



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CERRO LARGO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E TECNOLOGIAS
SUSTENTÁVEIS**

GUSTAVO KUHN KREUTZ

**REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DO EFLUENTE PROVENIENTE DO PRÉ-
TRATAMENTO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL: UMA PROPOSTA HIBRIDA DE
DESCONTAMINAÇÃO VIA FOTO-ELETRO-FENTON/FERED/O₃**

**CERRO LARGO
2023**

GUSTAVO KUHN KREUTZ

REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DO EFLUENTE PROVENIENTE DO PRÉ-TRATAMENTO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL: UMA PROPOSTA HIBRIDA DE DESCONTAMINAÇÃO VIA FOTO-ELETRO-FENTON/FERED/O₃

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Processos e Tecnologias

Orientador: Prof. Dra. Suzymeire Baroni
Coorientador: Prof. Dr. Fernando Henrique Borba

CERRO LARGO

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

, Gustavo Kuhn Kreutz
REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DO EFLUENTE PROVENIENTE
DO PRÉ-TRATAMENTO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL: UMA PROPOSTA
HIBRIDA DE DESCONTAMINAÇÃO VIA
FOTO-ELETRO-FENTON/FERED/03 / Gustavo Kuhn Kreutz . --
2023.
92 f.

Orientadora: Dra. Suzymeire Baroni
Co-orientador: Dr. Fernando Henrique Borba
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e
Tecnologias Sustentáveis, Cerro Largo,RS, 2023.

1. Tratamento Avançado de Águas Residuais. 2.
Oxidação eletroquímica. 3. Ensaios de genotoxicidade e
citotoxicidade. I. Baroni, Suzymeire, orient. II. ,
Fernando Henrique Borba, co-orient. III. Universidade
Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

GUSTAVO KUHN KREUTZ

REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DO EFLUENTE PROVENIENTE DO PRÉ-TRATAMENTO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL: UMA PROPOSTA HIBRIDA DE DESCONTAMINAÇÃO VIA FOTO-ELETRO-FENTON/FERED/O₃

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Área de concentração: Tratamento de efluentes

Linha de pesquisa: Monitoramento Ambiental

Orientadora: Prof. Dra. Suzymeire baroni

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Henrique Borba

Esta Dissertação foi defendida e aprovada pela banca em: 21 / 07 / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Salatiel Wohlmuth da Silva.

Prof. Dr. Salatiel Wohlmuth da Silva

Documento assinado digitalmente



RÓBERTA DANIELE KLEIN

Data: 29/08/2023 13:57:32-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Roberta Daniele Klein

Suzymeire Baroni

Prof. Dra. Suzymeire Baroni

Fernando Henrique Borba.

Prof. Dr. Fernando Henrique Borba

Dedico este trabalho à minha família,
em especial a minha noiva, que
sempre me incentivaram e apoiaram
na busca por meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela vida e condições dignas de saúde para realizar esta pesquisa.

Aos orientadores Dra. Suzymeire e Dr. Fernando.

A Universidade Federal da Fronteira Sul, direção, seus servidores, técnicos e docentes pela dedicação e auxílio prestados e pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE pela disponibilidade da central analítica.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da UFFS pela dedicação ao seu trabalho e pelo conhecimento compartilhado.

Agradeço a todos meus familiares que incentivaram e apoiaram na busca constante de aprendizado, principalmente a minha noiva Paloma pelo apoio diário nesta caminhada.

Aos amigos e colegas de pesquisa, Daiana Seibert, Jonas Jean Inticher, Camila Fernanda Zorzo, Raíssa Engroff Guimarães, Nicoli Justen e Maikow zago pela dedicação, ajuda, disponibilidade e auxílio neste trabalho.

RESUMO

Este trabalho propõe uma nova solução para o tratamento de efluentes provenientes do pré-tratamento enzimático da produção de biodiesel (WEPBP) por um sistema híbrido baseado no processo foto-Fered-Fenton com auxílio de ozônio (O_3) (PEF-Fered- O_3). A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi aplicada para determinar as condições adequadas para o processo PEF-Fered- O_3 : uma intensidade de corrente de 3 A, uma solução inicial com pH controlado em 6,40, uma concentração inicial de H_2O_2 de 12.000 mg L⁻¹ e uma concentração de O_3 de 50 mg L⁻¹. Três novos experimentos foram realizados em condições semelhantes e pequenas alterações, tempo de reação maior (120 min.), adição única ou periódica de H_2O_2 . Observou-se que a adição periódica de H_2O_2 proporcionou os melhores resultados de remoção, uma vez que a ocorrência de reações colaterais indesejáveis que causam o sequestro de radical hidroxila ('OH) provavelmente foi minimizada. Com a aplicação do sistema híbrido, obteve-se uma redução de demanda química de oxigênio (DQO) e carbono orgânico total (TOC) de 91% e 75%, respectivamente. A presença de metais como Fe, Cu e Ca, condutividade elétrica e voltagem em 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos foram estudados. A análise de difração de raios X (XRD) foi realizada com amostras de lodo bruto e tratadas de WEPBP para estudar os graus de cristalinidade, evidenciando que houve um rearranjo dos compostos presentes no WEPBP, possivelmente causado pela oxidação de matéria orgânica. Testes de genotoxicidade e citotoxicidade com células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* foram realizados, indicando melhora dos níveis de toxicidade, uma vez que os eventos de regulação gênica e morfologia celular melhoraram após o tratamento do WEPBP pelo sistema híbrido. Diante do cenário atual das indústrias de biodiesel, o novo sistema híbrido proposto, PEF-Fered- O_3 em condições adequadas, apresenta uma alternativa eficiente para o tratamento da matriz complexa, WEPBP, podendo diminuir os impactos negativos do descarte de WEPBP no meio ambiente, uma vez que a redução do potencial de causar anormalidades em células de organismos vivos foi evidenciada por testes de genotoxicidade e citotoxicidade.

Palavras-chave: Oxidação eletroquímica; Ensaios de genotoxicidade e citotoxicidade; Tratamento Avançado de Águas Residuais.

ABSTRACT

During biodiesel production, a complex wastewater is generated. This work proposes a newly solution for the treatment of wastewater from enzymatic pretreatment of biodiesel production (WEPBP) by a hybrid system based on the photo-Fered-Fenton process with O₃ assistance (PEF-Fered-O₃). Response surface methodology (RSM) was applied to determine the suitable conditions for the PEF-Fered-O₃ process: a current intensity of 3 A, an initial solution pH controlled at 6.40, an initial H₂O₂ concentration of 12,000 mg L⁻¹, and an O₃ concentration of 50 mg L⁻¹. Three new experiments were performed under similar conditions with slight changes, a higher reaction time (120 min.), single or periodic H₂O₂ addition – small additions at different reaction times. It was observed that periodic H₂O₂ addition provided the best removal results, since the occurrence of undesired side reactions that cause ·OH scavenging probably was minimized. With the application of the hybrid system, a COD and TOC decrease of 91% and 75%, respectively was achieved. The presence of metals such as Fe, Cu, and Ca, electric conductivity, and voltage at 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes were studied. The X-ray diffraction (XRD) analysis was performed with sludge samples of raw and treated WEPBP samples to study the crystallinity degrees, evidencing that there was a rearrangement of the compounds present in WEPBP, possibly caused by the oxidation of the high fraction of organic matter. Genotoxicity and cytotoxicity tests with meristematic cells from roots of Allium cepa were performed, indicating an improvement of the toxicity levels, since the events of gene regulation and cell morphology were improved after the WEPBP treatment by the hybrid system. Facing the current scenario at biodiesel industries, the proposed new hybrid system, PEF-Fered-O₃ at suitable conditions, presents an efficient alternative for the treatment of the complex matrix, WEPBP, may decreasing the negative impacts of the discharge of WEPBP in the environment, since the reduction of the potential to cause abnormalities in cells of living organisms was evidenced by genotoxicity and cytotoxicity tests.

Keywords: Electrochemical oxidation; Genotoxicity and cytotoxicity assays; Advanced Wastewater Treatment.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistemas típicos de Processos Oxidativos Avançados.	31
Tabela 2 - Valores do potencial padrão de redução (E°) de espécies oxidantes.	32
Table 3 - Real values of COD removal (%) by PEF-Fered-O ₃ .	69
Table 4 - The number of Allium cepa meristematic cells in the process of mitosis (out of 3,000 cells) and the mitotic index (MI). The cells were exposed to raw or treated WEPBP samples.	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema geral da reação de transesterificação.	20
Figura 2 - Fluxograma do processo de transesterificação da produção de biodiesel.	23
Figure 3 - 3D surface of WEPBP submitted to the PEF-Fered-O ₃ process.	72
Figure 4 - Evaluation of COD degradation, TOC mineralization, and H ₂ O ₂ decomposition during the PEF-Fered-O ₃ process. Experimental runs were performed under the following operational conditions: a current intensity of 3 A; a controlled solution pH of 6.4	74
Figure 5 - Characteristics of the (a) Ca concentration, (b) applied voltage, (c) total Fe concentration, (d) electric conductivity, and (e) Cu concentration during the PEF-Fered-O ₃ process.	78
Figure 6 - <i>Allium cepa</i> meristematic cells exposed for 24 hours to: (a) raw WEPBP (200x magnification); (b) WEPBP treated as shown in Fig. 4a (45 minutes; the dark arrows indicate cells in interphase and the light arrow indicates a malformed nucleus; 200x magnification); (c) WEPBP treated as shown in Fig. 4a (120 minutes; the circled area shows damaged cells, necrosis, and malformed nuclei; 400x magnification); (d) WEPBP treated as shown in Fig. 4b (the dark arrows indicate visible nuclei in interphase and the circled area indicate nuclei with degeneration; 200x magnification); (e) WEPBP treated as shown in Fig. 4b (the dark arrows show degenerating nuclei with little chromatin; 600x magnification); (f) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the light arrows show cells in interphase with intact nuclei and dark arrows show cells in the first stage of mitosis, prophase; 400x magnification); (g) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the light arrow shows metaphase with adherence of chromosomes and malformed nucleus, and the dark arrows show indication of premutation event or cell death; 400x magnification); (h) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the dark arrow shows metaphase with adherence of chromosomes; 600x magnification); (i) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the circled area shows metaphase with errors and the dark arrow shows anaphase with bridge; 400x magnification).	81

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\cdot\text{HO}_2$	Radical Peridroxil
$\cdot\text{OH}$	Radical hidroxila
AGL	Ácidos Graxos Livres
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
B _{XX}	Biodiesel BXX, onde XX é a porcentagem em volume do biodiesel à mistura.
CH_3NaO	Metóxido de sódio
ClO^-	Hipoclorito
CO_2	Dióxido de Carbono
COT	Carbono Orgânico Total
DBO ₅	Demanda Bioquímica de Oxigênio após cinco dias
DCCR	Delineamento composto central rotacional
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
F ₂	Flúor
Fe^x	Ferro, onde x representa seu estado íônico
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
KOH	hidróxido de potássio
MSR	Metodologia de superfície resposta
NaOH	Hidróxido de sódio
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
PEF	Processo Eletro-Fenton
PEOA	Processo Eletroquímico Oxidativo Avançado
pH	Potencial Hidrogeniônico
POA	Processo Oxidativo Avançado
SS	Sólidos Suspensos
TiO ₂	Dióxido de Titânio
WEPBP	Lisogoma

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS – ARTIGO (INGLÊS)

·OH	Hydroxyl radicals
AM	Abnormal mitoses
AOPs	Advanced oxidative processes
BPA	Bisphenol
CCRD	Central composite rotatable design
COD	Chemical oxygen demand
DIOP	Diisooctyl phthalate
EAOP	Electrochemical advanced oxidation processes
EC	Electrocoagulation
EDC	Endocrine disrupting chemical
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSO ₄ ⁻	Hydrogen sulfate
LD ₅₀	Lethal dose
MI	Mitotic index
MN	Micronucleus
NA	Nuclear abnormalities
NOELs	No Observed Adverse Effect Level
OH ^{·2}	Hydroperoxide
OM	Organic matter
PEF-Fered-O ₃	Photo-Fered-Fenton process with O ₃ assistance
RSM	Response Surface Methodology
TOC	Total organic carbon
WEPBP	Wastewater from enzymatic pretreatment of biodiesel production
XRD	X-ray diffraction

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS	16
1.1.1 Objetivo Geral	16
1.1.2 Objetivos específicos	16
1.1.3 Estrutura do trabalho	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 HISTÓRICO SOBRE A PRODUÇÃO DE BIODIESEL.....	17
2.2 PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL.....	19
2.3 GERAÇÃO DE EFLUENTES DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	25
2.4 TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO (CONVENCIONAIS) APLICADAS AOS EFLUENTES DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL.....	27
2.5 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS APLICADOS AOS EFLUENTES DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL.....	30
2.5.1 Reação Fenton e Foto-Fenton.....	33
2.5.2 Processos eletro-oxidativos avançados (PEOAs).....	35
2.6 PROCESSO FOTO-FERED-FENTON/O ₃	37
2.7 GENOTOXICIDADE E CITOTOXICIDADE	38
2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
3 REDUCTION OF THE ENVIRONMENTAL IMPACT OF WASTEWATER FROM THE PRETREATMENT OF BIODIESEL PRODUCTION: A HYBRID PROPOSAL FOR DECONTAMINATION VIA PHOTO-ELECTRO-FENTON/FERED/O₃	59
ABSTRACT	60
3.1 INTRODUCTION	61
3.2 MATERIAL AND METHODS	65
3.2.1 Samples, solvents, and reactants	65
3.2.2 Analytical determination	65
3.2.3 The Photo-Fered-Fenton-O ₃ process and the experimental procedure	66
3.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	67
3.3.1 WEPBP characterization	67
3.3.2 Response surface methodology (RSM)	67

3.3.3	The effects of periodic addition of H ₂ O ₂ on the PEF-Fered-O ₃ process.	71
3.3.4	Amorphous and crystalline phases of WEPBP sludge samples	77
3.3.5	Toxicity assays	78
3.4	CONCLUSION	82
	ACKNOWLEDGMENTS	83
	REFERENCES.....	84

1. INTRODUÇÃO

A busca pela substituição de recursos naturais limitados por recursos de origem renovável tem impulsionado diversas cadeias industriais brasileiras. Assim, combustíveis renováveis surgem como uma opção promissora para substituir combustíveis de recursos naturais limitados, tais como os derivados do petróleo, como afirmam (CHOZHENDHAN et al., 2020).

Para a obtenção do biodiesel é necessária a aplicação de diferentes processos que envolvem desde a extração e preparo da matéria-prima até a sua produção, sendo que cada processo é composto por etapas distintas que, normalmente, geram resíduos e efluentes. Por isso, é fundamental tratar esses efluentes na indústria, para que possam ser destinados de maneira adequada ao meio ambiente e economicamente aprazível para o empreendimento (GONÇALVES, 2015; SYAFIUDDIN et al., 2020).

A alta tendência de preços do petróleo e as preocupações com os impactos ambientais decorrentes do uso de combustíveis fósseis, que possuem alto potencial poluidor, evidenciam a necessidade de fontes alternativas de combustível, conforme apontado por KALU-UKA et al. (2021), por esses motivos, o esforço pela obtenção de biodiesel a partir do óleo de soja é justificado, principalmente devido à sua disponibilidade e características menos poluentes, conforme destacado por (SYAFIUDDIN et al., 2020).

Em busca da redução de custos, muitas empresas buscam destinar seus efluentes à aterros industriais ou destinar para empresas terceirizadas realizarem o tratamento destes efluentes, assim uma alternativa para essa problemática é a implementação do tratamento *in loco* que consequentemente, reflete na minimização dos impactos ao meio ambiente e na busca por estratégias proativas perante a indústria para adquirir um sistema de gestão ambiental efetivo (GONÇALVES, 2015).

Os efluentes derivados do processamento de óleos vegetais possuem características físico-químicas inapropriadas para lançamento direto em corpos d'água receptores. Para isso, após o tratamento, os parâmetros devem estar de acordo com a Legislação Brasileira do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 430 de 13 de maio de 2011, que define os padrões de lançamento de efluentes e/ou conforme a legislação vigente de cada Estado, como a resolução do

Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA) nº 355 de 13 de julho de 2017 que dispõe sobre os critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos no Estado do Rio Grande do Sul (SHARMA; SIMSEK, 2019; TORRES et al, 2018).

Entretanto, tratamentos convencionais normalmente aplicados em estações de tratamento de efluentes não são efetivos para remoção de todos os compostos poluentes, estes efluentes apresentam variabilidade nas suas características, necessitando implementar alternativas de tratamento avançadas muitas vezes (GONÇALVES, 2015).

A elevada complexidade e instabilidade do efluente proveniente do processo de obtenção do biodiesel, impossibilita as alternativas de tratamento biológico, como lodo ativados ou lagoas de estabilização a serem suficientes para degradar toda carga orgânica presente nestes efluentes, necessitando de pré ou pós tratamento (GONÇALVES, 2015; SHARMA; SIMSEK, 2019).

Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) são considerados métodos eficazes na remoção de poluentes refratários, de baixa biodegradabilidade e de alta estabilidade química que estão, geralmente, presentes em efluentes industriais. Esses processos visam degradar espécies orgânicas via mecanismo radicalar, altamente oxidantes e não seletivos, principalmente o radical ·OH (KORPE; RAO, 2021; KUMAR; SINGH; SHAH, 2021).

Segundo Rekhate e Srivasta (2020), essas espécies podem ser obtidas através de um oxidante primário, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou ozônio (O_3), os quais são menos reativos e podem ser gerados por diferentes processos, incluindo processos baseados na reação Fenton (Fe^{2+}/H_2O_2 , $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$, Eletro-Fenton), processo com irradiação ultravioleta (UV), (H_2O_2/UV , $O_3/H_2O_2/UV$, UV/TiO_2 , $H_2O_2/TiO_2/UV$, $O_3/TiO_2/UV$), processos baseados em ozônio (O_3/UV , O_3/H_2O_2 , O_3/Fe , O_3 / catalisador de óxido de metal, O_3 /carvão ativado, O_3 /ultrassom), dentre outras possibilidades incluindo persulfato ativado, radiação ionizante ou tecnologia de feixe de elétrons.

Assim, comparado com outros POAs, os processos baseados em ozônio vêm destacando-se em diferentes estudos, sendo aplicados tanto no tratamento de águas residuárias como para o tratamento e desinfecção de água potável (MANASFI, 2021; REKHATE; SRIVASTAVA, 2020). O ozônio é um gás instável e possui um potencial reativo relativamente alto (2,07 eV), oxidante considerado ecologicamente correto

devido a sua produção limpa, sendo capaz de reagir com vários compostos orgânicos e transformá-los em compostos menores. Os seus mecanismos de degradação podem ocorrer por via de oxidação direta, através do O₃ molecular ou através de uma oxidação indireta com a formação de radicais livres, como o ·OH (KORPE; RAO, 2021; KUMAR; SINGH; SHAH, 2021). A busca pela combinação simultanea para a produção de radicais ·OH pode ser potencializada através da combinação de diferentes processos, neste caso, sendo denominado de processo FOTO-FERED-FENTON/O₃, por que utiliza o processo eletro-Fenton combinado com a ozonização na presença de irradiação. Essa combinação favorece a degradação da grande quantidade de matéria orgânica presente no efluente em estudo.

O efluente proveniente de uma indústria produtora de biodiesel do Estado do Rio Grande do Sul, a qual gerou cerca de 14 m³dia⁻¹ de efluente proveniente do pré-tratamento do óleo de soja, para produzir em média 425 m³dia⁻¹ de biodiesel durante o período de janeiro a setembro de 2020. Desse modo, devido ao alto volume de efluente gerado diariamente, destaca-se a relevância desse trabalho em investigar novas possibilidades de tratamento que visem a remoção dos poluentes presentes neste efluente.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver um sistema integrado de oxidação avançada do tipo Foto-Fered-Fenton com o auxilio de O₃ (PEF-Fered-O₃), para diminuir os impactos ambientais causados pelo efluente oriundo da degomagem enzimática do óleo de soja (WEPBP).

1.1.2 Objetivos específicos

- Investigar a influência de diferentes parâmetros significativos a eficiência do processo;
- Abordar uma região de melhor eficiência de degradação através de uma Metodologia de Superfície Resposta;
- Abordar a estratégia de fracionamento de H₂O₂;
- Analisar o comportamento de metais e semi-metais presentes no WEPBP;

- Avaliar as características citotóxicas e genotóxicas do WEPBP bruto e pós tratamento no sistema *Allium cepa*.

1.1.3 Estrutura do trabalho

A dissertação em questão está organizada em três capítulos. No primeiro capítulo, é feita uma introdução que aborda a problemática relacionada ao efluente WEPBP, bem como uma revisão das possíveis metodologias de tratamento aplicadas a essa matriz complexa. Também são identificados os objetivos deste estudo. O segundo capítulo consiste em uma revisão bibliográfica, na qual são abordados o histórico da produção de biodiesel, seu potencial como combustível, as fontes de matérias-primas e os principais processos de produção. Além disso, são descritos o processo de geração da água resíduária (WEPBP), as características dos efluentes provenientes da produção de biodiesel relatados na literatura e sua contaminação ambiental correspondente. Também são apresentadas algumas tecnologias de tratamento convencionais e avançadas aplicadas a efluentes industriais, com ênfase nos Processos Oxidativos Avançados (POAs), destacando as técnicas utilizadas neste estudo. Uma visão geral dos testes de genotoxicidade e citotoxicidade também é abordada juntamente com as referências utilizadas. Por fim, o terceiro capítulo consiste no artigo científico resultante deste estudo, aceito na revista *Journal of Environmental Management* em 30 de abril de 2023. Neste capítulo, são apresentados a metodologia utilizada e a discussão dos resultados obtidos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO SOBRE A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

O biodiesel à base de óleo vegetal tem sua exploração iniciada na década de 1890, paralelo a invenção dos motores a diesel para uso em máquinas agrícolas (ORCHARD et al., 2007). Com o custo acessível do óleo diesel fóssil, o biodiesel destacou-se com as crises do petróleo na década de 1970, que reacenderam o interesse pelos vegetais, com algumas restrições, devido ao uso de óleos vegetais convencionais em motores a diesel modernos, não ser bem aceito. Desta forma, cria-

se a necessidade de desenvolver pesquisas para aprimorar métodos que produzem óleos vegetais de baixa graduação, tais como a transesterificação, a pirólise e misturas de solventes, patenteando-se assim o primeiro processo industrial para a produção de biodiesel em 1977 pelo cientista brasileiro Expedito Parente (LIM e TEONG, 2010).

A evolução da produção do biodiesel progrediu a partir de 1980, com a construção de diferentes plantas industriais com extração de diferentes fontes de matérias primas, dando continuidade ao segmento industrial atual. Neste contexto, atualmente, o biodiesel é incorporado no diesel fóssil com obrigatoriedade a partir de 2008, onde o percentual de mistura iniciou em 2% (B2) e aumentou gradativamente ao longo dos anos, chegando a 12% em 2023 (ANP, 2020). Uma queda brusca no percentual mínimo obrigatório incorporado na matriz de diesel fóssil foi registrada em 2020, onde ficou estabelecido o valor de 12% como obrigatoriedade de acordo com a Resolução da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) nº 831/2020 (BRASIL, 2018).

Impactos ambientais ocasionados pela utilização do diesel fóssil estão sendo levemente reduzidos com a utilização do biodiesel, sendo que a emissão de gases veiculares é reduzida mesmo com o biodiesel apresentando propriedades físicas e químicas semelhantes ao diesel fóssil (JAMBULINGAM; SHALMA; SHANKAR, 2019).

O Brasil é um dos maiores produtores de biodiesel oriundo de óleos vegetais do mundo, fato relacionado à alta quantidade de grãos produzidos em seu território e a obrigatoriedade de incorporação do óleo biodiesel ao diesel fóssil, a produção apresenta grande tendência de continuar em um alto índice de crescimento (OGUNKUNLE; AHMED; 2019; TORRES et al, 2018). Essa tendência impacta diretamente na quantidade de efluentes e resíduos que são gerados durante a fabricação do mesmo, assim, exige-se que haja maior cuidado com à forma de destinação destes efluentes ao meio ambiente, uma vez que, estes podem apresentar impactos significativos onde serão lançados, necessitando de um tratamento adequado e eficiente para sua destinação final (GONÇALVES, 2015).

O óleo vegetal é a principal fonte de matéria prima utilizada para a produção de biodiesel, dependendo de cada país, condição climática e solo a origem destes óleos vegetais (SIDDIQUEE E ROHANI, 2011). Existem quatro categorias de matérias-primas do biodiesel: óleos comestíveis, óleos não comestíveis, fontes

reutilizáveis ou resíduos de óleos e combustíveis fotobiológicos solares e eletro combustíveis (baixa exploração) (SUEHARA et al., 2005, ABOMOHRA et al., 2020; MOHIDDIN et al., 2021).

No Brasil, a soja se destaca no fornecimento de óleo vegetal para a produção de biodiesel, destacando-se também outras fontes de sementes oleaginosas como o óleo de palma, óleo de amendoim, óleo de nabo forrageiro, óleo de girassol, óleo de mamona, óleo de sésamo, óleo de canola, óleo de milho, óleo de fritura usado e ainda existindo outras possibilidades de produção como a gordura animal, que não se destacam, porém surge como possibilidade de utilização (RAMOS et al., 2021, ANP, 2020b).

2.2 PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL

As principais técnicas para obtenção do biodiesel atualmente envolvem o uso direto e a mistura de óleos brutos, micro emulsões, pirólise e transesterificação, sendo que a mais comumente utilizada é a transesterificação, considerada a reação mais favorável a produção do biocombustível, pois pode favorecer a redução da viscosidade do óleo produzido (ABBASZAADEH et al., 2012).

A Figura 1 representa o processo de transesterificação, onde os triglicerídeos (componente principal do óleo vegetal) reagem com álcoois, na presença de catalisador, para produzir ésteres alquílicos de ácidos graxos e glicerol como subproduto (JAMBULINGAM et al., 2019; MANSIR et al., 2018; RANGANATHAN et al., 2008). Assim a quebra da estrutura dos triglicerídeos combinado com a substituição dos grupos alquil com os grupos hidróxido do álcool, obtém-se um novo éster, o biodiesel proveniente de um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol) (ALMEIDA, 2016; COLOMBO et al., 2019; PITT et al., 2019).

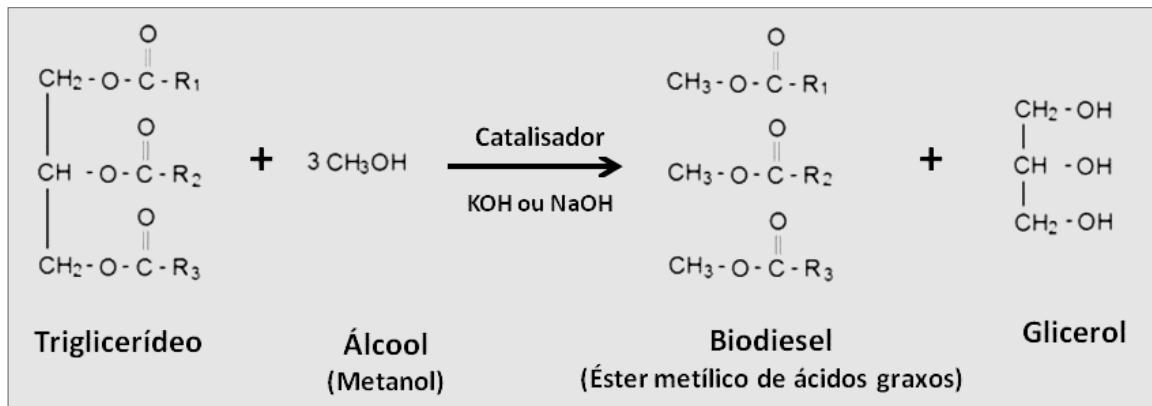


Figura 1 - Esquema geral da reação de transesterificação.

Fonte: (Adaptado de ALVARENGA e SOARES, 2010).

Na Figura 1 podemos observar a reação comumente empregada nos processos industriais, onde os radicais da reação global dessa figura representados por R₁, R₂ e R₃ constituem grupos alquil saturados ou insaturados numa sequência não definida, diferenciando-se entre si (GUO *et al.*, 2015; ALMEIDA, 2016). Cerca de 10% de glicerol é produzido na reação de transesterificação como subproduto da reação, podendo ser convertido em produtos de valor agregado, aliás, o mesmo é um produto químico conhecido comercialmente como glicerina, que é incolor, inodoro e viscoso PITT *et al.*, (2019), caracterizado por uma fase mais densa quando comparada a fase que constitui o biodiesel (RANGANATHAN *et al.*, 2008; COELHO *et. al.*, 2020). A principal finalidade comercial do glicerol é ser empregado nas indústrias farmacêuticas, de alimentos, cosmética e para a formação de outros produtos químicos (BOONYUEN *et al.*, 2018; MANAF *et al.*, 2019).

De acordo com Adewale *et al.* (2015) a utilização de catalisadores é essencial para aumentar o rendimento final da reação de transesterificação, sendo que a escolha do catalisador a ser utilizado deve ser baseada na quantidade de ácidos graxos livres que estão presentes nas diferentes fontes de matérias primas (DANTAS *et al.*, 2020). O catalisador empregado na reação de transesterificação pode ser básico, ácido ou enzimático (DAUD, N. M. *et al.*, 2015; BHANGU *et al.*, 2017). A catálise pode ser homogênea ou heterogênea (ROCHA *et al.*, 2014; ADEWALE *et al.*, 2015). A catálise homogênea é quando o catalisador e o reagente formam uma mistura homogênea, enquanto que sistemas catalíticos heterogêneos se encontram em fases distintas (ALMEIDA, 2016).

No momento atual, os catalisadores básicos homogêneos (NaOH e KOH) são amplamente empregados na síntese de ésteres alquílicos, conforme evidenciado na Figura 1, ocorrendo devido à sua notável eficiência catalítica, produzida em rendimentos forçados mesmo em tempos de reação curtos (CASTRO et al., 2018; COLOMBO et al., 2019; RIAL et al., 2020).

Além disso, de acordo com o estudo de Lage *et al.* (2019), a transesterificação alcalina possui a vantagem de operar em temperaturas mais baixas ao longo de todo o processo. No entanto, estes catalisadores podem causar problemas operacionais na produção de biodiesel, ocorrendo porque eles têm a capacidade de resistir com os elementos gordurosos presentes na matéria-prima, gerados na formação indesejada de grandes sopas de sabão como subproduto. Isso leva ao esgotamento do catalisador e dificulta a separação dos ésteres metílicos e glicerol (BOONYUEN et al., 2018; MANSIR et al., 2018; RIAL et al., 2020; VIEIRA et al., 2018).

Além desses problemas, a recuperação desses catalisadores também apresenta dificuldades, incluindo tratamentos adicionais de recuperação no processo de produção, o que pode aumentar os custos produtivos (ATABANI et al., 2014; RIBEIRO et al., 2020). Estudos realizados por Rocha et al. (2014) destacam que esses catalisadores são altamente poluentes para a água e o solo se não forem descartados adequadamente. Eles também possuem como característica, como alto poder corrosivo (ALMEIDA, 2016) e geração de grandes quantidades de água residual devido à lavagem do biodiesel e glicerol (DANTAS et al., 2020; DU et al., 2018; RIAL et al., 2020; YAHYA et al., 2016).

Os catalisadores homogêneos apresentam um desempenho favorável quando utilizados com óleos que possuem altos teores de ácidos graxos livres (AGL) em comparação aos catalisadores alcalinos. Isso ocorre porque os catalisadores são capazes de realizar simultaneamente as reações de esterificação e transesterificação. No entanto, esses catalisadores também possuem uma série de inconvenientes, como taxas de reação mais baixas, corrosividade, tempo de reação prolongada e alto consumo de metanol (DEEBA et al., 2020). De acordo com Atabani et al. (2014), o tempo de reação para essa catálise é bastante longo, variando de 3 a 48 horas, sendo o ácido sulfúrico o catalisador mais comumente utilizado devido ao seu baixo custo. Em geral, o uso desses catalisadores tem sido aplicado na produção de biodiesel a partir de matérias-primas de qualidade inferior (THUSHARI e BABEL, 2018).

A transesterificação enzimática para o esquema de biodiesel tem recebido atenção considerável devido à sua natureza ecologicamente correta e alta eficiência na obtenção de produtos altamente purificados em temperatura ambiente, gerados em menor consumo de energia e geração de resíduos aquosos (BHANGU et al., 2017; DHAWANE et al., 2018; RIAL et al., 2020). Na produção enzimática, as lipases extracelulares e intracelulares podem ser utilizadas, sendo que, em ambos os casos, uma enzima é imobilizada em um suporte apropriado, o que elimina a necessidade de operações subsequentes, como separação e reciclagem (RANGANATHAN et al., 2008).

De acordo com Dib (2010), o teor de AGL presente na matéria-prima não interfere nesse tipo de processo de transesterificação. No entanto, apesar da atividade catalítica considerável das lipases, sua aplicabilidade em escala comercial é limitada devido ao custo e à estabilidade dessas enzimas (DHAWANE et al., 2018). Além disso, Xiang et al. (2019) mencionam a baixa capacidade de reutilização enzimática e a necessidade de um controle rigoroso das condições reacionais.

O efluente WEPBP, fornecido por uma empresa situada no noroeste do Rio Grande do Sul (Brasil). Esta empresa emprega o processo de transesterificação alcalina, fazendo uso do metanol e o metilato de sódio como catalisador, para conversão do biodiesel a partir do óleo de soja, como ilustrado no fluxograma de produção de Biodiesel e geração de seus respectivos subprodutos e resíduos, de acordo com a Figura 2.

