: Origin, occurrence and effects on humans. **Marine Drugs**, v. 16, n. 188, p. 2–26, 2018.

FARAHANI, H.; WAGIRAN, R.; URBAN, G. MgO-Doped (Zr,Sr)TiO₃ perovskite humidity sensors: microstructural effects on water permeation. **Proceedings**, v. 1, n. 408, p. 1–5, 2017.

FERRÃO-FILHO, A. S.; HERRERA, N. A.; ECHEVERRI, L. F. Microcystin accumulation in cladocerans: First evidence of MC uptake from aqueous extracts of a natural bloom sample. **Toxicon**, v. 87, n. 1, p. 26–31, 2014.

FERREIRA, E. M.; OLIVEIRA, K. C. Cyanotoxins removal from the water : A review. **Revista de Monografias Ambientais**, v. 15, n. 2, p. 18-31, 2016.

FIGUREZE, M.; SANTOS, E. P. DOS; SCHMACHTENBERG, N. Processos oxidativos avançados: Fundamentos e aplicação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 79–91, 2014.

FIRMINO, C. B. **Influência da idade em doadoras humanas sobre a estabilidade de seus eritrócitos**. 2017. 89 p. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

FONSECA, J. R.; VIEIRA, P. C. S.; KUJBIDA, P.; COSTA, I. A. S. DA. Cyanobacterial occurrence and detection of microcystins and saxitoxins in reservoirs of the Brazilian semi-arid. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 27, n. 1, p. 78–92, 2015.

FONTANILLO, M.; KÖHN, M. Microcystins: Synthesis and structure–activity relationship studies toward PP1 and PP2A. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 1118–1126, 2018.

FREITAS, A. M. DE; SIRTORI, C.; LENZ, C. A.; ZAMORA, P. G. P. Microcystin-LR degradation by solar photo-Fenton, UV-A/photo-Fenton and UV-C/H₂O₂: A comparative study. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 12, n. 4, p. 696–702, 2013.

GAO, B.; HAHN, H. .; HOFFMANN, E. Evaluation of aluminum-silicate polymer composite as a coagulant for water treatment. **Water Research**, v. 36, n. 14, p. 3573–3581, 2002.

GARDA, T.; RIBA, M.; VASAS, G.; BEYER, D.; M-HAMVAS, M.; HAJDU, G.; TÁNDOR, I.; MÁTHÉ, C. Cytotoxic effects of cylindrospermopsin in mitotic and non-mitotic *Vicia faba* cells. **Chemosphere**, v. 120, p. 145–153, 2015.

GAYA, U. I. Principles of heterogeneous photocatalysis. *In*: _____. (ed.). **Heterogeneous Photocatalysis Using Inorganic Semiconductor Solids**. 1. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014. p. 1–41.

GEHRINGER, M. M.; WANNICKE, N. Climate change and regulation of hepatotoxin production in cyanobacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 88, n. 1, p. 1–25, 2014.

GIRISH, H. N.; VIJAYA KUMAR, M. S.; BYRAPPA, K.; BASAVALINGU, B. Hydrothermal synthesis of some of lanthanide aluminium perovskites – LnAlO₃ (Ln = La, Sm and Gd). **Materials Research Innovations**, v. 19, n. 4, p. 270–274, 2015.

GOMEZ-SOLÍS, C.; OLIVA, J.; DIAZ-TORRES, L. A.; BERNAL-ALVARADO, J.; REYES-ZAMUDIO, V.; ABIDOV, A.; TORRES-MARTINEZ, M. Efficient photocatalytic activity of $M\text{SnO}_3$ (M: Ca, Ba, Sr) stannates for photoreduction of 4-nitrophenol and hydrogen production under UV light irradiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A**, v. 371, n. 1, p. 365-373, 2018.

GORHAM, P. R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U. T.; KIM, W. K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb. **Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Verhandlungen**, v. 15, n. 2, p. 796-804, 1964.

GUJRAL, G.; KAPOOR, D.; JAIMINI, M. An updated review on design of experiment (DOE) in pharmaceuticals. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 8, n. 3, p. 147-152, 2018.

HADJISOLOMOU, E.; STEFANIDIS, K.; PAPATHEODOROU, G.; PAPASTERGIADOU, E. Assessment of the eutrophication-related environmental parameters in two mediterranean lakes by integrating statistical techniques and self-organizing maps. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 3, 2018.

HAIDER, A. J.; AL-ANBARI, R. H.; KADHIM, G. R.; SALAME, C. T. Exploring potetial environmental applications of TiO_2 nanoparticles. **Energy Procedia**, v. 119, n. 1, p. 332-345, 2017.

HAN, C.; MACHALA, L.; MEDRIK, I.; PRUCEK, R.; KRALCHEVSKA, R. P.; DIONYSIOU, D. D. Degradation of the cyanotoxin microcystin-LR using iron-based photocatalysts under visible light illumination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 23, p. 19435-19443, 2017.

HAN, K.; LUO, N.; JING, Y.; WANG, X.; PENG, B.; LIU, L.; HU, C.; ZHOU, H.; WEI, Y.; CHEN, X.; FENG, Q. Structure and energy storage performance of Ba-modified AgNbO_3 lead-free antiferroelectric ceramics. **Ceramics International**, v. 45, n. 5, p. 5559-5565, 2019.

HAQUE, M. M.; BAHNEMANN, D.; MUNEER, M. Photocatalytic degradation of organic pollutants: mechanisms and kinetics. In: PUZYN, T. (Ed.). **Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update**. 1. ed. London: InTech, 2012. p. 293-326.

HE, X.; CRUZ, A. A. DE; HISKIA, A.; KALOUDIS, T.; SHEA, O.; DIONYSIOU, D. D. Destruction of cyanotoxin microcystins by UV-254 nm based direct photolysis and advanced oxidation processes (AOPs): Influence of variable amino acids on the degradation kinetics and reaction mechanisms. **Water Research**, v. 74, n.1, p. 227-238, 2015.

HE, X.; STANFORD, B. D.; ADAMS, C.; ROSENFELDT, E. J.; WERT, E. C. Varied influence of microcystin structural difference on ELISA cross-reactivity and chlorination efficiency of congener mixtures. **Water Research**, v. 126, n. 1, p. 515–523, 2017.

HEATHCOTE, A.; FILSTRUP, C.; KENDALL, D.; DOWNING, J. Biomass pyramids in lake plankton: influence of cyanobacteria size and abundance. **Inland Waters**, v. 6, n. 2, p. 2–6, 2016.

HÉBERGER, K. Chemoinformatics-multivariate mathematical-statistical methods for data evaluation. *In*: VÉKEY, K.; TELEKES, A.; VERTES, A. (Eds.). **Medical Applications of Mass Spectrometry**. 1. ed. London: Elsevier, 2008. p. 141–169.

HEISLER, J.; GILBERT, P. M.; BURKHOLDER, J. M.; ANDERSON, D. M.; COCHLAN, W.; DENNISON, W. C.; DORTCH, Q.; GOBLER, C. J.; HEIL, C. A.; HUMPHRIES, E.; LEWITUS, A.; MAGNIEN, R.; MARSHALL, H. G.; SELNER, K.; STOCKWELL, D. A.; STOECKER, D. K.; SUDDLESON, M. Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. **Harmful Algae**, v. 8, n. 1, p. 3–13, 2008.

HOHMANN-MARRIOTT, M. F.; BLANKENSHIP, R. E. Evolution of photosynthesis. **Review of Plant Biology**, v. 62, n. 1, p. 515–548, 2011.