Segundo Atabani et al. (2014), o metóxido de sódio (CH_3NaO), ou metilato de sódio, é amplamente utilizado devido à ausência do grupo hidroxila, que é responsável pela formação de água na reação e catalisa a hidrólise dos ésteres de óleos.

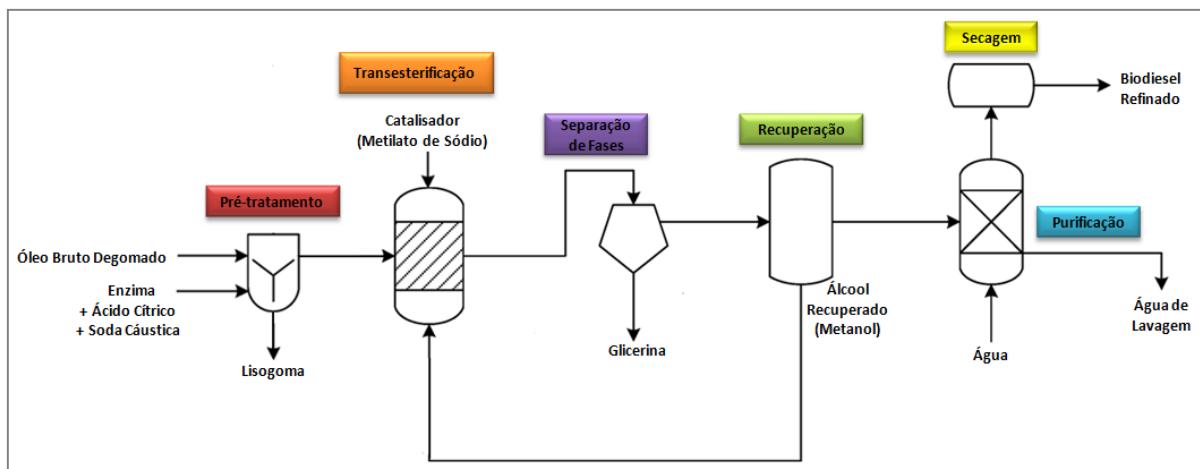


Figura 2 - Fluxograma do processo de transesterificação da produção de biodiesel.

Fonte: (HAHN, 2022)

A produção de biodiesel tem início a partir do óleo bruto degomado, que é obtido de uma planta fabril pertencente à mesma empresa de herança de óleo de soja, antes de ser direcionado a produção com o processo de transesterificação, o óleo bruto degomado passa por uma avaliação que inclui diversos parâmetros, sendo o índice de acidez, saponificação, umidade e fósforo os mais relevantes. Essa avaliação tem como objetivo determinar se será necessário realizar um pré-tratamento da matéria-prima.

Um pré-tratamento necessário e usualmente utilizado no óleo para remover impurezas, AGL e água, com a finalidade de evitar a formação de sabão e consequentemente potencializar a reação de transesterificação por catálise básica (DIB, 2010; SANTIN, 2013; KARA et al., 2018). O uso de enzimas neste processo apresenta alguns efeitos negativos como o alto custo do processo, porém uma grande vantagem considerada é que as enzimas são menos afetadas pela quantidade de água presente na matéria-prima, assim, a utilização de enzimas tem caráter satisfatório mesmo que as formas mais relatadas na literatura como indicação de pré-tratamento de óleo sejam o tratamento com ácido, conduzindo a esterificação de ácidos graxos livres (SILVA, 2011; ATABANI et al., 2014; VIEIRA et al., 2018).

Adicionalmente, em diversas situações, é imprescindível empregar uma etapa preliminar de tratamento com o intuito de eliminar resíduos de fósforo que possam ter permanecido após o processo de remoção de impurezas no estabelecimento de extração de óleo, de forma que o fósforo residual, é um interferente para catalisadores

e, portanto, afeta os conversores catalíticos, tornando-se um dos principais indicadores de qualidade do óleo vegetal (VIEIRA et al., 2018).

Devido à recente concepção da fábrica de biodiesel, ela adota um procedimento de pré-tratamento que envolve a utilização de enzimas (fosfolipases) (ver Figura 2), pois essa abordagem é considerada uma das mais eficazes atualmente. O óleo bruto degomado também é neutralizado por meio da adição de soda cáustica ou ácido cítrico, etapa do processo que visa eliminar componentes prejudiciais à reação de transesterificação, que de acordo com Rezende et al. (2016), ocorre a formação de uma sedimentação que é removida por centrifugação, resultando em um resíduo líquido conhecido como lisogoma (WEPBP), sendo o foco de estudo deste trabalho. Em seguida, o processo de transesterificação é realizado, resultando na formação de ésteres metílicos (biodiesel) e glicerol a partir da reação entre a matéria-prima do óleo/gordura e o álcool na presença de um catalisador.

Na fase posterior, o processo avança para a separação das fases entre os dois produtos gerados, conforme descrito por Kolhe et al. (2017). Devido à baixa solubilidade do glicerol nos ésteres metílicos, essa separação geralmente ocorre de forma rápida e pode ser conduzida por meio de um tanque de decantação ou uma centrífuga. Ambos os produtos seguem caminhos distintos para os processos de refinamento. Conforme mencionado por Coelho (2020), a fase que compõe o biodiesel consiste principalmente em ésteres, juntamente com o excesso de álcool e catalisador. A partir dessa mistura, inicia-se o processo de recuperação do álcool, que é reciclado e reintroduzido no processo de transesterificação. Enquanto isso, o éster metílico produzido é direcionado para a purificação, conforme também mencionado por Daud et al. (2015), sendo essa etapa conhecida como lavagem.

A lavagem tem como intuito remover os resíduos de glicerol livre, sabão, álcool e catalisador atendendo as especificações de qualidade padrão para biodiesel comercial (CHOZHENDHAN et al., 2020; SOKAČ et al., 2020). Tradicionalmente, a etapa de lavagem úmida, é utilizada água a uma temperatura entre 50 e 60 °C, (ver Figura 2), no entanto, quando realizada a neutralização durante a etapa de pré-tratamento, é possível reduzir a quantidade de água necessária para o processo e minimizar a formação de emulsões, da forma que a água de lavagem que é adicionada ao biodiesel durante a purificação, pode ser recirculada até atingir a saturação ou então pode ser adicionada à massa do sabão (BRISIO., 2009).

Posteriormente, ocorre o processo de secagem, apresentado ainda na Figura 2, a partir do qual é obtido o biodiesel refinado/purificado, sendo que está etapa, de acordo com Atadashi et al. (2011), é essencial para atender aos rigorosos limites de especificação do biodiesel em relação ao teor de água no produto purificado, garantindo assim a sua utilização imediata em motores a diesel ou um armazenamento seguro. A monitoração da produção e armazenamento do biodiesel é de extrema importância para assegurar um biocombustível de alta qualidade, livre de contaminantes ou resíduos provenientes das etapas de produção. Isso se deve ao fato de que a presença de resíduos sólidos no biodiesel pode acarretar problemas nos bicos injetores, filtros de combustível, dificuldades de ignição e redução da eficiência do motor, conforme destacado por (CAVALHEIRO et al., 2020).

2.3 GERAÇÃO DE EFLUENTES DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Como mencionado anteriormente, o processo de produção de biodiesel ocasiona a geração de alguns efluentes que necessitam o devido tratamento, sendo enfatizado o efluente WEPBP oriundo da etapa de pré-tratamento da matéria-prima, e a água residuária da lavagem do biodiesel no procedimento de purificação. O foco deste trabalho estará direcionado ao tratamento do WEPBP, em função deste efluente representar para a empresa uma grande preocupação quanto à sua melhor destinação.

A mesma empresa reutiliza a água residuária da lavagem do biodiesel no processo em um ciclo fechado, após passar por um processo de neutralização como tratamento, sendo uma opção econômica e eficiente em seu ciclo industrial. Já o WEPBP, está sendo destinado para uma empresa terceirizada que realiza o devido tratamento para lançamento no meio ambiente, acarretando em custos adicionais à indústria, que está em busca de uma alternativa economicamente viável e eficiente para implantação *in loco* (Comunicação pessoal).

De acordo com informações fornecidas pela empresa, são gerados por dia em torno de 14 mil litros de WEPBP, numa planta com produção máxima de biodiesel de 600 m³/dia. Segundo a ANP, em 2020, a produção de Biodiesel nesta planta fabril foi de aproximadamente 114,9 m³, cuja produção superou a quantidade produzida no ano anterior.

Existe uma grande variabilidade quando questionadas as características físicas e químicas das águas residuárias do processo de produção de biodiesel, estas são dependentes de acordo com a reação escolhida para a conversão, com o tipo de álcool, o catalisador utilizado e com a gestão do processo industrial instalado (PEREIRA, 2017). As principais características do WEPBP são destacadas em Borba et al. (2022), onde pode-se frisar a evidência pré-definida de altos níveis de DQO, DBO₅, Sólidos suspensos (SS), óleo e gordura.

Efluentes de lavagem de biodiesel caracterizados com coloração branca opaca, alto pH, alto nível de óleo, além das baixas concentrações de nitrogênio e fósforo são relatadas por (JARUWAT et al., 2010). Essas características encontradas nestes efluentes dificultam o crescimento microbiológico o que as tornam desfavorável a uma degradação natural ou até forçada biologicamente (SRIRANGSAN et al., 2009). De acordo com a pesquisa realizada, foram praticamente nulos os dados encontrados sobre o WEPBP bem como dados sobre tratamento deste efluente.

Preocupações globais contemporâneas voltadas ao aumento da poluição da água causada por compostos orgânicos resultantes das diversas atividades humanas nas esferas industriais, agrícolas e urbanas, esses compostos, pertencentes a várias classes, podem ser prejudiciais aos ecossistemas, sendo possível quantificar sua presença por meio do monitoramento de parâmetros físicos, químicos e biológicos. O monitoramento e a investigação são ações que buscam analisar os efeitos combinados desses compostos, tornando-se atividades essenciais para avaliar os impactos ambientais (HOLANDA et al., 2012; MOREIRA et al., 2017).

A produção convencional de biodiesel resulta na geração de águas residuais altamente poluentes (MOZAFFARIKHAH et al., 2017). Essas águas residuais podem conter substâncias que representam um perigo para o meio ambiente e não devem ser descartadas em sistemas de esgoto, rios ou lagos sem o devido tratamento adequado e eficiente. Veljković et al. (2014) destaca a importância crucial, tanto ambiental quanto econômica, do tratamento das águas residuais do biodiesel, devido aos altos níveis e volume de poluição presentes e futuros que esta atividade pode acarretar.

Considera-se o efluente das águas residuais do biodiesel altamente tóxico, conforme observado por Gonçalves et al. (2017), tornando-se uma preocupação emergente. A exposição humana a esses resíduos perigosos pode resultar em

irritações e problemas de saúde, além de ter efeitos devastadores no meio ambiente quando o descarte e o manuseio são inadequados (PRABAKAR et al., 2018). Destaca-se entre os contaminantes presentes nesses efluentes, o óleo, por possuir uma baixa capacidade de biodegradação no ecossistema natural além de prejudicar diferentes funções biológicas do ambiente por períodos de tempos prolongados (AN et al., 2017).

Devido aos pontos destacados acima, as águas residuais oriundas do processo de produção de biodiesel não devem ser descartadas sem serem submetidas à um tratamento adequado, e além disso, de acordo com Costa *et al.* (2018) o efluente do biodiesel exige tratamento para melhorar suas propriedades organolépticas e reduzir os níveis de carga orgânica e toxicidade para possível descarte no meio ambiente. Este tratamento deve atender às legislações ambientais, de acordo com a Resolução Brasileira nº 430/2011 (CONAMA).

Fornecimento de água de qualidade é essencial para o desenvolvimento de setores econômicos que dependem desse recurso. Diante desse problema, é crucial adotar uma gestão mais eficiente dos recursos hídricos, incluindo a aplicação de tratamentos eficientes para águas residuais, a fim de recuperá-las para uso futuro (GARRIDO-CARDENAS et al., 2019).

2.4 TECNOLOGIAS CONVENCIONAIS DE TRATAMENTO APLICADAS AOS EFLUENTES DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Alternativas convencionais de tratamento de águas residuais, possuem como principal objetivo remover sólidos em suspensão, produtos orgânicos biodegradáveis, microrganismos e nutrientes, sendo que essas não foram projetados para remover os poluentes químicos e emergentes presentes nestas fontes (BARTOLOMEU *et al.* 2018).

As tecnologias mais utilizadas para o tratamento das águas residuais de biodiesel incluem a coagulação, eletrocoagulação, adsorção e processos biológicos (DAUD *et al.*, 2015). Processos biológicos são amplamente empregados no tratamento de águas residuais devido à sua simplicidade, custo acessível, fácil operação e sua capacidade de serem compatíveis com o meio ambiente. Entretanto, as águas residuais precisam atender a certas características físico-químicas e

biológicas a fim de facilitar/possibilitar esse tipo de processo de tratamento (SANTOS *et al.*, 2018).

Mozaffariikhah *et al.* (2017) menciona que o tratamento biológico das águas residuais oriundas da lavagem do biodiesel é desafiador pela presença de altos níveis de óleo e graxa, encontrados na forma de uma emulsão estável, assim, sua remoção é considerada um dos principais obstáculos nos processos de tratamento. Devido a biodegradabilidade do óleo no ecossistema natural ser baixa, além de que os componentes oleosos podem vir a prejudicar as funções biológicas do ambiente por longos períodos, é essencial remover o óleo das águas residuais antes de seu lançamento no meio ambiente (AN *et al.*, 2017). A alcalinidade e baixos teores de nitrogênio e fósforo são fatores essenciais e discutidos para o sucesso do tratamento biológico (DAUD, Z. *et al.*, 2015). Segundo Pitakpoolsil e Hunsom (2014), essa abordagem pode gerar grandes quantidades de lodo de baixa densidade e uma decomposição lenta e pouco eficiente, que por muitas vezes, torna-se necessária, a aplicação de um pré-tratamento físico-químico antes do tratamento biológico para alcançar uma eficiência adequada e uma operação eficaz, sendo que o “resíduo” gerado nesta etapa pode vir muitas vezes, a ser utilizado em outros setores, sendo um deles a fertilização na agricultura (VELJKOVIĆ *et al.*, 2014).

Foram desenvolvidos diversos métodos de tratamento para lidar com as águas residuais resultantes da produção de biodiesel por transesterificação catalisada por álcalis, incluindo processos físico-químicos, eletroquímicos, tecnologias de oxidação avançada e abordagens de tratamento integrado (VELJKOVIĆ *et al.*, 2014).

Os processos químicos e físicos são considerados alternativas viáveis para o tratamento das águas residuais em instalações de produção de biodiesel (PITAKPOOLSIL e HUNSOM, 2014). Entre esses tratamentos, destaca-se a coagulação/flocação (processos que são baseados na desestabilização das partículas orgânicas presentes) e a adsorção, que se concentram principalmente na separação de partículas coloidais presentes nas águas residuais, podendo ser usados tanto como processo de pré-tratamento, quanto de pós-tratamento (AHMED *et al.*, 2015). Sharghi *et al.* (2016) mencionam que o alto custo dos produtos químicos e a gestão do lodo residual são as desvantagens principais dos tratamentos físico-químicos, de tal forma que, em alguns casos, inviabilizam a aplicação destes processos.

A coagulação-flocação tem sido amplamente utilizada como um eficiente pré-tratamento para as águas residuais provenientes da produção de biodiesel (DAUD, Z. et al., 2015). Em um estudo realizado por Z. Daud et al. (2015), a coagulação-flocação foi empregada no tratamento das águas residuais do biodiesel, utilizando sulfato de alumínio, cloreto de polialumínio, cloreto férrico e sulfato férrico como coagulantes em doses variadas. Os resultados mostraram que o cloreto de polialumínio, na dose de 300 mgL^{-1} , foi superior aos demais, apresentando uma remoção percentual de SS, cor, DQO (demanda química de oxigênio) e óleo e graxa de 97%, 95%, 75% e 97%, respectivamente. No entanto, os mesmos autores concluíram que um tratamento adicional seria necessário para obter uma maior porcentagem de remoção de DQO.

Cada tipo de tratamento possui uma especialidade que se baseia na sua adaptação às condições ambientais e econômicas. Segundo Rajasulochana e Preethy (2016), a maioria das águas residuais requer a aplicação de múltiplos métodos de tratamento para obter altas eficiências de remoção. Gisi et al. (2013) realizou uma análise de uma estação de tratamento de águas residuais provenientes da produção de biodiesel, que consistia nas etapas de adsorção primária, coagulação, flocação, sedimentação, tratamento biológico usando uma combinação de filtros de gotejamento e lodo ativado, além de processos secundárias de flocação e sedimentação. Os resultados obtidos nos testes contínuos produziram uma taxa de remoção de DQO superior a 90% para ambos os tipos de águas residuais utilizadas.