HOSSAIN, S.; ABDALLA, A. M.; JAMAIN, S. N. B.; ZAINI, J. H.; AZAD, A. K. A review on proton conducting electrolytes for clean energy and intermediate temperature-solid oxide fuel cells. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, n. May, p. 750–764, 2017.

HSIEH, H.-C.; YU, J.; RWEI, S.-P.; LIN, K.-F.; SHIH, Y.-C.; WANG, L. Ultra-compact titanium oxide prepared by ultrasonic spray pyrolysis method for planar heterojunction perovskite hybrid solar cells. **Thin Solid Films**, v. 659, n. 2017, p. 41–47, 2018.

HU, D.; LIU, D.; ZHANG, J.; WU, L.; LI, W. Preparation and stability study of broadband anti-reflection coatings and application research for CdTe solar cell. **Optical Materials**, v. 77, n. 1, p. 132–139, 2018.

HU, X.; TANG, Y.; XIAO, T.; JIANG, J.; JIA, Z.; LI, D.; LI, B.; LUO, L. Rapid synthesis of single-crystalline SrSn(OH)₆ nanowires and the performance of SrSnO₃ nanorods used as anode materials for Li-ion battery. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 1, p. 947–952, 2010.

HUANG, X.; FENG, M.; NI, C.; XIE, D.; LI, Z. Enhancement of nitrogen and phosphorus removal in landscape water using polymeric ferric sulfate as well as the synergistic effect of four kinds of natural rocks as promoter. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 13, p. 12859–12867, 2018.

IBHADON, A.; FITZPATRICK, P. Heterogeneous photocatalysis: recent advances and applications. **Catalysts**, v. 3, n. 1, p. 189–218, 2013.

IBRAHIM, W. M.; SALIM, E. H.; AZAB, Y. A.; ISMAIL, A. H. M. Monitoring and removal of cyanobacterial toxins from drinking water by algal-activated carbon. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 10, p. 1–11, 2015.

IGNATIADES, L.; GOTSIS-SKRETAS, O. A review on toxic and harmful algae in greek coastal waters (E. Mediterranean Sea). **Toxins**, v. 2, n. 5, p. 1019–1037, 2010.

JACOBS, L. C. V.; PERALTA-ZAMORA, P.; RAMOS, F.; PONTAROLO, R. Photocatalytic degradation of microcystin-LR in aqueous solutions Loraine. **Chemosphere**, v. 90, n. 4, p. 1552–1557, 2013.

JI, Y.; LU, G.; CHEN, G.; HUANG, B.; ZHANG, X.; SHEN, K.; WU, S. Microcystin-LR induces apoptosis via NF- κ B /iNOS pathway in INS-1 Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 7, p. 4722–4734, 2011.

JIANG, S.; LI, Y.; LADEWIG, B. P. A review of reverse osmosis membrane fouling and control strategies. **Science of The Total Environment**, v. 595, p. 567–583, 2017.

JO, W. K.; KARTHIKEYAN, S.; ISAACS, M. A.; LEE, A. F.; WILSON, K.; SHIN, S. H.; LEE, J.; KIM, M. K.; PARK, B. S.; SEKARAN, G. NiO/nanoporous carbon heterogeneous fenton catalyst for aqueous microcystin-LR decomposition. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 74, p. 289–295, 2017.

JOHNSON, M.; LEMMENS, P. Crystallography and chemistry of perovskites. *In*: KRONMÜLLER, H.; PARKIN, S.; COEY, M.; INOUE, A.; KRONMÜLLE, H. (Ed.). **Handbook of Magnetism and Advanced Magnetic Materials**. 1. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2007. p. 1–11.

KAEBERNICK, M.; NEILAN, B. A. Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 35, n. 1, p. 1–9, 2001.

KEAV, S.; MATAM, S.; FERRI, D.; WEIDENKAFF, A. Structured perovskite-based catalysts and their application as three-way catalytic converters—a review. **Catalysts**, v. 4, n. 3, p. 226–255, 2014.

KENNEDY, B. J.; QASIM, I.; KNIGHT, K. S. Low temperature structural studies of SrSnO₃. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 27, n. 1, p. 1–5, 2015.

KIM, M. S.; KIM, H. H.; LEE, K. M.; LEE, H. J.; LEE, C. Oxidation of microcystin-LR by ferrous-tetrapolyphosphate in the presence of oxygen and hydrogen peroxide. **Water Research**, v. 114, p. 277–285, 2017.

KIM, Y.-H.; KIM, H.-J.; OSADA, M.; LI, B.-W.; EBINA, Y.; SASAKI, T. Perovskite nanosheets with thermally-stable high- response: A new platform for high-temperature capacitors. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 22, p. 19510–19514, 2014.

KITTIDECHA, C.; MARASINGHE, A. C. Application of kansei engineering and box–behnen response surface methodology for shape parameter design: A case study of wine glass. **Journal of Advanced Mechanical Design, Systems, and Manufacturing**, v. 9, n. 5, p. 1–15, 2015.

KLAFKE, Y. R. **Avaliação da permormance do sistema de fotocatalisadores SrZr_xSn_{1-x}O₃ destinados a degradação do corante remazol amarelo ouro utilizando planejamentos experimentais**. 2016. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

KOHLER, E.; VILLIGER, J.; POSCH, T.; DERLON, N.; SHABAROVA, T.; MORGENROTH, E.; PERNTHALER, J.; BLOM, J. F. Biodegradation of microcystins during gravity-driven membrane (GDM) ultrafiltration. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.

KOVÁCS, K.; FARKAS, J.; VERÉB, G.; ARANY, E.; SIMON, G.; SCHRANTZ, K.; DOMBI, A.; HERNÁDI, K.; ALAPI, T. Comparison of various advanced oxidation processes for the degradation of phenylurea herbicides. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 51, n. 4, p. 205–214, 2016.

KRISHNAN, S.; RAWINDRAN, H.; SINNATHAMBI, C. M.; LIM, J. W. Comparison of various advanced oxidation processes used in remediation of industrial wastewater laden with recalcitrant pollutants. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 206, n. 1, p. 1-11, 2017.

KRZEMIŃSKA, D.; NECZAJ, E.; BOROWSKI, G. Advanced oxidation processes for food industrial wastewater decontamination. **Journal of Ecological Engineering**, v. 16, n. 2, p. 61–71, 2015.

KUMAR, A.; PANDEY, G. A review on the factors affecting the photocatalytic degradation of hazardous materials. **Material Science & Engineering International Journal**, v. 1, n. 3, p. 1–10, 2017.

LABHASETWAR, N.; SARAVANAN, G.; KUMAR MEGARAJAN, S.; MANWAR, N.; KHOBRAGADE, R.; DOGGALI, P.; GRASSET, F. Perovskite-type catalytic materials for environmental applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 16, n. 3, p. 036002, 2015.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente “compatíveis”? II. A escolha do analisador de massas. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 1, p. 27–46, 2009.

LAVINSCKY, A. B. S.; WELSCH, A. M.; KENNEDY, B. J.; BERNARDI, M. I. B.; MASTELARO, V. R. Order-disorder phenomena and octahedral tilting in $\text{SrTi}_{1-x}\text{Sn}_x\text{O}_3$ perovskites – A structural and spectroscopic study. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 269, n. 1, p. 521-531, 2019.

LEARDI, R. Experimental design in chemistry: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, n. 1–2, p. 161–172, 2009.

LEE, C. W.; KIM, D. W.; CHO, I. S.; PARK, S.; SHIN, S. S.; SEO, S. W.; HONG, K. S. Simple synthesis and characterization of SrSnO_3 nanoparticles with enhanced photocatalytic activity. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, 2012.

LI, H. Synthesis of perovskite manganites. In: _____ (ed.). **Synthesis of CMR manganites and ordering phenomena in complex transition metal oxides**. Jülich: Forschungszentrum Jülich, 2008, p. 55-65.

LI, F.; ZHANG, H.; ZHU, Y.; XIAO, Y.; CHEN, L. Effect of flow velocity on phytoplankton biomass and composition in a freshwater lake. **Science of The Total Environment**, v. 447, p. 64–71, 2013.

LI, Y.; XU, H.; CHIEN, P.; WU, N.; XIN, S.; XUE, L.; PARK, K.; HU, Y.; GOODENOUGH, J. B. A perovskite electrolyte that is stable in moist air for lithium-ion batteries. **Angewandte Chemie**, v. 130, n. 28, p. 8723–8727, 2018.

LINS, R. P. M.; BARBOSA, L. G.; MINILLO, A.; CEBALLOS, B. S. O. DE. Cyanobacteria in a eutrophicated reservoir in a semi-arid region in Brazil: dominance and microcystin events of blooms. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 39, n. 2, p. 583–591, 2016.

LIU, B.; QU, F.; LIANG, H.; BRUGGEN, B. VAN DER; CHENG, X.; YU, H.; XU, G.; LI, G. Microcystis aeruginosa-laden surface water treatment using ultrafiltration: Membrane fouling, cell integrity and extracellular organic matter rejection. **Water Research**, v. 112, p. 83–92, 2017.

LIU, Y.; REN, J.; WANG, X.; FAN, Z. Mechanism and reaction pathways for microcystin-LR degradation through UV/H₂O₂ treatment. **Plos One**, v. 11, n. 6, p. 1–11, 2016.

LOBÓN, G. S.; YEPEZ, A.; GARCIA, L. F.; MORAIS, R. L.; VAZ, B. G.; CARVALHO, V. V.; OLIVEIRA, G. A. R.; LUQUE, R.; GIL, E. S. Efficient electrochemical remediation of microcystin-LR in tap water using designer TiO₂@ carbon electrodes. **Scientific Reports**, v. 7, n. 41326, p. 1–8, 2017.

LÓCIO, L. L. **Planejamento e síntese de derivados híbridos anilínicos-acridínicos com potencial atividade antibacteriana**. 2018. 75 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.

LOPES, W. S.; BURITI, J. S.; CEBALOS, B. S. O.; SOUSA, J. T.; LEITE, V. D.; VIEIRA, F. F. Removal of microcystin-LR from drinking water using a system involving oxidation and adsorption. **Water Air Soil Pollut**, v. 228, n. 337, p. 1–14, 2017.

LÓPEZ-ALONSO, H.; RUBIOLO, J. A.; VEGA, F.; VIEYTES, M. R.; BOTANA, L. M. Protein synthesis inhibition and oxidative stress induced by cylindrospermopsin elicit apoptosis in primary rat hepatocytes. **Chemical Research in Toxicology**, v. 26, n. 2, p. 203–212, 2013.

LU, S.; WANG, N.; WANG, C. Oxidation and biotoxicity assessment of microcystin-LR using different AOPs based on UV, O₃ and H₂O₂. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 12, n. 3, p. 12, 2018.

LUCENA, G. L.; LIMA, L. C.; HONÓRIO, L. M. C.; OLIVEIRA, A. L. M.; TRANQUILIM, R. L.; LONGO, E.; SOUZA, A. G.; MAIA, A. S.; SANTOS, I. M. G. CaSnO₃ obtained by modified Pechini method applied in the photocatalytic degradation of an azo dye. **Cerâmica**, v. 63, n. 368, p. 536–541, 2017.

LUCENA, G. L.; SOUZA, J. J. N.; MAIA, A. S.; SOLEDADE, L. E. B.; LONGO, E.; SOUZA, A. G.; SANTOS, I. M. G. New methodology for a faster synthesis of SrSnO₃ by the modified Pechini method. **Cerâmica**, v. 59, n. 350, p. 249–253, 2013.

MANHAPATRA, A. S.; MILTRA, A.; MALLICK, A.; SHAW, A.; GRENECHE, J. M.; CHAKRABARTI, P. K. Modulation of magnetic and dielectric property of LaFeO₃ by simultaneous doping with Ca²⁺ and Co²⁺-ions. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 743, n. 1, p. 274–282, 2018.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 214–222, 2009.

MANSUR, H. S.; MANSUR, A. A. Nano-photocatalysts based on ZnS quantum dots/chitosan for the photodegradation of dye pollutants. **Materials Science and Engineering**, v. 76, n. 1, p. 1–5, 2015.

MANOHAR, M.; JOSEPH, J.; SELVARAJ, T.; SIVAKUMAR, D. Development and evaluation of chronotherapeutic drug delivery system for the management of nocturnal asthma. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 11, n. 5, p. 620–642, 2013.

MARTINELLI, D. M. H. **Síntese e caracterização de catalisadores de LaNiO_3 não suportados e suportados em Al_2O_3 e ZrO_2 para reforma a vapor do metano**. 2007. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

MARTINELLI, D. M. H. **Síntese de catalisadores do tipo $\text{LaNi}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_3$ como precursores catalíticos para reação oxidação parcial do metano**. 2011. 114 p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

MARTINEZ, J. M. G.; MENESES, R. A. M.; SILVA, C. R. M. Synthesis of gadolinium doped ceria ceramic powder by polymeric precursor method (Pechini). **Materials Science Forum**, v. 798-799, n. 1, p. 782–188, 2014.

MC, M.; VE, A.; NM, O. Comparative assessment of performance of aluminium sulphate (alum) and ferrous sulphate as coagulants in water treatment. **Modern Chemistry & Applications**, v. 05, n. 04, 2017.

MEREL, S.; WALKER, D.; CHICANA, R.; SNYDER, S.; BAURÈS, E.; THOMAS, O. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. **Environment International**, v. 59, p. 303–327, 2013.

MESQUITA, I.; ANDRADE, L.; MENDES, A. Perovskite solar cells: Materials, configurations and stability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, n. 1, p. 2471-2489, 2018.

MIAO, J.; SUNARSO, J.; SU, C.; ZHOU, W.; WANG, S.; SHAO, Z. $\text{SrCo}_{1-x}\text{Ti}_x\text{O}_{3-\delta}$ perovskites as excellent catalysts for fast degradation of water contaminants in neutral and alkaline solutions. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017.

MILLER, T. R.; BEVERSDORF, L. J.; WEIRICH, C. A.; BARTLETT, S. L. Cyanobacterial toxins of the Laurentian Great Lakes, their toxicological effects, and numerical limits in drinking water. **Marine Drugs**, v. 15, n. 6, p. 1–51, 2017.

MOHAMED, Z. A. Breakthrough of *Oscillatoria limnetica* and microcystin toxins into drinking water treatment plants – examples from the Nile River, Egypt. **Water SA**, v. 42, n. 1, p. 161, 2016.

MOMANI, F. AL.; SMITH, D. W.; EL-DIN, M. G. Degradation of cyanobacteria toxin by advanced oxidation processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 2, p. 238–249, 2008.

MONACO, P. A. V.; MATOS, A. T. DE; RIBEIRO, I. C. A.; NASCIMENTO, F. DA S.; SARMENTO, A. P. Use of extract of moringa seeds as coagulant agent in treatment of water supply and wastewater. **Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 5, n. 3, p. 222–231, 2010.