Observa-se que diferentes estudos buscam aprimorar uma técnica de tratamento mais eficiente para mitigar os impactos ambientais das águas residuais do biodiesel. Além disso, cada procedimento de tratamento ou pré-tratamento das águas residuais do biodiesel apresenta suas próprias vantagens e eficiência (DAUD, NM et al., 2015). Através deste contexto, a indústria escolhe o processo de tratamento adequado com base na composição das águas residuais e nos objetivos desejados (VELJKOVIĆ et al., 2014). Busca-se progredir o desenvolvimento de abordagens de tratamento mais avançadas e economicamente viáveis, alcançando resultados fortes em termos de operação e recuperação de recursos hídricos (AN et al., 2017). Portanto, a combinação de diferentes tecnologias oferece a oportunidade de aproveitar as vantagens econômicas e ambientais de cada processo (SANTOS, 2018).

2.5 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS APLICADOS AOS EFLUENTES DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Processos oxidativos avançados (POAs) são reconhecidos atualmente como abordagens físico-químicas altamente eficientes (VELJKOVIĆ *et al.*, 2014, BORBA *et al* 2022; HINTICHER *et al* 2021), considerando os aspectos técnicos, econômicos e ambientais (ARAÚJO *et al.*, 2016). Oturan e Aaron (2014), destacam que esses processos são promissores e ecologicamente correto, com o objetivo principal de remover poluentes orgânicos persistentes de águas e efluentes industriais, ademais, eles são caracterizados como processos limpos e não seletivos, capazes de oxidar compostos tanto em fase aquosa quanto em fase gasosa ou adsorvidos em uma matriz sólida (DALARI, 2018). De acordo com Souza (2010), nesses processos, a formação de lodo é relativamente baixa, sendo que a transferência de fase dos poluentes é praticamente inexistente.

Existe um crescente desejo de avançar no desenvolvimento de abordagens de tratamento mais sofisticadas e economicamente viáveis, visando alcançar resultados eficientes na operação e recuperação dos recursos hídricos. Nos últimos anos, os POAs vem sendo cada vez mais estudados e valorizados pela comunidade científica no tratamento de águas e efluentes, e vem se potencializando devido à sua capacidade de remover compostos que apresentam alta resistência aos métodos convencionais de tratamento (BRILLAS; SIRÉS; OTURAN, 2009; SEIBERT *et al.*, 2017; BORBA *et al.*, 2022). Os POAs têm a capacidade de oxidar ou remover diversos poluentes, como íons metálicos, cianetos, compostos organoclorados, hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos entre outros compostos orgânicos, sendo que esses métodos apresentam várias vantagens, como alta eficiência energética, facilidade de manuseio e segurança (SIRÉS *et al.*, 2014).

Os POAs são métodos que se baseiam na geração de radicais livres, sendo o radical ·OH o principal objetivo da maioria destes processos (BARTOLOMEU *et al.*, 2018; FIOREZE *et al.*, 2014; SHARMA *et al.*, 2018). A geração de radicais ·OH, pode ser alcançada através de diferentes mecanismos e combinações de oxidantes primários, esses processos são classificados primeiramente em sistemas homogêneos e heterogêneos, sendo que nos sistemas homogêneos não há a presença de catalisadores sólidos, além disso, a degradação dos poluentes pode ocorrer por fotólise direta com luz ultravioleta (UV), hidrólise da água e geração de

radicais $\cdot\text{OH}$. Já nos sistemas heterogêneos, há a presença de catalisadores semicondutores, que aceleram as reações para atingir equilíbrio químico sem sofrer alteração química (BRILLAS; SIRÉS; OTURAN, 2009). Os diferentes processos podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 - Sistemas típicos de Processos Oxidativos Avançados.

Processos	Homogêneos	Heterogêneos
Com Irradiação	O ₃ /UV	TiO ₂ /O ₃ /UV
	H ₂ O ₂ /UV	TiO ₂ / H ₂ O ₂ /UV
	O ₃ /H ₂ O ₂ /UV	TiO ₂ /UV
	Foto-Fenton	-
Sem Irradiação	O ₃ / H ₂ O ₂	Eletro-Feton
	H ₂ O ₂ / Fe ⁺² (Fenton)	Eletroquímico
	Cavitação	-

Fonte: Adaptado de Nascimento *et al.* (2017).

O fato do radical $\cdot\text{OH}$ possuir um potencial padrão de redução (E°) superior aos das outras espécies oxidantes, com exceção do Flúor, correspondendo a 2,8 V em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio, destaca-o como principal oxidante a ser obtido (DALARI, 2018; NIDHEESH *et al.*, 2018). Essa informação pode ser verificada na Tabela 1.

Tabela 2 - Valores do potencial padrão de redução (E°) de espécies oxidantes.

Espécie	E° (eV)
Flúor (F ₂)	+3,03
Radical Hidroxila ($\cdot\text{OH}$)	+2,80
Ozônio (O ₃)	+2,07
Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂)	+1,77
Hipoclorito (ClO ⁻)	+1,43

Radical Peridroxil ($\cdot\text{HO}_2$)	+1,42
Cloro (Cl_2)	+1,36
Oxigênio (O_2)	+1,23

Fonte: Adaptado de Peres e Lucas (2011).

Os radicais $\cdot\text{OH}$, interagem de maneira não seletiva com os poluentes, promovendo a mineralização até a formação de CO_2 , água e íons inorgânicos (BRILLAS *et al.*, 2009). Os radicais $\cdot\text{OH}$ podem atacar as moléculas de três formas distintas: (i) através da abstração de um átomo de hidrogênio para a formação de água, (ii) por meio de hidroxilação ou adição eletrofílica a uma ligação não saturada, e (iii) por transferência de elétrons ou reações redox (BRILLAS; SIRÉS; OTURAN, 2009; BRITO e SILVA, 2012; MACHULEK *et al.*, 2013; PIPI, 2014; PELLENZ, 2017). De acordo com Nascimento *et al.* (2017), esses radicais reagem de 106 a 1012 vezes mais rápido em comparação a oxidantes alternativos, como o O_3 . Os mecanismos de formação de radicais dependem de parâmetros específicos do processo e podem ser influenciados pelo design do sistema e pelas características da água residual (MIKLOS *et al.*, 2018).

Normalmente, a geração do radical $\cdot\text{OH}$ ocorre por meio de reações resultantes da combinação de oxidantes, como ozônio (O_3) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), com a aplicação de radiação ultravioleta (UV) ou visível (Vis), juntamente com a presença de catalisadores, como íons metálicos ou semicondutores. Dessa forma, diversas combinações resultantes desses fatores podem ocorrer (NOGUEIRA *et al.*, 2007; ARAÚJO *et al.*, 2016; DALARI, 2018; JIMÉNEZ *et al.*, 2019).

Independente de diferentes processos de oxidação avançada utilizarem diversos sistemas reacionais, todos eles envolvem duas etapas: a formação *in situ* de espécies oxidantes reativas e a reação dos oxidantes com os contaminantes-alvo (MIKLOS *et al.*, 2018). A grande versatilidade dos POAs em relação aos diferentes métodos de geração de radicais $\cdot\text{OH}$ permite uma maior adequação aos requisitos específicos de cada tratamento (CHENG *et al.*, 2016). Entre as técnicas mais frequentemente mencionadas na literatura estão a ozonização, a fotocatálise heterogênea e o processo de foto-Fenton (VELJKOVIĆ *et al.*, 2014).

Os POAs heterogêneos utilizam catalisadores semicondutores sólidos, sendo o dióxido de titânio (TiO_2) o mais comumente empregado, devido às suas

propriedades decorrentes de sua estrutura cristalina, como a fotoestabilidade, a insolubilidade na maioria das condições, a viabilidade econômica e a facilidade de obtenção (ARAÚJO *et al.*, 2016; GARRIDO-CARDENAS *et al.*, 2019; BRITO e SILVA, 2012; PIPI, 2014; SANTOS *et al.*, 2019). Esse processo é potencializado na presença de radiação UV (MACHULEK *et al.*; NASCIMENTO *et al.*, 2017). Apesar de apresentar uma alta eficiência de degradação, poucos estudos relatam o uso da fotocatálise heterogênea em grande escala, devido a desvantagens relacionadas à necessidade de fontes artificiais de radiação e de agentes sequestrantes de elétrons, além da dificuldade de remoção do semicondutor devido ao pequeno tamanho das partículas (SOUSA, 2016; GARRIDO-CARDENAS *et al.*, 2019).

2.5.1 Reação Fenton e Foto-Fenton

A utilização da técnica de Fenton tem despertado interesse devido à disponibilidade abundante e não tóxica do ferro, bem como à facilidade de manuseio do peróxido de hidrogênio, que pode ser decomposto em subprodutos ambientalmente amigáveis. O método Fenton demonstra eficiência na eliminação de diferentes compostos orgânicos em meio aquoso, além de reduzir a demanda química de oxigênio (DQO) em efluentes urbanos (CHAN *et al.*, 2004). A reação Fenton, ocorre entre o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e íons ferrosos (Fe^{2+}), o Fe^{2+} é oxidado a Fe^{3+} e o H_2O_2 é reduzido, formando íons hidróxido e o radical $\cdot OH$ (ver Eq. 1) (SHARMA *et al.*, 2018).

Sua eficiência na mineralização de compostos orgânicos pode ser aprimorada quando combinada com irradiação de luz ultravioleta, resultando no chamado processo de foto-Fenton. Esse aprimoramento ocorre principalmente devido à redução fotoquímica do Fe, como indicado na equação 1. Além disso, a eficiência do processo de foto-Fenton pode ser ainda maior ao utilizar certos ácidos orgânicos na formação de complexos com o Fe^{3+} (MACHULEK *et al.*, 2013).



Dalari (2018) afirma que existem pelo menos três fatores preponderantes para que a reação ocorra de forma eficaz: o pH, concentração de H₂O₂ e concentração de Fe²⁺. A faixa de pH ideal para o processo Fenton situa-se em torno de 2,8-3,0 (PELLENZ, 2017; JAIN *et al.*, 2018), já que nesse intervalo há predominância de íons ferrosos (Fe²⁺), sendo necessário manter o pH abaixo de 4,0 para evitar a formação de precipitados de oxi-hidróxidos férricos (BRITO e SILVA, 2012; PIPI, 2014). Além disso, incovenientes da reação Fenton é a possível geração de compostos refratários, dificultando a completa mineralização, onde, no processo foto-Fenton, essas reações colaterais são minimizadas (MACHULEK *et al.*, 2013). Essas técnicas têm sido amplamente empregadas no tratamento de águas residuais provenientes da indústria têxtil, alcançando resultados satisfatórios em seus tratamentos (SREEJA e SOSAMONY, 2016).

Costa *et al.* (2018), determinaram que o método convencional foto-Fenton não é uma opção viável para o tratamento do efluente gerado na produção de biodiesel, isto está associado à formação de complexos de ferro não fotossensíveis, que são estáveis e solúveis, envolvendo determinados poluentes orgânicos persistentes presentes nessa matriz. Por essa razão, esses mesmos pesquisadores conduziram um estudo abordando o tratamento desse efluente utilizando ferrioxalato em um processo foto-Fenton baseado na irradiação solar. Os resultados mais promissores foram obtidos com a concentração de 1,0 mmol.L⁻¹ de ferrioxalato, o que permitiu uma redução de 72% na DQO e de 76% na DBO₅ do efluente tratado, após uma dose acumulada de radiação UVA de 602 kJ.m⁻². Paralelamente, a toxicidade aguda para *Vibrio fischeri* foi reduzida de 70% para 6%.

A abordagem tradicional do processo Fenton enfrenta limitações devido à necessidade de dosagem excessiva de H₂O₂ e Fe²⁺ externamente, além da geração significativa de lodo de hidróxido de ferro (NAKAGAWA *et al.*, 2016). Como resultado, foram desenvolvidas várias melhorias nas tecnologias Fenton, e os métodos eletroquímicos de Fenton (EF) surgem como alternativas atrativas devido à sua compatibilidade ambiental, facilidade de automação, alta eficiência energética, versatilidade e operação segura em condições ambiente (MARTÍNEZ-HUITLE E BRILLAS, 2009).

2.5.2 Processos eletro-oxidativos avançados (PEOAs)

Os PEOAs envolvem a aplicação de uma corrente elétrica na solução utilizando um conjunto de eletrodos, onde englobam a reação de oxidação no ânodo e a reação de redução no cátodo (PELLENZ, 2017; SANTOS *et al.*, 2018). A passagem da corrente elétrica desencadeia uma série de reações no meio, como a oxidação de compostos, a troca iônica entre eletrólitos inorgânicos e sais orgânicos, resultando na redução da concentração de matéria orgânica dissolvida na solução (NASCIMENTO *et al.*, 2017).

Esses métodos têm se destacado devido à sua compatibilidade, versatilidade, alta eficiência, capacidade de automação e segurança, além de operarem em condições de temperatura e pressão ambiente (SIRÉS *et al.*, 2014; SOLANO, 2015; ARAÚJO *et al.*, 2016). Eles são considerados métodos emergentes, ecologicamente amigáveis, que visam a descontaminação de águas residuais contendo diferentes contaminantes, dentre eles podemos destacar herbicidas tóxicos e persistentes, pesticidas, clorofenóis, nitrofenóis, bifenilos policlorados e produtos farmacêuticos lixiviados de aterros sanitários, entre outros (OTURAN e BRILLAS, 2007; COSTA *et al.*, 2016; MOREIRA *et al.*, 2017).

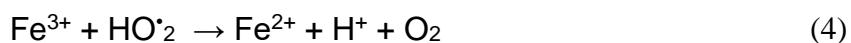
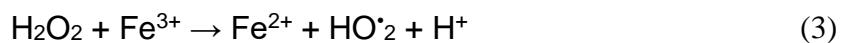
Por apresentarem alta versatilidade, os PEOAs podem ser aplicados em efluentes com uma DQO variável, variando de 0,1 a 100 g.L⁻¹. Altas taxas de redução de componentes orgânicos e do carbono orgânico total (TOC) são relatadas na literatura (SIRÉS *et al.*, 2014). De acordo com Chaplin (2014) e Sousa (2016) essas tecnologias eletroquímicas possuem diversas vantagens em relação a outras tecnologias no tratamento de águas residuais, incluindo a capacidade de tratar várias classes de contaminantes, produção *in situ* de oxidantes, modularidade de construção celular e a possibilidade de recuperação de energia, além de destacar as vantagens do uso de catalisadores como revestimento dos eletrodos de óxidos, proporcionando a separação dos catalisadores do meio reacional, além da formação de várias espécies reativas na superfície do eletrodo.

Os PEOAs apresentam fácil adaptação e expansão modular, requerem pouca manutenção e podem ser facilmente automatizados de acordo com (SIRÉS *et al.*, 2014; CHAPLIN, 2019). Além disso, podem ser combinados com métodos convencionais de tratamento de águas residuais para uma operação ótima e

econômica (SIRÉS et al., 2014; GARCIA-SEGURA *et al.*, 2017). Ademais, apresentam várias características ambientais relevantes, como reatores compactos ocupando menos espaço físico, baixa utilização de produtos químicos auxiliares adicionais e não produção de fluxos de resíduos secundários que requerem tratamento adicional (OTURAN e AARON, 2014; GARCIA-SEGURA *et al.*, 2017).

Um dos PEOAs mais comumente utilizado é o processo Eletro-Fenton (PEF) que é baseado na eletrogeração contínua de H_2O_2 em um cátodo alimentado com O_2 , juntamente com a adição de um catalisador de ferro, sendo capaz de produzir o radical $\cdot\text{OH}$ (BRILLAS, 2021a).

Dentre as principais vantagens proporcionadas por esta técnica, está a geração *in situ* de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o que resulta em uma taxa de degradação mais elevada dos contaminantes e a dissolução de íons ferrosos provenientes de eletrodos compostos de ferro. As Equações 3 a 5 exemplificam a regeneração de compostos ferrosos, contribuindo para uma maior eficiência do processo FEF devido à solubilidade do Fe^{2+} em meio aquoso (ATMACA, 2009). É relevante salientar que a presença do Fe^{2+} favorece a reação Fenton devido à rápida formação do radical $\cdot\text{OH}$ (BRILLAS *et al.*, 2009).



Uma das grandes dificuldades encontradas ao utilizar o processo FEF é o controle das reações químicas envolvidas, perfazendo a necessidade de determinar condições próximas a ao estado ótimo de operação para conseguir obter resultados significativos de eficiência nas diferentes águas residuárias que serão aplicadas (ATMACA *et al.*, 2009). No entanto, dentre as limitações, podemos frisar alto consumo de energia, impossibilitando longos tempos de retenção e custos mais elevados em comparação com os processos biológicos, além da possibilidade de formação de subprodutos mais tóxicos (ARAÚJO *et al.*, 2016). Sirés *et al.* (2014) também menciona a perda de atividade e redução da vida útil do eletrodo devido à incrustação causada pela deposição de materiais em sua superfície, fator que pode ser minimizado pela realização de inversão de polaridade em tempos pré-estabelecidos.

Um aspecto crucial para o avanço das tecnologias eletroquímicas é a necessidade de desenvolver eletrodos não tóxicos, de baixo custo e alta área superficial, que possuam uma vida operacional prolongada e possam operar sem a geração de subprodutos tóxicos indesejados (CHAPLIN, 2019).