MOON, B. R.; KIM, T. K.; KIM, M. K.; CHOI, J.; ZOH, K. D. Degradation mechanisms of Microcystin-LR during UV-B photolysis and UV/H₂O₂ processes: Byproducts and pathways. **Chemosphere**, v. 185, p. 1039–1047, 2017.

MOREIRA, C.; VASCONCELOS, V.; ANTUNES, A. Phylogeny and biogeography of cyanobacteria and their produced toxins. **Marine Drugs**, v. 11, n. 11, p. 4350–4369, 2013.

MOREIRA, M. H.; LUZ, A. P.; CHRISTOFORO, A. L.; PARR, C.; PANDOLFELLI, V. C. Design of Experiments (DOE) applied to high-alumina calcium aluminate cement-bonded castables. **Ceramics International**, v. 42, n. 15, p. 17635–17641, 2016.

MOSTERT, M. M. R.; AYOKO, G. A.; KOKOT, S. Application of chemometrics to analysis of soil pollutants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 430–445, 2010.

MOUNTSTEVENS, E. H.; ATTFIELD, J. P.; REDFERN, S. A. T. Cation-size control of structural phase transitions in tin perovskites. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 15, p. 8315–8326, 2003.

MOUNTSTEVENS, E. H.; REDFERN, S. A. T.; ATTFIELD, J. P. Order-disorder octahedral tilting transitions in SrSnO₃ perovskite. **Physical Review B**, v. 71, n. 1, p. 1–4, 2005.

MOURA, A. DO N.; ARAGÃO-TAVARES, N. K. C.; AMORIM, C. A. Cyanobacterial blooms in freshwater bodies from a semiarid region, northeast Brazil: A review. **J. Limnol**, v. 77, n. 2, p. 179–188, 2018.

MOURABET, M.; RHILASSI, A. EL; BOUJAADY, H. EL; BENNANI-ZIATNI, M.; TAITAI, A. Use of response surface methodology for optimization of fluoride adsorption in an aqueous solution by Brushite. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 3292–3302, 2014.

MOWE, M. A. D.; MITROVIC, S. M.; LIM, R. P.; FUREY, A.; YEO, D. C. J. Tropical cyanobacterial blooms: a review of prevalence, problem taxa, toxins and influencing environmental factors. **Journal of Limnology**, v. 74, n. 2, p. 1–47, 2014.

MUKHERJEE, D.; GHROSH, S.; MAJUMDAR, S.; ANNAPURNA, K. Green synthesis of α -Fe₂O₃ nanoparticles for arsenic(V) remediation with a novel aspect for sludge management. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 1, p. 639–650, 2016.

MURADOR, P., DEFFUNE, E. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 2, p. 168-178, 2007.

NADA, T.; DAMJANA, D.; ZORICA, S.; DRAGANA, L. Cyanotoxins in Serbia and water treatment procedures for their elimination. **Geographica Pannonica**, v. 16, n. 4, p. 155–163, 2012.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4 ed. Nova Jersey: Wiley, 1986.

NASRI, S.; HAFSIA, A. L. B.; TABELLOUT, M.; MEGDICHE, M. Complex impedance, dielectric properties and electrical conduction mechanism of La_{0.5}Ba_{0.5}FeO_{3.8} perovskite oxides. **The Royal Society of Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 76659–76665, 2016.

NIHALANI, S.; VIJAY, A.; TRIPATHI, N.; BHARDWAJ, S. Photocatalytic water treatment by an eco friendly process- BaO₃TiO.SrO₃TiO used in degradation of malachite green and crystal violet in aqueous suspension. v. 2, n. 5, p. 20–26, 2012.

NISHI, L.; SALCEDO VIEIRA, A. M.; FERNANDES VIEIRA, M.; BONGIOVANI, M.; PEREIRA CAMACHO, F.; BERGAMASCO, R. Hybrid process of coagulation/flocculation with *Moringa oleifera* followed by ultrafiltration to remove *Microcystis* sp. cells from water supply. **Procedia Engineering**, v. 42, p. 865–872, 2012.

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

NYBOM, S. Biodegradation of cyanobacterial Toxins. *In*: BARRERA-SALDAÑA, H. (Ed.). **Genetic Engineering - Basics, New Applications and Responsibilities**. 1. ed. London: InTech, 2012. p. 147-170.

OKPARA, C. G.; OPARAKU, N. F.; IBETO, C. N. An overview of water disinfection in developing countries and potentials of renewable energy. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 4, n. 1, p. 18–30, 2011.

OLIVIERI, A. C. Chemometrics in Argentina: the result of unplanned events. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 1, p. 5–8, 2014.

OLSSON, I. M. **Experimental designs at the crossroads of drug discovery**. 2006. p. 85. Dissertation (Master Chemistry) – Umea University, Suécia, 2006.

ONG, K. P.; FAN, X.; SUBEDI, A.; SULLIVAN, M. B.; SINGH, D. J. Transparent conducting properties of SrSnO₃ and ZnSnO₃. **APL Materials**, v. 3, n. 062505, p. 1–8, 2015.

PAERL, H. W.; HALL, N. S.; CALANDRINO, E. S. Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 10, p. 1739–1745, 2011.

PAERL, H. W.; HUISMAN, J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. **Environmental Microbiology Reports**, v. 1, n. 1, p. 27–37, 2009.

PANDEY, V. D. Review Article Cyanobacterial natural products as antimicrobial agents. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 4, n. 1, p. 310–317, 2015.

PANG, X.; CHEN, C.; JI, H.; CHE, Y.; MA, W.; ZHAO, J. Unraveling the photocatalytic mechanisms on TiO₂ surfaces using the oxygen-18 isotopic label technique. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16291–16311, 2014.

PAVAGADHI, S.; BALASUBRAMANIAN, R. Toxicological evaluation of microcystins in aquatic fish species: Current knowledge and future directions. **Aquatic Toxicology**, v. 142–143, n. 1, p. 1–16, 2013.

PEARSON, L. A.; MOFFITT, M. C.; GINN, H. P.; NEILAN, B. A. The molecular genetics and regulation of cyanobacterial peptide hepatotoxin biosynthesis. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 38, n. 10, p. 847–856, 2008.

PEARSON, L.; MIHALI, T.; MOFFITT, M.; KELLMANN, R.; NEILAN, B. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. **Marine Drugs**, v. 8, n. 5, p. 1650–1680, 2010.

PECHINI, M. P. **Method of Preparing Lead and Alkaline-earth Titanates and Niobates and Coating Method Using the Same to form Capacitors**. US Patent n° 3330697, 1967.

PEGRAM, R. A.; NICHOLS, T.; ETHERIDGE, S.; HUMPAGE, A.; LEBLANC, S.; LOVE, A.; NEILAN, B.; PFLUGMACHER, S.; RUNNEGAR, M.; THACKER, R. Cyanotoxins Workgroup Report. *In*: HUDNELL, H. K. (ed.). **Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs**. 1. ed. New York: Springer, 2008. p. 317–381.

PHAM, T. L.; UTSUMI, M. An overview of the accumulation of microcystins in aquatic ecosystems. **Journal of Environmental Management**, v. 213, p. 520–529, 2018.

PICHARDO, S.; CAMEÁN, A. M.; JOS, A. In vitro toxicological assessment of cylindrospermopsin: A review. **Toxins**, v. 9, n. 12, p. 1–29, 2017.

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

PIMENTEL, P. M.; MARTINELLI, A. E.; MARIA, D.; MELO, D. A.; MICHELLE, A.; PEDROSA, G.; CUNHA, J. D.; NECO, C. Pechini synthesis and microstructure of nickel-doped copper chromites. **Synthesis**, v. 8, n. 2, p. 221–224, 2005.

PINTO, W. J., MARIALVA, J. E., CARDOSO, S. M. G., AREAS, M. A. Topologia das principais proteínas da membrana e do citoesqueleto eritrocitário. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 21, n. 4, p. 509-520, 2014.

PRADO-GONJAL, J.; SCHMIDT, R.; MORÁN, E. Microwave-assisted routes for the synthesis of complex functional oxides. **Inorganics**, v. 3, n. 2, p. 101–117, 2015.

PUDDICK, J.; PRINSEP, M. R.; WOOD, S. A.; CARY, S. C.; HAMILTON, D. P.; HOLLAND, P. T. Further characterization of glycine-containing microcystins from the mcmurdo dry valleys of antarctica. **Toxins**, v. 7, n. 2, p. 493–515, 2015.

QIAO, R. P.; LI, N.; QI, X. H.; WANG, Q. S.; ZHUANG, Y. Y. Degradation of microcystin-RR by UV radiation in the presence of hydrogen peroxide. **Toxicon**, v. 45, n. 1, p. 745–752, 2005.

QIAN, S. S.; CHAFFIN, J. D.; DUFOUR, M. R.; SHERMAN, J. J.; GOLNICK, P. C.; COLLIER, C. D.; NUMMER, S. A.; MARGIDA, M. G. Quantifying and Reducing Uncertainty in Estimated Microcystin Concentrations from the ELISA Method. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 24, p. 14221–14229, 2015.

QUERO-PASTOR, M.; VALENZUELA, A.; QUIROGA, J. M.; ACEVEDO, A. Degradation of drugs in water with advanced oxidation processes and ozone. **Journal of Environmental Management**, v. 137, p. 197–203, 2014.

RAMNI, K.; NAVNEET, K.; ASHUTOSH, U.; P, S. O.; ARTI, T. High performance liquid chromatography detectors – A review. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 5, p. 1–7, 2011.

RAPALA, J.; LAHTI, K.; RÄSÄNEN, L. A.; ESALA, A. L.; NIEMELÄ, S. I.; SIVONEN, K. Endotoxins associated with cyanobacteria and their removal during drinking water treatment. **Water Research**, v. 36, n. 10, p. 2627–2635, 2002.

RASTOGI, R. P.; SINHA, R. P.; INCHAROENSAKDI, A. The cyanotoxin-microcystins: Current overview. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 13, n. 2, p. 215–249, 2014.

RIBEIRO, P. C.; COSTA, A. C. F. M.; KIMINAMI, R. H. G. A.; SASAKI, J. M.; LIRA, H. L. Synthesis of TiO₂ by the Pechini method and photocatalytic degradation of methyl red. **Materials Research**, v. 16, n. 2, p. 468-472, 2013.

RIBEIRO, A. R.; NUNES, O. C.; PEREIRA, M. F. R.; SILVA, A. M. T. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. **Environment International**, v. 75, n. 1, p. 33–51, 2015.

ROOSMALEN, J. A. M. V.; VLAANDEREN, P. V.; CORDFUNKE, E. H. P. On the structure of SrZrO₃. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 59-65, 1992.

ROUT, S.; KUMAR, A.; MISHRA, M. K.; RAVI, P. M. Application of chemometric methods for assessment of heavy metal pollution and source apportionment in riparian zone soil of Ulhas River estuary, India. v. 3, n. 5, p. 1485–1496, 2013.

RÜTTIMANN, B. G.; WEGENER, K. The Power of DOE: How to Increase Experimental Design Success and Avoid Pitfalls. **Journal of Service Science and Management**, v. 8, n. 2, p. 250–258, 2015.

SABINO, C. V. S.; LAGE, L. V.; NORONHA, C. V. DE. Variação sazonal e temporal da qualidade das águas em um ponto do Córrego Gameleiras usando técnicas quimiométricas robustas Seasonal. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 5, p. 969–983, 2017.

SADHU, I. S., WARE, K., GRISHAN, M. B. Peroxyl radical-mediated hemolysis: role of lipid, protein and sulphhydryl oxidation. **Free Radical Research Commun**, v. 16, n. 1, p. 111-122, 1992.

SAHU, N. K.; ANDHARE, A. Design of experiments applied to industrial process. *In*: SILVA, V. (Ed.). **Statistical Approaches With Emphasis on Design of Experiments Applied to Chemical Processes**. 1. ed. London: InTech, 2018. p. 5–20.

SAKAMOTO, S.; PUTALUN, W.; VIMOLMANGKANG, S.; PHOOLCHAROEN, W.; SHOYAMA, Y.; TANAKA, H.; MORIMOTO, S. Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. **Journal of Natural Medicines**, v. 72, n. 1, p. 32–42, 21 2017.

SALIBY, I. EL; MCDONAGH, A.; ERDEI, L.; SHON, H. K. Water reclamation by heterogeneous photocatalysis over titanium dioxide. *In*: NGO, H. H.; GUO, W.; SURAMPALLI, R. Y.; ZHANG, T. C. (ed.). **Green Technologies for Sustainable Water Management**. 1. ed. Reston: American Society of Civil Engineers, 2016. p. 679–704.

SÁNCHEZ, C.; DORIA, J.; PAUCAR, C.; HERNANDEZ, M.; MÓSCUERA, A.; RODRÍGUEZ, J. E.; GÓMEZ, A.; BACA, E. MORÁN, O. Nanocrystalline ZnO films prepared via polymeric precursor method (Pechini). **Physica B**, v. 405, n. 17, p. 3679-3684, 2010.

SANTOS, A. J. DOS; COSTA, E. C. T. DE A.; SILVA, D. R. DA; GARCIA-SEGURA, S.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. Electrochemical advanced oxidation processes as decentralized water treatment technologies to remediate domestic washing machine effluents. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 7, p. 7002–7011, 2018.

SARAIVA SOARES, A. F.; LEÃO, M. M. D.; VIANNA NETO, M. R.; COSTA, E. P. DA; OLIVEIRA, M. C. DE; AMARAL, N. B. Efficiency of conventional drinking water treatment process in the removal of endosulfan, ethylenethiourea, and 1,2,4-triazole. **Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA**, v. 62, n. 6, p. 367, 2013.

SATO Y., KAMO, S., TAKAHASHI, T., SUZUKI, Y. Mechanism of free radical-induced hemolysis of human erythrocytes: hemolysis by water-soluble radical initiator. **Biochemistry**, v. 34, n. 1., p. 8940-8949, 1995.

SCANDELAI, A. P. J.; SLOBODA RIGOBELLO, E.; OLIVEIRA, B. L. C. DE; TAVARES, C. R. G. Identification of organic compounds in landfill leachate treated by advanced oxidation processes. **Environmental Technology**, v. 3330, n. November, p. 1–12, 2017.

SCHMIDT, H. K.; GEITER, E.; MENNIG, H.; KRUG, H.; BECKER, C.; WINKLER, R. P. The Sol-gel process for nano-technologies: new nanocomposites with interesting optical and mechanical properties. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 397-404, 1998.

SCHMIDT, J. R.; WILHELM, S. W.; BOYER, G. L. The fate of microcystins in the environment and challenges for monitoring. **Toxins**, v. 6, n. 12, p. 3354–3387, 2014.

SELIM, K. A.; HAASE, F.; HARTMANN, M. D.; HAGEMANN, M.; FORCHHAMMER, K. PII-like signaling protein SbtB links cAMP sensing with cyanobacterial inorganic carbon response. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 21, p. E4861–E4869, 2018.