2.6 PROCESSO FOTO-FERED-FENTON/O₃

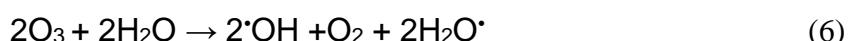
No PEF o H₂O₂ é gerado por eletro redução catódica, desta forma, a eficiência do sistema fica totalmente dependente da capacidade de eletrocatalise catódica e transferência de massa para a solução, nesse sentido, alguns estudos utilizam a adição complementar de H₂O₂ comercial de forma manual no processo PEF para tratamento de águas residuárias reais, sendo denominado como processo Fered-Fenton (SHIH *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2020; YE *et al.*, 2016).

O método Fered-Fenton foi estudado para degradar diferentes poluentes orgânicos, dentre eles podemos citar o 1,4-dioxano estudado por Nakagawa *et al.* (2016), águas de niquelagem eletrolítica estudado por Shih *et al.* (2013) e lixiviado de aterro sanitário por Ye *et al.* (2016), onde as eficiências de remoção de carga orgânica apresentaram valores satisfatórios para estas águas.

O O₃ tem sido amplamente utilizado para fins de desinfecção e oxidação de poluentes orgânicos, principalmente em tratamento de água, visando a purificação da água potável (SHARMA *et al.*, 2018; MIKLOS *et al.*, 2018). Como característica, apresenta alto potencial de redução ($E^\circ = 2,07$ eV), (ver Tabela 2), não é uma fonte intrínseca de poluição, pode ser produzido por meio de três técnicas distintas, que incluem a exposição de O₂ à luz ultravioleta, a eletrólise do ácido perclórico e a descarga eletroquímica, sendo a descarga eletroquímica a mais comumente utilizada pela maioria dos ozonizadores comerciais, devido à sua maior taxa de conversão de oxigênio em ozônio a um custo reduzido (ALMEIDA *et al.*, 2004). Pela alta instabilidade em meio aquoso, a conversão a espécies radicalares ocorre rapidamente, não formando produtos de decomposição tóxicos (SAGGIORO, 2014; PIPI, 2014).

A decomposição no meio aquoso apresenta diferentes comportamentos dependentes do pH do meio, sendo que a oxidação da matéria orgânica através de

O_3 pode ocorrer por via direta (adição eletrofílica) ou indireta (através de espécies radicalares; ver Eq. 6) (MACHULEK *et al.*, 2013).



Devido à produção baixa de radicais hidroxila por meio da ozonização, medidas adicionais para aumentar a geração de $\cdot OH$ tornam-se uma alternativa atrativa, resultando no desenvolvimento de POAs baseados em O_3 (SILLANPÄÄ *et al.*, 2018). Processos têm como base aumentar taxa de oxidação de contaminantes, reduzir o consumo de O_3 e converter os contaminantes em espécies menos tóxicas, potencializando assim a biodegradabilidade dos subprodutos, conforme destacado por Malakootian *et al.* (2020). Essa estratégia de ozonização pode ser realizada por meio de irradiação UV, adição de peróxido de hidrogênio e uso de catalisadores (SHARMA *et al.*, 2018; SILLANPÄÄ *et al.*, 2018; MIKLOS *et al.*, 2018; MALAKOOTIAN *et al.*, 2020). O acoplamento do O_3 com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é conhecido como processo de Peroxona, caso for realizado em um meio de um sistema e eletro-oxidação (E-peroxona), alternativas de um sistema de fácil manuseio onde apresenta excelente atividade oxidante e bactericida (OTURAN e AARON, 2014).

A combinação das tecnologias Fered-Fenton combinadas com a ozonização e a uma fonte de radiação é a proposta de tratamento denominada Foto-Fered-Fenton/ O_3 . Considerando necessária, a abordagem de desenvolver e experimentar abordagens de tratamento adequadas para cada tipo de efluente gerado por diferentes indústrias de processamento, visando obter técnicas mais viáveis e sustentáveis (MIKLOS *et al.*, 2018; BRITO *et al.*, 2020). Nesse contexto, tem sido avaliada a combinação de diferentes metodologias de tratamento de efluentes, uma vez que essa abordagem geralmente resulta em melhor desempenho do que a aplicação isolada de uma única técnica de tratamento.

2.7 GENOTOXICIDADE E CITOTOXICIDADE

Após a aplicação de um tratamento por oxidação avançada é importante avaliar o nível de toxicidade das amostras que foram submetidas a esse tratamento, em busca de avaliar o quão tóxico que está o produto final, pois, podem ser gerados

subprodutos que venham a caracterizar uma toxicidade igual ou superior a da resíduaria bruta. Os testes de toxicidade têm como objetivo avaliar o impacto de um produto ou uma mistura em um organismo teste sob condições experimentais específicas. Esses efeitos podem ser observados por meio de reações nos organismos, sendo elas a morte, crescimento, proliferação, multiplicação e alterações morfológicas, fisiológicas ou histológicas (MORALES, 2004). É importante ressaltar que esses efeitos estão relacionados às propriedades químicas e à concentração do composto em questão, bem como à sua interação com o ciclo de vida do organismo, duração e frequência da exposição (MORALES, 2004).

Os ensaios de ecotoxicidade são métodos definidos pela resolução CONAMA 430/2011 como uma forma de detectar e avaliar a capacidade de agentes tóxicos de causarem efeitos adversos, utilizando bioindicadores representativos dos principais grupos da cadeia ecológica (BRASIL, 2011).

Os testes de toxicidade podem ser classificados como agudos e/ou crônicos, sendo que os efeitos agudos são efeitos adversos letais ou subletais observados nos organismos em um curto período de exposição (normalmente alguns dias) e os crônicos, são os efeitos tóxicos observados a longo prazo que são relacionados a mudanças no metabolismo, capacidade de sobrevivência e crescimento (MORALES, 2004).

Para melhor representação ao realizar testes de toxicidade, é importante considerar diferentes organismos de teste que sejam sensíveis, representativos do ambiente, adequados ao ciclo de vida e tamanho do organismo, de baixo custo e facilmente obtidos (HANSON *et al.*, 2017; KLAUCK, 2018). Como nenhum organismo único é capaz de fornecer uma visão abrangente de todos os níveis de toxicidade dos contaminantes e representar todas as espécies, é recomendado realizar ensaios de toxicidade em diferentes níveis tróficos (KLAUCK, 2018).

Algumas substâncias têm capacidade de causar impactos nocivos aos organismos vivos causando genotoxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e efeitos carcinogênicos (TARAFDAR *et al.*, 2022).

Neste estudo, foram conduzidos testes de genotoxicidade e citotoxicidade utilizando *Allium cepa* para avaliar o nível de toxicidade de amostras de WEPBP brutas e tratadas pelo processo PEF-Fered-O3. Os testes de genotoxicidade visam avaliar os efeitos da exposição a contaminantes no material genético do organismo teste,

analisando mutações genéticas, danos cromossômicos ou lesões no DNA (VALENTE et al., 2017). Quando células animais e vegetais entram em contato com contaminantes, elas podem empregar diferentes estratégias para tentar reparar os danos, o que pode resultar em alterações na expressão genética, no ciclo celular, estresse oxidativo e erros mitóticos (HOU et al., 2018; MORTUSEWICZ et al., 2005). Nos testes de genotoxicidade, a avaliação dos danos causados pode ser realizada por meio da análise de anormalidades nucleares e micronúcleos (KLAUCK, 2018).

Os testes de genotoxicidade em raízes de cebola (*Allium cepa*) são amplamente utilizados como uma forma de avaliar o potencial de substâncias químicas em causar danos ao material genético de organismos vivos, assim esses testes são considerados eficazes, pois as raízes da cebola contêm células meristemáticas, que estão em constante divisão e são sensíveis a compostos genotóxicos (KASPER et al, 2018).

O teste de genotoxicidade em raízes de *Allium cepa* geralmente envolve a exposição das raízes a uma solução contendo a substância que está sendo avaliada. As raízes são então colocadas em condições adequadas de crescimento por um determinado período de tempo. Após o período de exposição, as raízes são coletadas e analisadas para avaliar os danos ao DNA.

Os testes de citotoxicidade permitem avaliar alterações celulares por meio de diferentes controles, utilizando corantes, que identificam as células vivas, danificadas ou mortas (ROGERO et al., 2003). Um indicador útil de citotoxicidade é a avaliação do índice mitótico, que quantifica a frequência de células celulares no teste de organismo (KLAUCK, 2018). A *Allium cepa* é frequentemente utilizada como um bioindicador em testes de citotoxicidade devido às suas características cromossômicas, alta sensibilidade, baixo custo, facilidade de acesso, tratamento e tolerância (FISKESJÖ, 1993). Além disso, esses testes podem ser realizados em um curto período de tempo e eles são bem autônomos com outros sistemas-teste, permitindo a realização de várias exposições ao mesmo composto para fins de monitoramento (FISKESJÖ, 1993; PARVAN et al., 2020).

2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD EL-FATAH ABOMOHRA; ELSAYED, M.; SIVAKUMAR ESAKKIMUTHU; EL-SHEEKH, M. M.; DIETER HANELT. Potential of fat, oil and grease (FOG) for biodiesel production: A critical review on the recent progress and future perspectives. v. 81, p. 100868–100868, 1 nov. 2020.
- ABBASZADEH, A.; BARAT GHOBADIAN; MOHAMMADREZA OMIDKHAH; NAJAFI, G. Current biodiesel production technologies: A comparative review. v. 63, p. 138–148, 1 nov. 2012.
- ADEWALE, P.; DUMONT, M.-J.; NGADI, M. Enzyme-catalyzed synthesis and kinetics of ultrasonic-assisted biodiesel production from waste tallow. v. 27, p. 1–9, 1 nov. 2015.
- ACHMAD SYAFIUDDIN; JIA WEN CHONG; ADHI YUNIARTO; HADIBARATA, T. The current scenario and challenges of biodiesel production in Asian countries: A review. v. 12, p. 100608–100608, 1 dez. 2020.
- AHMED, Y.; YAAKOB, Z.; AKHTAR, P.; SOPIAN, K. Production of biogas and performance evaluation of existing treatment processes in palm oil mill effluent (POME). **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 1260–1278, 2015.
- ADEWALE, P.; DUMONT, M.; NGADI, M. Recent trends of biodiesel production from animal fat wastes and associated production techniques. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 574-588, 2015.
- ARAÚJO, K. S.; ANTONELLI, R.; GAYDECZKA, B.; GRANATO, A. C.; MALPASS, G. R. P. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Rev. Ambient. Água**, vol. 11(2), p. 388-398, 2016.
- ATADASHI, I. M.; AROUA, M. K.; AZIZ, A. A. Biodiesel separation and purification: A review. **Renewable Energy**, v. 36, n. 2, p. 437–443, 2011.
- Resolução 831 2020 da ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis BR.
- BORBA, F.H.; HAHN, C. L.; MAYER, I.; SEIBERT, D.; RAÍSSA ENGROFF GUIMARÃES; INTICHER, J. J.; ZORZO, C. F.; KREUTZ, G. K. New hybrid strategy of the photo-Fered-Fenton process assisted by O₃ for the degradation of wastewater from the pretreatment of biodiesel production. v. 306, p. 135470–135470, 1 nov. 2022.
- BARTOLOMEU, M.; NEVES, M. G.; FAUSTINO, M. A.; ALMEIDA, A. Wastewater chemical contaminants: remediation by advanced oxidation processes. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 17, n. 11, p. 1573–1598, 2018.

BETÂNIA MARA ALVARENGA; MARCOS ANTÔNIO SOARES. Potencialidade de produção de biodiesel por óleos e gorduras residuais na cidade de Itabira-MG. v. 57, n. 6, p. 721–729, 1 dez. 2010.

BEZERRA, F. N. R. DEPENDÊNCIA EXTERNA E (IN)SUSTENTABILIDADE DA MATRIZ ENERGÉTICA BRASILEIRA ENTRE 1970 E 2014. n. 53, p. 38, 2019.

BHANGU, S. K.; GUPTA, S.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic enhancement of lipase-catalysed transesterification for biodiesel synthesis. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 305–309, 1 jan. 2017.

BOONYUEN, S.; SMITH, S. M.; MALAITHONG, M. ; PROKAEW, A. ; CHERDHIRUNKORN, B .; LUENGNARUEMITCHAI, A. Biodiesel production by a renewable catalyst from calcined Turbo jourdani (*Gastropoda: Turbinidae*) shells. **Journal of Cleaner Production**, v. 177, p. 925–929, 2018.

BRILLAS, E. Recent development of electrochemical advanced oxidation of herbicides. A review on its application to wastewater treatment and soil remediation. **Journal of Cleaner Production**, p. 125841, 5 jan. 2021a.

BRILLAS, E. Recent development of electrochemical advanced oxidation of herbicides. A review on its application to wastewater treatment and soil remediation. **Journal of Cleaner Production**, v. 290, p. 125841, 25 jan. 2021b.

BRISIO, A. G. B. Proposta para aproveitamento de água de lavagem do biodiesel nos poços injetores de água em campos de Petróleo onshore. 97 Dissertação (Mestrado em Tecnologia) Faculdade de Tecnologia e ciências, Salvador/BA, 2009.

BRITO, N. N. De.; SILVA, V. B. M. Processos Oxidativos Avançados e sua aplicação ambiental. **Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, n.3, v.1, p.36-47, 2012.

CAVALHEIRO, L. F.; MISUTSU, M. Y.; RIAL, R.C.; VIANA, H.; OLIVEIRA, L.C.S. Characterization of residues and evaluation of the physico chemical properties of soybean biodiesel and biodiesel: Diesel blends in different storage conditions. **Renewable Energy**, v. 151, p. 454–462, 2020.

CASTRO. L. S.; BARAÑANO. A. G. Aplicação de CaO oriundo da casca de ovo de galinha para a produção de biodiesel: uma revisão. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.10, p 182-201, 2018.

COELHO, F. L. L.; SANTOS, I. O.; PAIXÃO, D. C.; LHAMAS, D. E. L. Estudo do processo de produção do Biodiesel obtido a partir de óleo de fritura residual e sebo 99

bovino utilizando a transesterificação etílica básica. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, v. 6, n.5, p.28836-28843, 2020.

CHOZHAVENDHAN, S.; SINGH, M.V. P.; FRANSILA,B.; KUMAR, R.P.; DEVI, G.K. A review on influencing parameters of biodiesel production and purification processes. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 1–2, p. 1–6, 2020.

COLOMBO, K.; ENDERA, L.; SANTOS, M.M.;BARROS, A.A.C. Production of biodiesel from Soybean Oil and Methanol, catalyzed by calcium oxide in a recycle reactor. **South African Journal of Chemical Engineering**, v. 28, p. 19–25, 2019.

BRITO, G. F.; OLIVEIRA, R.; GRISOLIA, C.T.; GUIRRA, L.S.; WEBER, I.T.; ALMEIDA, F.V. Evaluation of advanced oxidative processes in biodiesel wastewater treatment. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 375, p. 85–90, 2019.

DALARI, B. L. S. K. Utilização de esferas de quitosana no processo foto-fenton heterogêneo no tratamento de efluente têxtil. 104 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de PósGraduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2018.

DAUD, Z.; AWANG, H., LATIF, A. A. A.; NASIR, N.; RIDZUAN, M. B.; AHMAD, Z. Suspended Solid, Color, COD and Oil and Grease Removal from Biodiesel Wastewater by Coagulation and Flocculation Processes. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, World Conference on Technology, Innovation and Entrepreneurship. v. 195, p. 2407–2411, 2015.

DANTAS, J.; LEAL, E.; CORNEJO, D. R.; KIMINAMI, R.H.G.A.; COSTA, A.C.F.M. Biodiesel production evaluating the use and reuse of magnetic nanocatalysts $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ synthesized in pilot-scale. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 3026–3042, 2020.

DIB, F.H. Produção de biodiesel a partir de óleo residual reciclado e realização de testes comparativos com outros tipos de biodiesel e proporções de mistura em um moto-gerador. 118 f. Dissertação (Mestre em Engenharia Mecânica), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira/SP, 2010.

MEDEIROS, E. F.; VIEIRA, B.M.; PEREIRA, C.M.P.; NADALETI, W.C.; QUADRO,M.S.; ANDREAZZA, R. Production of biodiesel using oil obtained from fish processing residue by conventional methods assisted by ultrasonic waves: Heating and stirring. **Renewable Energy**, v. 143, p. 1357–1365, 2019.