SHAHABUDDIN, S.; SARIH, N. M.; KAMBOH, M. A.; NODEH, H. R.; MOHAMAD, S. Synthesis of polyaniline-coated graphene oxide@SrTiO₃ nanocube nanocomposites for enhanced removal of carcinogenic dyes from aqueous solution. **Polymers**, v. 8, n. 305, p. 1–19, 2016.

SHAMSOLLAHI, H. R.; ALIMOHAMMADI, M.; NABIZADEH, R.; NAZMARA, S.; MAHVI, A. H. Measurement of microcystin -LR in water samples using improved HPLC method. **Global Journal of Health Science**, v. 7, n. 2, p. 66–70, 2015.

SHARMA, P., SHARMA, J. D. In vitro hemolysis of human erythrocytes - by plant extracts with antiplasmodial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 3, p. 239-243, 2001.

SHARMA, V. K.; TRIANTIS, T. M.; ANTONIOU, M. G.; HE, X.; PELAEZ, M.; HAN, C.; SONG, W.; O'SHEA, K. E.; CRUZ, A. A.; KALOUDIS, T.; HISKIA, A.; DIONYSIOU, D. D. Destruction of microcystins by conventional and advanced oxidation processes: A review. **Separation and Purification Technology**, v. 91, p. 3–17, 2012.

SHIN, S.; YOON, H.; JANG, J. Polymer-encapsulated iron oxide nanoparticles as highly efficient Fenton catalysts. **Catalysis Communications**, v. 10, n. 2, p. 178–182, 2008.

SHI, F.; LIANG, K.; QI, Z. M. Investigation of the crystal structure, lattice vibration and dielectric property of SrZrO₃ ceramic. **Journal Of Materials Research**, v. 31, n. 20, p. 3249-3254, 2016.

SHIVELY, J. M.; CANNON, G. C.; HEINHORST, S.; FUERST, J. A.; BRYANT, D. A.; GANTT, E.; MAUPIN-FURLOW, J. A.; SCHULER, D.; PFEIFER, F.; DOCAMPO, R.; DAHL, C.; PREISS, J.; STEINBUCHER, A.; FEDERICI, B. A. Intracellular structures of prokaryotes: inclusions, compartments and assemblages. *In*: SCHAECHTER, M. (Ed.). **Encyclopedia of Microbiology**. 3. ed. London: Elsevier, 2009. p. 404–424.

SIEVERS, M. Advanced oxidation processes. *In*: WILDERER, P. A. (Ed.). **Treatise on Water Science**. 1. ed. London: Elsevier, 2011. p. 377–408.

SILLANPÄÄ, M.; METSÄMUURONEN, S.; MATILAINEN, A.; MÄNTTÄRI, M. Integrated methods. *In*: SILLANPÄÄ, M. (Ed.). **Natural Organic Matter in Water**. 1. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2015. p. 275–301.

SILVA-STENICO, M. E.; NETO, R. C.; ALVES, I. R.; MORAES, L. A. B.; SHISHIDOA, T. K.; FIORE, M. F. Hepatotoxin microcystin-LR extraction optimization. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 3, p. 535–542, 2009.

SILVA, A. G. **Avaliação do pH de oxidação do processo fenton na remoção de microcistina-LR de água de abastecimento**. 2015. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

SILVA, M. N. C. E.; OLIVEIRA, R.; CEBALLOS, B. S. O.; GUERRA, A. B.; AQUINO, S. F. DE; LIBÂNIO, M. Hierarquização da eficiência de remoção de cianotoxinas por meio de adsorção em carvão ativado granular. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 4, p. 691–697, 2017.

SIMÕES, S. D. S. **Desenvolvimento de métodos validados para a determinação de captopril usando espectrometria NIRR e calibração multivariada**. 2008. 83 p. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

SINGH, I.; JUNEJA, P.; KAUR, B.; KUMAR, P. Pharmaceutical applications of chemometric techniques. **ISRN Analytical Chemistry**, v. 2013, n. 1, p. 1–13, 2013.

SINGH, R. K.; TIWARI, S. P.; RAI, A. K.; MOHAPATRA, T. M. Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. **The Journal of Antibiotics**, v. 64, n. 6, p. 401–412, 2011.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. *In*: CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Ed.). **Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. 1. ed. London and New York: WHO, 1999. p. 41–54.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo, 2006.

SOLEDADE, L. E. B. **Fotoluminescência de SrTiO₃ Dopado com Al , Y , Cr , V e Nb**. 2003. 124 p. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

SONG, W.; XU, T.; COOPER, W.J.; DIONYSIOU, D.D.; DE LA CRUZ, A.A.; O'SHEA, K.E. Radiolysis studies on the destruction of microcystin-LR in aqueous solution by hydroxyl radicals. **Environ Sci Technol**, v. 43, n. 1, p.1487-1492, 2009.

SONG, J.; WANG, X.; MA, J.; WANG, X.; WANG, J.; XIA, S.; ZHAO, J. Removal of microcystis aeruginosa and microcystin-LR using a graphitic-C₃N₄/TiO₂ floating photocatalyst under visible light irradiation. **Chemical Engineering Journal**, v. 348, p. 380–388, 2018.

SORLINI, S.; GIALDINI, F.; COLLIVIGNARELLI, C. Removal of cyanobacterial cells and Microcystin-LR from drinking water using a hollow fiber microfiltration pilot plant. **Desalination**, v. 309, p. 106–112, 2013.

SOUZA, J. K. D.; HONÓRIO, L. M. C.; FERREIRA, J. M.; TORRES, S. M.; SANTOS, I. M. G.; MAIA, A. S. Layered niobate KNb₃O₈ synthesized by the polymeric precursor method. **Cerâmica**, v. 54, n. 369, p. 104-108, 2018.

SPEIGHT, J. G. Introduction into the environment. *In*: **Environmental Inorganic Chemistry for Engineers**. 1. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2017. p. 263–303.

SU, Y. L.; DENG, Y. R.; ZHAO, L.; DU, Y. X. Photocatalytic degradation of microcystin-LR using TiO₂ nanotubes under irradiation with UV and natural sunlight. **Chinese Science Bulletin**, v. 58, n. 10, p. 1156–1161, 2013.

SUDHAPARIMALA, S.; PRASHANNASUVAITHA, S. Effect of europium (III) oxide doping on the nanoscale ceramic stannates(MSnO₃) of Ca, Ba upon photo luminescence, catalytic degradation and anti-microbial activity – Green approach. **Material Science research India**, v. 15, n. 2, p. 185-196, 2018.

SUDRAJAT, H.; BABEL, S. Ultrahigh photoactivity of ZnO nanoparticles for decomposition of high - concentration microcystin-LR in water environment. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 15, n. 96, p. 112, 2018.

SUI, X.; WANG, X.; HUANG, H.; PENG.; WANG, S.; FAN, Z. A novel photocatalytic material for removing microcystin-LR under visible light irradiation: Degradation characteristics and mechanisms. **Plos One**, v. 9, n. 4, p. 1-11, 2014.

SUK, A.; LEONG, W.; ANTON, A.; RODRIGUES, K. F.; JOY, G.; LIE, W. Gene expression in the biosynthesis of paralytic shellfish poisoning (PSP) Toxins in dinoflagellates: A mini review. **Transactions on Science and Technology**, v. 3, n. 2, p. 374–381, 2016.

SUN, Y.; LIU, J.; LI, Z. Design of highly ordered Ag-SrTiO₃ nanotube arrays for photocatalytic degradation of methyl orange. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 184, n. 8, p. 1924–1930, 2011.

SUNDE, T. O. L.; GRANDE, T.; EINARSRUD, M. A. Modified Pechini synthesis of oxide powders and thin films. *In: Handbook of Sol-Gel Science and Technology*. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 1–30.

SUSLOV, A.; KOBLYANSKA, S.; DURILIN, D.; OVCHAR, O.; TRACHEVSKII, V.; JANCAR, B.; BELOUS, A. Modified pechini processing of barium and lanthanum-lithium titanate nanoparticles and thin films. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, n. 350, p. 1–5, 2017.

STIEBEROVA, B.; ZILKA, M.; TICHA, M.; FREIBERG, F.; CARAMAZANA-GONZÁLEZ, P.; MCKECHNIE, J.; LESTER, E. Application of ZnO nanoparticles in a self-cleaning coating on a metal panel: an assessment of environmental benefits. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 1, p. 2493-2500, 2017.

TARRIDA, M.; LARGUEM, H.; MADON, M. Structural investigations of (Ca, Sr) ZrO₃ and Ca (Sn, Zr)O₃ perovskite compounds. **Phys Chem Minerals**, v. 36, p. 403–413, 2009.

TEIXEIRA, M. D. G. L. C.; COSTA, M. D. C. N.; CARVALHO, V. L. P. DE; PEREIRA, M. D. S.; HAGE, E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. **Bulletin of PAHO**, v. 27, n. 3, p. 244–253, 1993.

TERAN, F. Aplicação de fotocatalise heterogênea e homogênea para a remoção de cor em efluentes provenientes de indústria de processamento de couro. **Revista Monografias Ambientais**, v. 13, n. 3, p. 3316–3325, 2014.

TERRAZAS, J. O.; CONTRERAS, H. R.; GARCÍA, C. Prevalence, variability and bioconcentration of saxitoxin-group in different marine species present in the food chain. **Toxins**, v. 9, n. 6, 2017.

TESTAI, E.; BURATTI, F. M.; FUNARI, E.; MANGANELLI, M.; VICHI, S.; ARNICH, N.; BIRÉ, R.; FESSARD, V.; SIALEHAAMOA, A. Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. **EFSA Supporting Publications**, v. 13, n. 2, 2016.

TSYDENOVA, O.; BATOEV, V.; BATOEVA, A. Solar-enhanced advanced oxidation processes for water treatment: simultaneous removal of pathogens and chemical pollutants. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 1, p. 9542–9561, 2015.

UDAWATTE, C. P.; KAKIHANA, M.; YOSHIMURA, M. Low temperature synthesis of pure SrSnO and the $(\text{Ba}_x \text{Sr}_{1-x})\text{SnO}_3$ solid solution by the polymerized complex method. **Solid State Ionics**, v. 128, p. 217–226, 2000.

UTERMÖHL, H. **Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik**. 9. ed. Stuttgart, Germany: Schweizerbart Science Publishers, 1958.

VASCONCELOS, J. F.; BARBOSA, J. E. L.; DINIZ, C. R.; CEBALLOS, B. S. O. Cianobactérias em reservatórios do estado da Paraíba: ocorrência, toxicidade e fatores reguladores. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 1, n. 2, p. 1–20, 2011.

VÉKEY, K. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 921, n. 2, p. 227–236, 2001.

VIEIRA, P. C. 1. Classificação pela forma física do sistema cromatográfico. **Química Nova**, v. 7, n. 7, p. 21–25, 1998.

VILELA, W. F. D.; MINILLO, A.; ROCHA, O.; VIEIRA, E. M.; AZEVEDO, E. B. Degradation of [D-Leu]-microcystin-LR by solar heterogeneous photocatalysis (TiO_2). **Solar Energy**, v. 86, n. 9, p. 2746–2752, 2012.

VILIČIĆ, D. Phytoplankton population density and volume as indicators of eutrophication in the eastern part of the Adriatic Sea. **Hydrobiologia**, v. 174, n. 2, p. 117–132, 1989.

VILLACORTE, L. O.; TABATABAI, S. A. A.; DHAKAL, N.; AMY, G.; SCHIPPERS, J. C.; KENNEDY, M. D. Algal blooms: an emerging threat to seawater reverse osmosis desalination. **Desalination and Water Treatment**, v. 55, n. 10, p. 2601–2611, 2015.

WALLS, J. T.; WYATT, K. H.; DOLL, J. C.; RUBENSTEIN, E. M.; ROBER, A. R. Hot and toxic: Temperature regulates microcystin release from cyanobacteria. **Science of the Total Environment**, v. 610–611, p. 786–795, 2018.

WANG, M.; ZHANG, J.; HE, S.; YAN, X. A review study on macrolides isolated from cyanobacteria. **Marine Drugs**, v. 15, n. 5, 2017.

WANG, X.; WANG, X.; ZHAO, J.; SONG, J.; WANG, J.; MA, R.; MA, J. Solar light-driven photocatalytic destruction of cyanobacteria by F-Ce-TiO₂ / expanded perlite floating composites. **Chemical Engineering Journal**, v. 320, p. 253–263, 2017.

WANG, X. I. N.; YANG, Y.; SHIMIZU, K. Degradation of microcystins by highly efficient under simulated sunlight irradiation. **Japanese Journal of Water Treatment Biology**, v. 49, n. 3, p. 85–92, 2013.

WESTON, L.; BJAALIE, L.; KRISHNASWAMY, K.; WALLE, C. G. VAN DE. Origins of n-type doping difficulties in perovskite stannates. **Physical Review B**, v. 97, n. 5, p. 1–9, 2018.

WHITTON, B. A.; POTTS, M. Ecology of cyanobacteria II. **Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time**. 1. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012. 760 p.

WIEGAND, C.; PFLUGMACHER, S. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 203, n. 3 SPEC. ISS., p. 201–218, 2005.

WIESE, M.; D'AGOSTINO, P. M.; MIHALI, T. K.; MOFFITT, M. C.; NEILAN, B. A. Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs. **Marine Drugs**, v. 8, n. 7, p. 2185–2211, 2010.

WOLD, S.; SJÖSTRÖM, M. Chemometrics, present and future success. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 44, n. 1–2, p. 3–14, 1998.

WOOD, D. L.; TAUC, J. Weak absorption tails in amorphous semiconductors semiconductors. **Physical Review B**, v. 5, n. 8, p. 3144–3151, 1972.

WOODHOUSE, J. N.; RAPADAS, M.; NEILAN, B. A. Cyanotoxins. *In*: SHARMA, N. K.; RAI, A. K.; STAL, L. J. (Ed.). **Cyanobacteria: An Economic Perspective**. 1. ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2014. p. 257–268.

WU, C.; FANG, Y.; TIRUSEW, A. H.; XIANG, M.; HUANG, Y.; CHEN, C. Photochemical oxidation mechanism of microcystin-RR by p-n heterojunction Ag/Ag₂O-BiVO₄. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 38, n. 2, p. 192–198, 2017.

YAN, H.; WANG, X.; YAO, M.; YAO, X. Band structure design of semiconductors for enhanced photocatalytic activity: The case of TiO₂. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 23, n. 4, p. 402–407, 2013.

YETILMEZSOY, K.; DEMIREL, S.; VANDERBEI, R. J. Response surface modeling of Pb(II) removal from aqueous solution by *Pistacia vera* L.: Box-Behnken. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, n. 1-3, p. 551–562, 2009.

YUSOF, T. N.; RAFATULLAH, M.; MOHAMAD, R.; ISMAIL, N.; ZAINUDDIN, Z.; LALUNG, J. Cyanobacteria characteristics and methods for isolation and accurate identification of cyanotoxins: a review article. **Environmental Health Engineering**, v. 4, n. 1, p. 1–11, 2017.