- DEEBA, F.; KUMAR, B.; ARARA, N.; SINGH, S.; KUMAR, A., HAN, S. S., NEGI, Y.S. Novel bio-based solid acid catalyst derived from waste yeast residue for biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 159, p. 127–139, 2020.
- DEGIRMENBASI, N.; COSKUN, S.; BOZ, N.; KALYON, D.M.. Biodiesel synthesis from canola oil via heterogeneous catalysis using functionalized CaO nanoparticles. **Fuel**, v. 153, p. 620–627, 2015.
- DHAWANE, S. H.; KUMAR, T.; HALDER, G. Process optimisation and parametric effects on synthesis of lipase immobilised carbonaceous catalyst for conversion of rubber seed oil to biodiesel. **Energy Conversion and Management**, v. 176, p. 55–68, 2018.
- SANTOS, A. J.; MARTÍNEZ-HUITLE,C.A.; SIRÉS,I.;BRILLAS,E. Use of Pt and Boron-Doped Diamond Anodes in the Electrochemical Advanced Oxidation of Ponceau SS Diazo Dye in Acidic Sulfate Medium. **ChemElectroChem**, v. 5, n. 4, p. 685–693, 2018.
- FIOREZE, 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.
- FISKESJÖ, G. The allium test in wastewater monitoring. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 8, n. 3, p. 291–298, 1993.
- GARCIA-SEGURA, S.; OCON, J. D.; CHONG, M. N. Electrochemical oxidation remediation of real wastewater effluents: A review. **Process Safety and Environment Protection**, v. 113, p. 48-67, 2017.
- GARRIDO-CARDENAS, J. A.; ESTEBAN-GARCÍA, B.; AGÜERA, A.; SÁNCHEZ PÉREZ,J.A., MANZANO-AGUGLIARO,F. Wastewater Treatment by Advanced Oxidation Process and Their Worldwide Research Trends. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 1, p. E170, 2019.
- GISI, S. D.; GALASSO, M.; FEO, G. D. Full-scale treatment of wastewater from a biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. **Environmental Technology**, v. 34, n. 7, p. 861–870, 2013.
- GONÇALVES, B. R.; MACHADO, A. E. H.; TROVÓ, A. G. Treatment of a biodiesel effluent by coupling coagulation-flocculation, membrane filtration and Fenton reactions. **Journal of Cleaner Production**, v. 142, p. 1918–1921, 2017.

- GODWIN MONG KALU-UKA; KUMAR, S.; ABRAHAM CHINEDU KALU-UKA; SHRUTI VIKRAM; OKORAFOR, O. A.; KIGOZI, M.; GINA ODOCHI IHEKWEME; AZIKIWE PETER ONWUALU. Prospects for biodiesel production from *Macrotermes nigeriensis*: Process optimization and characterization of biodiesel properties. v. 146, p. 105980–105980, 1 mar. 2021.
- GUO, M.; SONG, W.; BUHAIN, J. Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 712–725, 2015.
- HAHN, C. L. Nova Estratégia Híbrida Do Processo Foto-Fered-Fenton Assistido Por O₃ Para A Degradação De Águas Residuais Do Prétratamento Da Produção De Biodiesel. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis), Universidade Federal da Fronteira Sul. Rio Grande do Sul/RS, 2022.
- HANSON, M. L.; WOLFF, B. A.; GREEN, J. W.; KIVI, M.; PANTER, G. H.; WARNE, M. J.; ÅGERSTRAND, M.; SUMPTER, J. P. How we can make ecotoxicology more valuable to environmental protection. **Science of The Total Environment**, v. 578, p. 228–235, 2017.
- HOU, J.; LIU, H.; WANG, L.; DUAN, L.; LI, S.; WANG, X. Molecular Toxicity of Metal Oxide Nanoparticles in *Danio rerio*. **Environmental Science and Technology**, v. 52, n. 14, p. 7996–8004, 2018.
- INTICHER, J. J.; DA, L.; RAÍSSA ENGROFF GUIMARÃES; ZORZO, C. F.; PELLENZ, L.; SEIBERT, D.; FERNANDO HENRIQUE BORBA. Advanced treatment of water contaminated with atrazine, difenoconazole and fipronil mixture, its by-products and bio-toxicity levels. v. 9, n. 5, p. 105883–105883, 1 out. 2021.
- JAIN, B.; SINGH, A. K.; KIM, H.; LICHTFOUSE, E.; SHARMA, V. Treatment of organic pollutants by homogeneous and heterogeneous Fenton reaction processes. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 3, p. 947–967, set. 2018.
- JIMÉNEZ, S.; LOPEZ, J.L.C.; IBÁÑEZ, G.R.; GARCIA, B. E. ; PÉREZ, J. A. S. Produced water treatment by advanced oxidation processes. **Science of The Total Environment**, v. 666, p. 12–21, 2019.
- JAMBULINGAM, R.; SHALMA, M.; SHANKAR, V. Biodiesel production using lipase immobilised functionalized magnetic nanocatalyst from oleaginous fungal lipid. **Journal of Cleaner Production**, v. 215, p. 245–258, 2019.

KASPER, N.; RODRIGO PATERA BARCELOS; MAICOL DE MATTOS; BARONI, S. Impact of anthropic activities on eukaryotic cells in cytotoxic test. v. 13, n. 3, p. 1–1, 3 maio 2018.

KARA, K.; OUANJI, F.; LOTFI, E. M.; MAHI, M. E.; KACIMI, M.; ZIYAD, M. Biodiesel production from waste fish oil with high free fatty acid content from Moroccan fish-processing industries. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 27, n. 2, p. 249–255, 2018.

KLAUCK, C. R. Tratamento de efluente petroquímico: avaliação da toxicidade. 2018, P. 171. Tese Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental. 100 Universidade Feevale, Novo Hamburgo, 2018.

KEN-ICHIRO SUEHARA; KAWAMOTO, Y.; FUJII, E.; JIRO KOHDA; NAKANO, Y.; YANO, T. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. v. 100, n. 4, p. 437–442, 1 out. 2005.

KOLHE, N. S.; GUPTA, A. R.; RATHOD, V. K. Production and purification of biodiesel produced from used frying oil using hydrodynamic cavitation. **Resource-Efficient Technologies**, v. 3, n. 2, p. 198–203, 1 jun. 2017.

KORPE, S., RAO, P.V. Application of advanced oxidation processes and cavitation techniques for treatment of tannery wastewater—a review. *J. Environ. Chem. Eng.* v.9,p.105234, 2021.

KUMAR, V., SINGH, K., SHAH, M.P. Advanced Oxidation Processes for Complex Wastewater Treatment, Advanced Oxidation Processes for Effluent Treatment Plants. Elsevier Inc. v.2021, p.1-31, 2021.

LAGE, L. H. A.; GONÇALVES, R. T.; OLIVEIRA, U. A.; SALIBA, W. A. Análise dos processos de transesterificação e hidroesterificação na produção de biodiesel. *Journal of Exact Sciences*, v.21(3),p.09-14,2019.

MACHULEK, A. ; OLIVEIRA, S. C.; OSUGI, M. E.; FERREIRA, V. S.; QUINA, F. H; DANTAS, R. F.; OLIVEIRA, S. L.; CASAGRANDE, G. A.; ANAISSI, F. J.; SILVA, V. O.; CAVALCANTE, R. P.; GOZZI,F.; RAMOS, D. D.; ROSA, A P. P.; SANTOS, A. P. F.; CASTRO, D.C.; NOGUEIRA, J. A. Application of Different Advanced Oxidation Processes for the Degradation of Organic Pollutants. Em: RASHED, M. N. (Ed.). **Organic Pollutants - Monitoring, Risk and Treatment**. [s.l.] InTech, 2013.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDAB, T. I.; CRUZ, A. S. Teste in vitro de Citotoxicidade : Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. *Materials Research*, v. 6, n. 3, p. 317–320, 2003.

- MANSIR, N.; TEO, S.H.; RABIU, I.; TAUFIQ-YAP, Y.H. Effective biodiesel synthesis from waste cooking oil and biomass residue solid green catalyst. *Chemical Engineering Journal*, v. 347, p. 137–144, 2018.
- MALAKOOTIAN, M.; ARMITA SHAHESMAEILI; FARAJI, M.; AMIRI, H.; SUSANA SILVA MARTÍNEZ. Advanced oxidation processes for the removal of organophosphorus pesticides in aqueous matrices: A systematic review and meta-analysis. v. 134, p. 292–307, 1 fev. 2020.
- MIKLOS, D. B.; REMY, C.; JEKEL, M.; LINDEN, K.G.; DREWES, J. E.; HÜBNER, U. Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. *Water Research*, v. 139, p. 118–131, 2018.
- MANAF, I. S. A.; EMBONG,N.H.; KHAZAAI, S.N.M; RAHIM, M.H.A.; YUSOFF, M.M.; LEE, K.T.; MANIAM, G.P. A review for key challenges of the development of biodiesel industry. **Energy Conversion and Management**, v. 185, p. 508–517, 2019.
- MANSIR, N.; TEO, S.H.; RABIU, I.; TAUFIQ-YAP, Y.H. Effective biodiesel synthesis from waste cooking oil and biomass residue solid green catalyst. **Chemical Engineering Journal**, v. 347, p. 137–144, 2018.
- LU, C. et al. Neonicotinoid insecticides in the drinking water system – Fate, transportation, and their contributions to the overall dietary risks. *Environmental Pollution*, v. 258, p. 113722, 1 mar. 2020.
- MANSIR, N.; SIEW HWA TEO; IDRIS RABIU; YUN HIN TAUFIQ-YAP. Effective biodiesel synthesis from waste cooking oil and biomass residue solid green catalyst. v. 347, p. 137–144, 1 set. 2018.
- MORTUSEWICZ, O.; SCHERMELLEH, L.; WALTER, J.; CARDOSO, M. C.; LEONHARDT, H. Recruitment of DNA methyltransferase I to DNA repair sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, n. 25, p. 8905–8909, 2005.
- MORALES, G. C. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. México: [s.n.]. v. 1
- MOREIRA, F. C.; BOAVENTURA, R. A. R.; BRILLAS, E.; VILAR, V. J. P. Electrochemical advanced oxidation processes: A review on their application to synthetic and real wastewaters. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 202, p. 217–261, 2017.

- MOZAFFARIKHAH, K.; KARGARI, A.; TABATABAEI, M.; GHANAVATI, H.; SHIRAZI, M.M.A. Membrane treatment of biodiesel wash-water: A sustainable solution for water recycling in biodiesel production process. **Journal of Water Process Engineering**, v. 19, p. 331–337, 2017.
- MOHD; YIE HUA TAN; YEE XUAN SEOW; JIBRAIL KANSEDO; NABISAB MUJAWAR MUBARAK; FAIZ, M.; YEN SAN CHAN; KHALID, M. Evaluation on feedstock, technologies, catalyst and reactor for sustainable biodiesel production: A review. v. 98, p. 60–81, 1 jun. 2021.
- MUHAMMAD SIDDIQUEE; ROHANI, S. Lipid extraction and biodiesel production from municipal sewage sludges: A review. v. 15, n. 2, p. 1067–1072, 1 fev. 2011.
- NAKAGAWA, H.; TAKAGI, S.; MAEKAWA, J. Fered-Fenton process for the degradation of 1,4-dioxane with an activated carbon electrode: A kinetic model including active radicals. **Chemical Engineering Journal**, v. 296, p. 398–405, 2016.
- NGAMLERDPOKIN, K. KUMJADPAI, S.; CHATANON, P.; TUNGMANEE, U.; CHUENCHUANCHOM, S.; JARUWAT, P.; LERTSATHITPHONGS, P.; HUNSOM, M. Remediation of biodiesel wastewater by chemical- and electro-coagulation: A comparative study. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 10, p. 2454–2460, 2011.
- NASCIMENTO, R. F.; RIBEIRO, J. P.; ABDALA, E. F.; BARROS, F. C. Processos oxidativos avançados Fundamentos e aplicações em matrizes ambientais. Ronaldo Ferreira do Nascimento [et al.]. (Organizadores). – Fortaleza: Imprensa Universitária, 2017.
- NIDHEESH, P. V.; ZHOU, M.; OTURAN, M. A. An overview on the removal of synthetic dyes from water by electrochemical advanced oxidation processes. **Chemosphere**, v. 197, p. 210–227, 2018.
- NOGUEIRA, R. F. P.; OLIVEIRA, M. C.; PATERLINI, W. C. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. **Talanta**, v. 66, n. 1, p. 86–91, 2005.
- CHAPLIN, B. P. Critical review of electrochemical advanced oxidation processes for water treatment applications. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 16, n. 6, p. 1182–1203, 2014.
- OTURAN, N.; BRILLAS, E.; OTURAN, M. A. Unprecedented total mineralization of atrazine and cyanuric acid by anodic oxidation and electro-Fenton with a boron-

- doped diamond anode. *Environmental Chemistry Letters*, v. 10, n. 2, p. 165–170, 1 jun. 2012.
- OTURAN, M. A.; AARON, J. J. Advanced oxidation processes in water/wastewater treatment: Principles and applications. A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 44, n. 23, p. 2577–2641, 2014
- PARVAN, L. G.; LEITE, T. G.; FREITAS, T. B.; PEDROSA, P. A. A.; CALIXTO, J. S.; AGOSTINHO, L. A.; PARVAN, L. G.; LEITE, T. G.; FREITAS, T. B.; PEDROSA, P. A. A.; CALIXTO, J. S.; AGOSTINHO, L. A. Bioensaio com Allium cepa revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 11, n. 0, 2020.
- ORCHARD, B.; DENIS, J.; JOHN WARD COUSINS. Developments in biofuel processing technologies. v. 2007, n. 487, p. 24–28, 1 abr. 2007.
- OYETOLA OGUNKUNLE; AHMED, N. A. A review of global current scenario of biodiesel adoption and combustion in vehicular diesel engines. v. 5, p. 1560–1579, 1 nov. 2019.
- PELLENZ, L. et al. Landfill leachate treatment by a boron-doped diamond-based photo-electro-Fenton system integrated with biological oxidation: A toxicity, genotoxicity and by products assessment. *Journal of Environmental Management*, v. 264, n. February, p. 0–11, 2020a.
- PELLENZ, L. et al. Landfill leachate treatment by a boron-doped diamond-based photo-electro-Fenton system integrated with biological oxidation: A toxicity, genotoxicity and by products assessment. *Journal of Environmental Management*, v. 264, p. 110473, jun. 2020b.
- PEREIRA, E. L.; BORGES, A.C.; HELENO, F.F. ; OLIVEIRA, K.R.; SILVA, G.J.; MONTANHISTA, A.H. Central composite rotatable design for startup optimization of anaerobic sequencing batch reactor treating biodiesel production wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 7, n. 3, p. 103038, 2019.
- PATTARALUK JARUWAT; SANGKORN KONGJAO; MALI HUNSOM. Management of biodiesel wastewater by the combined processes of chemical recovery and electrochemical treatment. v. 51, n. 3, p. 531–537, 1 mar. 2010.
- PITAKPOOLSIL, W.; HUNSOM, M. Treatment of biodiesel wastewater by adsorption with commercial chitosan flakes: Parameter optimization and process kinetics. *Journal of Environmental Management*, v. 133, p. 284–292, 2014.

PITT, F. D.; DOMINGOS, A. M.; BARROS, A. A. C. Purification of residual glycerol recovered from biodiesel production. **South African Journal of Chemical Engineering**, v. 29, p. 42–51, 2019.

PIPI, A.R.F. Oxidação dos herbicidas Diuron e Alaclor através de processos eletroquímicos oxidativos avançados utilizando ânodos: Ti/IrO₂, Ti/RuO₂, Pt e BDD. 151 p. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto/SP, 2014.

PRABAKAR, D.; SUVETHA, S. K.; MANIMUDI, V. T.; MATHIMANI, T.; KUMAR, G.; RENE, E.R.; PUGAZHENDHI, A. Pretreatment technologies for industrial effluents: Critical review on bioenergy production and environmental concerns. *Journal of Environmental Management*, v. 218, p. 165–180, 15 jul. 2018.

RANGANATHAN, S. V.; NARASIMHAN, S. L.; MUTHUKUMAR, K. An overview of enzymatic production of biodiesel. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 10, p. 3975–3981, 2008.

RAJASULOCHANA, P.; PREETHY, V. Comparison on efficiency of various techniques in treatment of waste and sewage water – A comprehensive review. RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ,C.M.; CASAS,A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, A. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 1, p. 261–268, 2009.

RANGANATHAN, S. V.; NARASIMHAN, S. L.; MUTHUKUMAR, K. An overview of enzymatic production of biodiesel. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 10, p. 3975–3981, 2008.

RANGANATHAN, S. V.; NARASIMHAN, S.; KARUPPAN MUTHUKUMAR. An overview of enzymatic production of biodiesel. v. 99, n. 10, p. 3975–3981, 1 jul. 2008. REKHATE, C.V., SRIVASTAVA, J.K. Recent advances in ozone-based advanced oxidation processes for treatment of wastewater- A review. *Chem. Eng. J. Adv.*, v.3,p.100031, 2020.

RIAL, R. C.; FREITAS, O. N.; B, NAZÁRIO, C.E.D.; VIANA, L.H. Biodiesel from soybean oil using Porcine pancreas lipase immobilized on a new support: pnitrobenzyl cellulose xanthate. *Renewable Energy*, v. 149, p. 970–979, 2020.