ZAGATTO, P.A.; ARAGÃO, M.A. Implantação de métodos para avaliação de algas tóxicas. São Paulo. **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB)**, p. 23, 1992.

ZANETTI, S. M. **Filmes Finos de SrTiO₃ Obtidos Através de Precursores Poliméricos**. 1997. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1997.

ZANCHETT, G.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Cyanobacteria and cyanotoxins: From impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. **Toxins**, v. 5, n. 10, p. 1896–1917, 2013.

ZASTEPA, A.; PICK, F. R.; BLAIS, J. M. Fate and persistence of particulate and dissolved microcystin-LA from microcystis blooms. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 20, n. 6, p. 1670–1686, 2014.

ZHANG, D.; XIE, P.; LIU, Y.; CHEN, J.; WEN, Z. Spatial and temporal variations of microcystins in hepatopancreas of a freshwater snail from Lake Taihu. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 2, p. 466–472, 2009.

ZHANG, T.; KIYONAMI, R.; WANG, L.; JIANG, G. Identification and quantitation of microcystins by targeted full-scan LC-MS/MS. **Thermo Scientific**, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2016.

ZHANG, W. F.; TANG, J.; YE, J. Photoluminescence and photocatalytic properties of SrSnO₃ perovskite. **Chemical Physics Letters**, v. 418, p. 174–178, 2006.

ZHAO, C.; LI, D.; LIU, Y.; FENG, C.; ZHANG, Z.; SUGIURA, N.; YANG, Y. Photocatalytic removal of microcystin-LR by advanced WO₃-based nanoparticles under simulated solar light. **The Scientific World Journal**, v. 2015, n. October, p. 1–9, 2015.

ZHAO, Q.; MA, L.; ZHANG, Q.; WANG, C.; XU, X. SnO₂-Based Nanomaterials: Synthesis and Application in Lithium-Ion Batteries and Supercapacitors. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, n. 1, p. 1–15, 2015.

ZHONG, Y.; JIN, X.; QIAO, R.; QI, X.; ZHUANG, Y. Destruction of microcystin-RR by Fenton oxidation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, n. 1–3, p. 1114–1118, 2009.

ZHOU, S.; SHAO, Y.; GAO, N.; DENG, Y.; QIAO, J.; OU, H.; DENG, J. Effects of different algaecides on the photosynthetic capacity, cell integrity and microcystin-LR release of *microcystis aeruginosa*. **Science of the Total Environment**, v. 463–464, p. 111–119, 2013.

ZHOU, Y.; GUAN, X.; ZHOU, H.; RAMADOSS, K.; ADAM, S.; LIU, H.; LEE, S.; SHI, J.; TSUCHIYA, M.; FONG, D. D.; RAMANATHAN, S. Strongly correlated perovskite fuel cells. **Nature**, v. 534, n. 7606, p. 231–234, 2016.

ZHU, S.; YIN, D.; GAO, N.; ZHOU, S.; WANG, Z. Adsorption of two microcystins onto activated carbon : equilibrium, kinetic , and influential factors. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 50, p. 23666-23674, 2016.

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.

APÊNDICE A – ESPECTROS DE MASSAS

Figura 42 – Espectro de massas após a fotodegradação obtido no experimento 02.

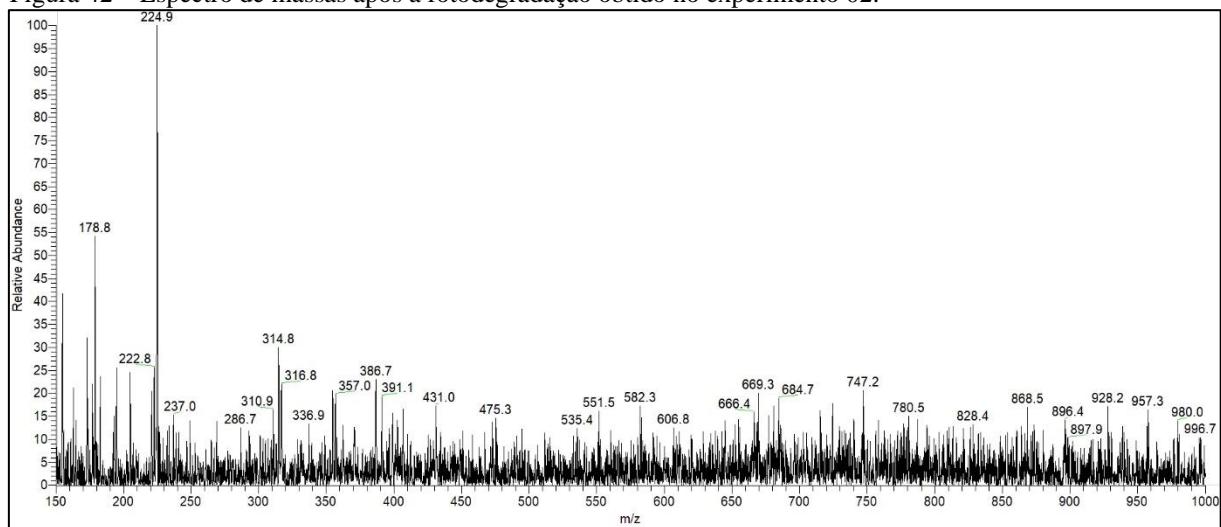


Figura 43 – Espectro de massas após a fotodegradação obtido no experimento 09.

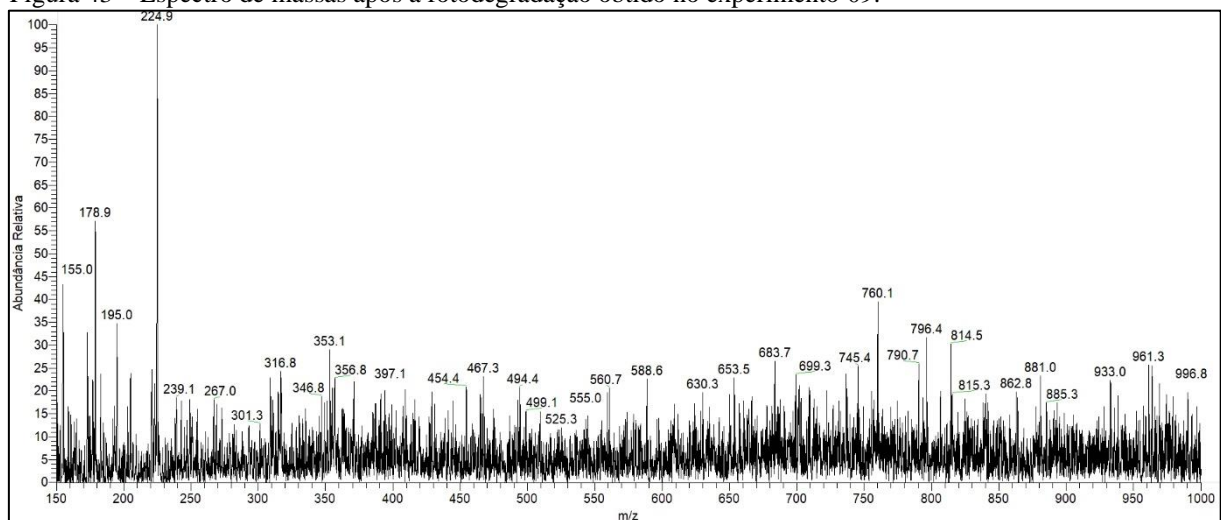


Figura 44 - Espectro de massas após a fotodegradação obtido no experimento 11.