RIBEIRO, C. T., BRAGA, V. N; COELHO,F. L. L., PAIXÃO,D. C.; LHAMAS,D. E. L.; RODRIGUES, G.; SUFFREDINI, D. F. P.; MEDEIROS, A. C. G. Study of biodiesel production from the transesterification reaction of refined palm oil by ethanol using

homogeneous and heterogeneous catalysis. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 28818–28824, 2020.

SAGGIORO, F. P.; NEDER, L.; STÁVALE, J. N.; NAZARETH, A.; SUZANA M. F. MALHEIROS; FERNANDO AUGUSTO SOARES; EYMARD, J.; MATIAS, C. M.; BENEDICTO OSCAR COLLI; CARLOS GILBERTO CARLOTTI; FRANCO, M. Fas, FasL, and cleaved caspases 8 and 3 in glioblastomas: A tissue microarray-based study. v. 210, n. 5, p. 267–273, 1 maio 2014.

SANTOS, M. M. DE M.; DUARTE, M. M. M. B.; NASCIMENTO, G. E.; SOUZA, N. B. G.; ROCHA, O. R. S. Use of TiO₂ photocatalyst supported on residues of polystyrene packaging and its applicability on the removal of food dyes. **Environmental Technology**, v. 40, n. 12, p. 1494–1507, 2019.

SHARMA, A.; AHMAD, J.; FLORA, S. J. S. Application of advanced oxidation processes and toxicity assessment of transformation products. **Environmental Research**, v. 167, p. 223–233, 2018.

SHARMA, S.; SIMSEK, H. Treatment of canola-oil refinery effluent using electrochemical methods: A comparison between combined electrocoagulation + electrooxidation and electrochemical peroxidation methods. **Chemosphere**, v. 221, p. 630–639, 2019.

SHIH, Y.J.; LIN, C.P.; HUANG, Y.H. Application of Fered-Fenton and chemical precipitation process for the treatment of electroless nickel plating wastewater. **Separation and Purification Technology**, v. 104, p. 100–105, 2013.

SRIRANGSAN, P.; KAWAI, K.; NAOKO HAMADA-SATO; TAKAI, R.; SUZUKI, T. 33. Effects of additives on the stabilization of freeze-dried enzyme mixtures: Alkaline phosphatase, nucleoside phosphorylase and xanthine oxidase. v. 59, n. 3, p. 379–379, 1 dez. 2009.

SILLANPÄÄ, M.; NCIBI, M. C.; MATILAINEN, A. Advanced oxidation processes for the removal of natural organic matter from drinking water sources: A comprehensive review. **Journal of Environmental Management**, v. 208, p. 56–76, 2018.

SILVA, T. A. R. Biodiesel de óleo residual: Produção através da Transesterificação por metanolise e Etanolise básica, caracterização físicoquímica e otimização das condições reacionais. 152 f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2011.

- SIRÉS, I.; BRILLAS, E.; OTURAN, M. A.; RODRIGO, M. A.; PANIZZA, M. Electrochemical advanced oxidation processes: today and tomorrow. A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 14, p. 8336–8367, 2014.
- SOKAČ, T.; GOJUN, M.; TUŠEK, A. J.; ŠALIC, A.; ZELIC, B. Purification of biodiesel produced by lipase catalysed transesterification by ultrafiltration: Selection of membranes and analysis of membrane blocking mechanisms. **Renewable Energy**, v. 159, p. 642-651, 2020.
- SREEJA, P. H.; SOSAMONY, K. J. A Comparative Study of Homogeneous and Heterogeneous Photo-fenton Process for Textile Wastewater Treatment. Procedia Technology, International Conference on Emerging Trends in Engineering, Science and Technology (ICETEST - 2015). v. 24, p. 217–223, 2016.
- SOUZA, S. J. O.; LOBO, T. M.; SABINO, A. L. O.; OLIVEIRA, S. B.; COSTA, O. S. Decomposição dos Antirretrovirais Lamivudina e Zidovudina pelo Processo Fotofenton Assistido no Efluente de Indústria Farmoquímica. **Revista Processos Químicos**, v. 4, n. 7, p. 59–67, 2010.
- STETER, J. R.; BRILLAS, E.; SIRÉS, I. Solar photoelectro-Fenton treatment of a mixture of parabens spiked into secondary treated wastewater effluent at low input current. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 224, p. 410–418, 2018.
- TARAFDAR, A.; SIROHI, R.; BALAKUMARAN, P. A.; RESHMY, R.; MADHAVAN, A.; SINDHU, R.; BINOD, P.; KUMAR, Y.; KUMAR, D.; SIM, S. J. The hazardous threat of Bisphenol A: Toxicity, detection and remediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 423, p. 127097, 2022.
- TAREK MANASFI. Ozonation in drinking water treatment: an overview of general and practical aspects, mechanisms, kinetics, and byproduct formation. p. 85–116, 1 jan. 2021.
- THUSHARI, I.; BABEL, S. Sustainable utilization of waste palm oil and sulfonated carbon catalyst derived from coconut meal residue for biodiesel production. **Bioresource Technology**, Bioconversion of Food Wastes. v. 248, p. 199–203, 2018.
- TORRES, N. H.; LIMA, A.S.; FERREIRA, L.F.R.; OLIVEIRA, J.A.; CAVALCANTI, E.B. Treatment of wastewater from biodiesel generation and its toxicity evaluation by *Raphidocelis subcapitata*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 35, n. 2, p. 563–574, 2018.

- TULIO; HÄVECKER, M.; AXEL KNOP-GERICKE; SCHLÖGL, R. Promoters in heterogeneous catalysis: The role of Cl on ethylene epoxidation over Ag. v. 312, p. 12–16, 1 abr. 2014.
- VELJKOVIC, V.B., STAMENKOVIC, O.S., TASIC, M.B. The wastewater treatment in the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, v.32, p.40–60, 2014.
- VIEIRA, J. S. C.; SOUSA, T.L.; ROSAS, L.S.; LIMA,A.L.; RONCONI, C.M.; MOTA,C. J. A. Esterificação e transesterificação homogênea de óleos vegetais contendo alto teor de ácidos graxos livres. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 10–16, 2018.
- WANG, C; LIU,Y.; ZHOU, T.; HUANG, M.; MAO,J.; WU,X. Efficient decomposition of sulfamethoxazole in a novel neutral Fered-Fenton like/oxalate system based on effective heterogeneous-homogeneous iron cycle. **Chinese Chemical Letters**, v. 30, n. 12, p. 2231–2235, 2019.
- WANG, N.; ZHENG, T.; ZHANG, G.; WANG, P. A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 1, p. 762–787, 2016.
- XIANG, C.; LIU, S. Y.; FU, Y.; CHANG, J. A quick method for producing biodiesel from soy sauce residue under supercritical carbon dioxide. **Renewable Energy**, v. 134, p. 739–744, 2019.
- YAHYA, N. Y.; NGADI, N.; JUSOH, M.; HALIM, N. A. A. Characterization and parametric study of mesoporous calcium titanate catalyst for transesterification of waste cooking oil into biodiesel. **Energy Conversion and Management**, v. 129, p. 275–283, 1 dez. 2016.
- YE, Z.; Zhang, H.; Yang, L.; Wu, L.; Qian, Y; Geng, J. ;Chen, M. Effect of a solar Fered-Fenton system using a recirculation reactor on biologically treated landfill leachate. **Journal of Hazardous Materials**, SI: Honoring Brillas & Oturan. v. 319, p. 51–60, 2016.
- BRILLAS, E., Sires, I., OTURAN, M.A. Electro-fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. **Chem. Rev.**, v. 109,p.6570–6631,2009.
- BUTHIYAPPAN, A., AZIZ, A.R.A., DAUD, W.M.A.W. Degradation performance and cost implication of UV-integrated advanced oxidation processes for wastewater treatments. **Rev. Chem. Eng.** v.31, p. 263–302,2015.

- CHANG, E.-E., LIU, T.-Y., HUANG, C.-P., LIANG, C.-H., CHIANG, P.-C. Degradation of mefenamic acid from aqueous solutions by the ozonation and O₃/UV processes. **Separ. Purif. Technol.**, v. 98, p. 123–129,2012.
- CHEN, H., WANG, J. Degradation and mineralization of ofloxacin by ozonation and peroxone (O₃/H₂O₂) process. **Chemosphere**, v.269, p. 128775,2021.
- CHEN, P., MU, Y., CHEN, Y., TIAN, L., JIANG, X.-H., ZOU, J.-P., LUO, S.-L. Shifts of surface-bound ·OH to homogeneous ·OH in BDD electrochemical system via UV irradiation for enhanced degradation of hydrophilic aromatic compounds. **Chemosphere**, v. 291, p. 132817,2022.
- CHEN, R.F., WU, L., ZHONG, H.T., LIU, C.X., QIAO, W., WEI, C.H. Evaluation of electrocoagulation process for high-strength swine wastewater pretreatment. **Separ. Purif. Technol.**, v.272, p. 118900,2021.
- COSTA, N.M., SILVA, G.D., MARSON, E.O., RICHTER, E.M., MACHADO, A.E.H., TROVO, A.G. Enhanced treatment of a biodiesel effluent using ferrioxalate in a photo-Fenton process based on the use of solar radiation. **Fuel**, v. 221, p.110–115, 2018.
- DAUD, N.M., SHEIKH ABDULLAH, S.R., ABU HASAN, H., YAAKOB, Z. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: a review. **Process Saf. Environ. Protect.** 94, 487–508, 2015.
- DU, Z., JIA, R., SONG, W., WANG, Y., ZHANG, M., PAN, Z., SUN, S. The characteristic of N-nitrosodimethylamine precursor release from algal organic matter and degradation performance of UV/H₂O₂/O₃ technology. **Sci. Total Environ.** V.795,p. 148739,2021.
- ESPINOZA-QUIÑONES, F.R., MÓDENES, A.N., DE PAULI, A.R., PALÁCIO, S.M. Analysis of trace elements in groundwater using ICP-oes and TXRF techniques and its compliance with Brazilian protection standards. **Water. Air. Soil Pollut.** v.226,2015.
- GONÇALVES, B.R., MACHADO, A.E.H., TROVO, A.G. Treatment of a biodiesel effluent by coupling coagulation-flocculation, membrane filtration and Fenton reactions. **J. Clean. Prod.** 142, 1918–1921,2017.
- HE, F.-J., CHEN, J.-Q. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. **Food Sci. Hum. Wellness**, v.2, p.146–161, 2013.
- HEIDARI, M.R., MALAKOOTIAN, M., BOCZKAJ, G., SUN, X., TAO, Y., SONAWANE,

- S.H., MEHDIZADEH, H. Evaluation and start-up of an electro-Fenton-sequencing batch reactor for dairy wastewater treatment. **Water Resour. Ind.**, v. 25, p. 100149, 2021.
- HU, X., MENESES, Y.E., STRATTON, J., LAU, S.K., SUBBIAH, J. Integration of ozone with co-immobilized microalgae-activated sludge bacterial symbiosis for efficient on-site treatment of meat processing wastewater. **J. Environ. Manag.** v.285, p. 112152,2021.
- INTICHER, J.J., CABRERA, L.C., GUIMARÃES, R.E., ZORZO, C.F., PELLENZ, L., SEIBERT, D., BORBA, F.H. Advanced treatment of water contaminated with atrazine, difenoconazole and fipronil mixture, its by-products and bio-toxicity levels. **J. Environ. Chem. Eng.** 9, 105883,2021.
- KORPE, S., RAO, P.V. Application of advanced oxidation processes and cavitation techniques for treatment of tannery wastewater—a review. **J. Environ. Chem. Eng.** v.9,p.105234, 2021.
- KUMAR, V., SINGH, K., SHAH, M.P. Advanced Oxidation Processes for Complex Wastewater Treatment, **Advanced Oxidation Processes for Effluent Treatment Plants**. Elsevier Inc. v.2021, p.1-31, 2021.
- LADO RIBEIRO, A.R., MOREIRA, N.F.F., LI PUMA, G., SILVA, A.M.T. Impact of water matrix on the removal of micropollutants by advanced oxidation technologies. **Chem. Eng. J.**, v. 363, p.155–173, 2019.
- LI, K., ZHANG, L., JIN, X., SONG, J., JIN, P., WEI, Y., ZHU, Y., LIU, M., WANG, X.C. Removal performance and membrane fouling mitigation mechanism of electrocoagulation membrane dissolved ozone flotation. **J. Water Proc. Eng.**v. 43, p. 102289,2021.
- LI, Y., WANG, XIAOFENG, YANG, H., WANG, XIAOMAO, XIE, Y. Oxidation of isoprothiolane by ozone and chlorine: reaction kinetics and mechanism. **Chemosphere**, v.232, p.516–525,2019.
- LIM, S., TEONG, L.K., 2010. Recent trends, opportunities and challenges of biodiesel in Malaysia: an overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14, p.938–954, 2010.
- PELLENZ, L., BORBA, F.H., DAROIT, D.J., LASSEN, M.F.M., BARONI, S., ZORZO, C.F., GUIMARÃES, R.E., ESPINOZA-QUIÑONES, F.R., SEIBERT, D. Landfill leachate treatment by a boron-doped diamond-based photo-electro-Fenton system

integrated with biological oxidation: a toxicity, genotoxicity and by products assessment. **J. Environ. Manag.**, v.264, p.110473, 2020.

REKHATE, C.V., SRIVASTAVA, J.K. Recent advances in ozone-based advanced oxidation processes for treatment of wastewater- A review. **Chem. Eng. J. Adv.**, v.3,p.100031, 2020.

SEGUNDO, I.D.B., GOMES, A.I., SOUZA-CHAVES, B.M., PARK, M., DOS SANTOS, A.B., BOAVENTURA, R.A., MOREIRA, F.C., SILVA, T.F., VILAR, V.J. Incorporation of ozone-driven processes in a treatment line for a leachate from a hazardous industrial waste landfill: impact on the bio-refractory character and dissolved organic matter distribution. **J. Environ. Chem. Eng.**, v. 9, p.105554,2021.

SEIBERT, D., DIEL, T., WELTER, J.B., DE SOUZA, A.L., MÓDENES, A.N., ESPINOZA-QUIÑONES, F.R., BORBA, F.H. Performance of photo-Fenton process mediated by Fe (III)- carboxylate complexes applied to degradation of landfill leachate. **J. Environ.Chem.Eng.**, v. 5, p.4462-4470, 2017.

SEIBERT, D., HENRIQUE BORBA, F., BUENO, F., INTICHER, J.J., MODENES, A.N., ESPINOZA-QUIÑONES, F.R., BERGAMASCO, R. Two-stage integrated system photo-electro-Fenton and biological oxidation process assessment of sanitary landfill leachate treatment: an intermediate products study. **Chem. Eng. J.** 372, 471–482,2019.

SEIBERT, D., ZORZO, C.F., BORBA, F.H., DE SOUZA, R.M., QUESADA, H.B., BERGAMASCO, R., BAPTISTA, A.T., INTICHER, J.J. Occurrence, statutory guideline values and removal of contaminants of emerging concern by Electrochemical Advanced Oxidation Processes: a review. **Sci. Total Environ.**, v.748, p.141527,2020. SHARMA, S., AYGUN, A., SIMSEK, H. Electrochemical treatment of sunflower oil refinery wastewater and optimization of the parameters using response surface methodology. **Chemosphere**, v.249, p.126511,2020.

US. Environmental, Protection Agency - USEPA, 2012. Endocrine Disruptor Screening Program, Universe of Chemicals for Potential Endocrine Disruptor Screening and Testing. US. Environmental Protection Agency - USEPA, 2012.

VELJKOVIC, V.B., STAMENKOVIC, O.S., TASIC, M.B. The wastewater treatment in the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification. **Renew. Sustain. Energy Rev.**, v.32, p.40–60, 2014a.

VELJKOVIC, V.B., STAMENKOVIC, O.S., TASIC, M.B. The wastewater treatment in

the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification. **Renew. Sustain. Energy Rev.**, v.32, p.40–60, 2014b.

WANG, C., LIU, Y., HUANG, M., XIANG, W., ZHOU, T., WU, X., MAO, J. Synergistic degradation of sulfamethoxazole in an oxalate-enhanced Fered-Fenton system: the critical heterogeneous solid-liquid interfacial mechanism and an insight in practical application. **J. Hazard Mater.**, v.2020, p.392,2020.

WANG, J., CHEN, G., LIU, F., SONG, X., ZOU, G. Combined ozonation and aquatic macrophyte (*Vallisneria natans*) treatment of piggery effluent: water matrix and antioxidant responses. **Ecol. Eng.**, v.102, p.39–45,2017.

WANG, J., SHI, J., ZHAO, Y., XUE, L., LI, G., WANG, B., HUANG, J., WU, S., GUO, X. Cardiorespiratory responses in healthy young adults with exposure to indoor airborne PAEs: a randomized, crossover trial of air purification. **Environ. Int.** v.156, p. 106761,2021.

WANG, Y., YU, J., HAN, P., SHA, J., LI, T., AN, W., LIU, J., YANG, M. Advanced oxidation of bromide-containing drinking water: a balance between bromate and trihalomethane formation control. **J. Environ. Sci.** 25, 2169–2176,2013.

WU, C., CHEN, W., GU, Z., LI, Q. A review of the characteristics of Fenton and ozonation systems in landfill leachate treatment. **Sci. Total Environ.**, v.2020, p.143131,2020.

WU, T., ENGLEHARDT, J.D. Peroxone mineralization of chemical oxygen demand for direct potable water reuse: kinetics and process control. **Water Res.** 73, 362–372,2015.

XU, Q., SIRACUSA, G., DI GREGORIO, S., YUAN, Q. COD removal from biologically stabilized landfill leachate using Advanced Oxidation Processes (AOPs). **Process Saf. Environ. Protect.**, v.120, p. 278–285, 2018.

ATABANI, A. E. A study of production and characterization of Manketti (*Ricinodendron rautonemii*) methyl ester and its blends as a potential biodiesel feedstock. Biofuel Research Journal, v. 4, p. 139 – 146, 2014.

SANTIN, C. M. T. **Síntese de biodiesel pela transesterificação e esterificação enzimática em sistema livre de solvente em banho de ultrassom**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim, 2013.

ALMEIDA, E.; ASSALIN, M. R.; ROSA, M. A. Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos. **Química Nova**, v.27, p.818- 824, 2004.

HOLANDA, J. N.; MACIEL, A. P.; SANTOS, R. L. Avaliação ecotoxicológica da água de lavagem da purificação de biodiesel de soja metílico utilizando *Danio rerio* como organismo-teste. **Boletim Do Laboratório De Hidrobiologia**, 25(1):13-20. 2012.

3 REDUCTION OF THE ENVIRONMENTAL IMPACT OF WASTEWATER FROM THE PRETREATMENT OF BIODIESEL PRODUCTION: A HYBRID PROPOSAL FOR DECONTAMINATION VIA PHOTO-ELECTRO- FENTON/FERED/O₃

Nota: Os resultados deste estudo estão apresentados sob forma de artigo científico nesta seção.

Gustavo K. Kreutz¹, Fernando H. Borba^{1, 1*}, Suzymeire Baroni¹, Ildemar Mayer¹, Daiana Seibert¹, Jonas J. Inticher², Camila F. Zorzo³, Raíssa E. Guimarães³

¹ *Postgraduate Program of Environment and Sustainable Technologies, Federal University of Fronteira Sul, Rua Jacob Reinaldo Haupenthal 1580, CEP: 97900-00, Cerro Largo, RS, Brazil.*

² *Postgraduate Program of Chemical Engineering, West Paraná State University, Rua da Faculdade 645, Jd. Santa Maria, 85903-000, Toledo, PR, Brazil.*

³ *Federal University of Rio Grande do Sul, Hydraulic Research Institute, Postal code 15029, Av. Bento Gonçalves, 9500, CEP 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil.*

^{1*} Corresponding author

Tel.: (55) 3359-3951, E-mail: fernando.borba@uffs.edu.br (Fernando Henrique Borba)

Permanent address: Federal University of Fronteira Sul-UFFS, Rua Jacob Reinaldo Haupenthal, 1580, Sala 104, Bloco dos Professores. Bairro Industrial, CEP: 97900-000 Cerro Largo, RS, Brazil.

ABSTRACT

Complex wastewater is generated during biodiesel production. We propose a new solution for the treatment of wastewater from enzymatic pretreatment of biodiesel production (WEPBP) by using a hybrid system based on the photo-Fered-Fenton process with O₃ assistance (PEF-Fered-O₃). We applied response surface methodology (RSM) to determine the suitable conditions for the PEF-Fered-O₃ process: a current intensity of 3 A, an initial solution pH controlled at 6.4, an initial H₂O₂ concentration of 12,000 mg L⁻¹, and an O₃ concentration of 50 mg L⁻¹. We performed three new experiments under similar conditions with slight changes to the conditions, namely a longer reaction time (120 minutes) and single or periodic H₂O₂ addition (i.e., small H₂O₂ additions at different reaction times). Periodic H₂O₂ addition provided the best removal results probably by reducing the occurrence of undesired side reactions that cause hydroxyl radical ('OH) scavenging. With the application of the hybrid system, the chemical oxygen demand (COD) and total organic carbon (TOC) decreased by 91% and 75%, respectively. We also evaluated the presence of metals such as iron, copper, and calcium; electric conductivity; and voltage at 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes. We submitted raw and treated WEPBP sludge samples to X-ray diffraction to study the degree of crystallinity. There was a rearrangement of the compounds present in treated WEPBP, possibly caused by oxidation of a large fraction of organic matter. Finally, we evaluated the genotoxicity and cytotoxicity of WEPBP by using *Allium cepa* meristematic root cells. Treated WEPBP was less toxic to these cells, denoted by improvements in gene regulation and cell morphology. Given the current scenario for the biodiesel industry, applying the proposed hybrid PEF-Fered-O₃ system at suitable conditions provides an efficient alternative to treat a complex matrix, namely WEPBP, to reduce its potential to cause abnormalities in the cells of living organisms. Thus, the negative impacts of the discharge of WEPBP in the environment might be reduced.

Keywords: Electrochemical oxidation; genotoxicity and cytotoxicity assays; advanced wastewater treatment

3.1 INTRODUCTION

Energy generated from renewable sources is a promising alternative to replace fossil fuels from limited natural sources, such as petroleum (Chozhavendhan et al., 2020). Due to the high price of petroleum, its nonrenewable origin, and the environmental impacts of its use and exploration, there is a need for alternative fuel sources (Kalu-Uka et al., 2021). In this regard, efforts have been directed to obtain biodiesel from soybean oil, especially because of its availability and lower pollution potential (Syafiuddin et al., 2020).

Several processes, such as feedstock extraction and preparation, are required to produce biodiesel. These processes involve the production of large amounts of wastes and wastewater. Hence, wastewater treatment is crucial in the biodiesel industry, with the aim of avoiding environmental contamination through the application of suitable and economically friendly treatment techniques (Syafiuddin et al., 2020). Applying treatment technologies with limited efficiency may contaminate water bodies and the environment. Moreover, this wastewater may have synergic effects with other pollutants that are discharged daily into the environment, including pharmaceuticals, phthalates, microplastics, personal care products, and agrochemicals (Dolatabadi et al., 2022a, 2023a, Dolatabadi and Ahmadzadeh, 2018, 2020; Nabatian et al., 2022), and contaminants originating from anthropic activities such as cesium. This possibility highlights the importance of developing technologies that can identify these interactions and predict their behavior in the environment (Ahmadzadeh et al., 2011, 2015).

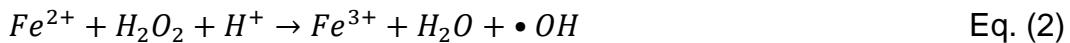
Due to its physicochemical characteristics, wastewater derived from vegetable oils cannot be directly discharged into water bodies or be used for irrigation. Conventional wastewater treatment approaches (physicochemical separation followed by a biological process such as activated sludge treatment), which are usually employed in wastewater treatment plants (WTP), are not highly effective in the removal of large amounts of pollutants present in this matrix (da Silva Brito et al., 2019; Sharma and Simsek, 2019). Biological treatment techniques, such as activated sludge treatment or the use of stabilization ponds, have limited efficacy to degrade the complex organic load of wastewater from biodiesel production. This waste requires pre- or post-treatment with advanced treatment alternatives to remove highly complex, unstable, and reactive compounds (Flores et al., 2012; Sharma and Simsek, 2019).

The oxidation of refractory organic compounds by free radicals is a promising alternative for the degradation and mineralization of refractory compounds such as organophosphate insecticides and pesticides (Dolatabadi et al., 2022c, 2023a, 2023b; Inticher et al., 2021a), sanitary landfill leachate (Pellenz et al., 2020; Seibert et al., 2019), bisphenol A (Zorzo et al., 2021a), and tannery waste (Borba et al., 2018), as well as wastewater from biodiesel production (Borba et al., 2022).

Advanced oxidative processes (AOP) are carried out in the aqueous phase. They are mainly driven by the hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and are considered to be efficient techniques for the treatment of different refractory organic compounds with low biodegradability and high chemical stability that are commonly present in industrial wastewaters (Wang et al., 2022). The AOP aim at the *in situ* production of $\cdot\text{OH}$, which serves as the main oxidizing agent for organic matter (OM). $\cdot\text{OH}$ has a high oxidative potential (2.8 V) and low selectivity (Korpe and Rao, 2021). These free radicals can be obtained through a primary oxidant, such as hydrogen peroxide (H_2O_2) or ozone (O_3), which are less oxidizing than $\cdot\text{OH}$. They can be generated by different processes or added directly to the solution. Several AOP are based on the Fenton reaction ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, and electro-Fenton) (Ambaye et al., 2023; Dolatabadi et al., 2022b; Ghazal et al., 2022; Wen et al., 2022; Zahedi et al., 2022). The process can be conducted with ultraviolet (UV) irradiation assistance ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, UV/TiO_2 , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{TiO}_2/\text{UV}$, and $\text{O}_3/\text{TiO}_2/\text{UV}$) (Arshad et al., 2020; Fernandes et al., 2019; Gu et al., 2023; Pan et al., 2022; Wang et al., 2023; Zorzo et al., 2021), supplemented with O_3 (O_3/UV , $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, O_3/Fe) or activated persulfate (Coha et al., 2021; Rekhate and Srivastava, 2020), or combined with electrochemical processes, such as electro-oxidation, electro-Fenton, and E-peroxone, among others (Borba et al., 2022; Inticher et al., 2021; Pellenz et al., 2020).

The electrochemical advanced oxidation processes (EAOP) aim at the continuous cathodic electro-generation of H_2O_2 (see Eq. 1) in the presence of dissolved oxygen (O_2). When combined with Fe^{2+} , H_2O_2 accelerates the Fenton reaction (see Eq. 2), with the goal of $\cdot\text{OH}$ production. Thus, Fe^{2+} species are converted to Fe^{3+} species, which are then used to regenerate Fe^{2+} (see Eq. 3). For these reactions, the solution pH is an important factor: At an alkaline pH, Fe^{3+} species tend to precipitate, making the process less efficient (Brillas and Garcia-Segura, 2020; Seibert et al., 2020). Fe^{2+} regeneration is minimized in systems that use the electro-

Fenton process. This system favors greater use of H₂O₂ to produce ·OH as well as decreases the production of radicals with less oxidative potential, such as the hydroperoxyl radical (HO₂[•]) (see Eq. 4).



Processes based on O₃ have also been applied to treat wastewater and to disinfect drinking water (Manasfi, 2021; Rekhate and Srivastava, 2020). O₃ is an unstable gas with a high reactive potential (2.07 V) and can react with various organic compounds, transforming them into smaller compounds. Of note, O₃ presents selectivity toward certain organic groups. Its degradation may occur via direct oxidation, through molecular O₃, or through indirect oxidation with the production of radicals such as ·OH (see Eq. 5) (Korpe and Rao, 2021; Kumar and Shah, 2021).



Wastewaters with high total organic carbon (TOC) levels usually require a combination of different processes to reach the desired removal rates. The combined O₃/electro-Fenton process can trigger indirect reactions to produce ·OH (see Eqs. 6 and 7) (Bavasso et al., 2022; Guo et al., 2021); thus, they are a promising alternative for the simultaneous production of ·OH and degradation of complex contaminants. Another interesting alternative is to use irradiation to assist ·OH production. This approach can also be combined with O₃ (see Eq. 8) and H₂O₂ (see Eq. 9), generating relevant amounts of effective radicals for the degradation and mineralization of organic compounds (Frangos et al., 2016).



The use of E-peroxone favors electro-cathodic generation of H₂O₂ in the presence of dissolved O₂ obtained from a gaseous stream of O₃ bubbled into the solution. Carbon electrodes are usually employed to maximize H₂O₂ generation, reducing its dilution and increasing reactivity in the solution to produce more ·OH. These changes promote the simultaneous oxidation of different organic pollutants and overcome the drawbacks related to the conventional peroxone process—for example, high costs and the use of chemical reagents—and allow for more efficient use of O₂ (Frangos et al., 2016).

In the present study, we investigated the treatment of wastewater from enzymatic pretreatment of biodiesel production (WEPBP), which is produced in great quantities each day by the biodiesel industry. It is necessary to evaluate alternative treatments for this complex matrix so that it can be discharged safely into the environment. We proposed a combined system based on the photo-Fered-Fenton process with O₃ assistance (PEF-Fered-O₃) for WEPBP treatment. We established the initial operational conditions to promote chemical oxidation reactions in the hybrid system for a wide pH range and at high H₂O₂ concentrations due to the complexity of WEPBP. These conditions favored OM mineralization and removal, reduced energy consumption, and maximized the efficiency of the electrochemical potential of the current intensity. We performed experimental runs of the PEF-Fered-O₃ process to evaluate different operational parameters of WEPBP treatment (TOC and chemical oxygen demand [COD] removal). In addition, we investigated the effects of single or periodic H₂O₂ addition to the process. We monitored the following parameters during the reaction: the metals calcium (Ca), copper (Cu), and iron (Fe); electrical conductivity; and voltage. We also submitted the raw and treated WEPBP sludge to X-ray diffraction (XRD) to examine its crystallinity. Finally, we evaluated cytotoxicity and genotoxicity of raw and treated WEPBP in *Allium cepa* meristematic root cells. To the best of our knowledge, our work is the first to address the treatment of WEPBP by using a hybrid system based on the PEF-Fered-O₃ process. Our work contributes to the awareness of the improper discharge of wastewater that is produced daily in high quantities by the biodiesel industry. Our proposed EAOP treatment promotes the oxidation of pollutants, decreasing their potential to cause abnormalities in the cells of living organisms.

3.2 MATERIAL AND METHODS

3.2.1 Samples, solvents, and reactants

WEPBP (\approx 100 L) was collected after pretreatment of raw, degummed soybean oil in a biodiesel production plant located in the northwestern region of Rio Grande do Sul, Brazil. All samples were stored, packaged, and preserved according to the methods described in the “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA et al., 2005). All solvents and reactants are described in our previous work (Borba et al., 2022).

3.2.2 Analytical determination

Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) was performed, and TOC, 5-day biochemical oxygen demand (BOD₅), COD, pH, conductivity, and total dissolved Fe were determined as described in detail in our previous work (Borba et al., 2022). XRD was performed by using a Bruker diffractometer (D2-PHASER), operating in continuous mode of eight sweeps, with Cu-K α (1.5418 Å) and a nickel filter, under a voltage of 30 kV and a current of 10 mA. A sweep speed of 2 θ at 0.02°/min and a step time of 1.0 s were used at the range of 5–80°, according to the methodology described elsewhere (Ribeiro et al., 2019). H₂O₂ was monitored by using spectrophotometric analysis with ammonium metavanadate (NH₄VO₃), described elsewhere (Nogueira et al., 2005).

Cytotoxicity and genotoxicity analyses were performed by using the bioindicator plant *A. cepa*. Young, medium-sized *A. cepa* bulbs were exposed to the positive control (lead nitrate), the negative control (distilled water), raw WEPBP, and WEPBP treated with the PEF-Fered-O₃ process in triplicate for 24 hours. Subsequently, the bulbs were fixed with Carnoy’s solution for 24 hours. The samples were viewed under a light microscope (Olympus CX31) to count the total number of nucleated cells, dividing cells, and cell abnormalities. The detailed methodology is described elsewhere (Eckert et al., 2022; Zorzo et al., 2021).

3.2.3 The Photo-Fered-Fenton-O₃ process and the experimental procedure

In our previous work (Borba et al., 2022), we evaluated a hybrid system based on O₃/H₂O₂/UV oxidation and electrocoagulation (EC) to treat WEPBP; a schematic illustration of the reactor can be found in the Supplementary Material of that publication. The hybrid system comprises an O₃ generator (an O₂ cylinder [medical O₂] + an O₃ generator [O₃ Line]), a magnetic stirrer (IKA RH Basic 2), a current source (Precisão BK/1687B, 20V), a box with an inner coating of stainless steel (50.4 cm × 62.0 cm × 43.0 cm), and UV lamps (FLC-E40 500 W) placed above the reactor. The reactor contains a boron silicate reservoir (800 mL) with 10 circular electrodes (70 mm in diameter, 2 mm thick, and an effective area between plates of 3.46 cm²) with an electrode gap of 1 cm (placed in a way that all electrodes were submersed in the solution), with an O₃ gas diffusion system and homogeneous stirring.

For the experimental procedure, 750 mL of WEPBP was added to the reactor. The solution pH was adjusted to the required value by using sulfuric acid (H₂SO₄, Vetec, 1.5 mol L⁻¹) and (NaOH, ALPHATEC, 6 mol L⁻¹). Then, O₃ was dissolved in the solution by using a gas diffuser stone and the magnetic stirrer was turned on. The UV-Vis lamps were turned on, and the electrodes were connected to the current source. The required H₂O₂ concentration (ALPHATEC, 35%) was added to the solution. At the moment of H₂O₂ addition, O₃ was simultaneously provided to the solution at the desired concentration. This system operated under constant stirring with sample collection at predefined reaction times at three different spots of the reactor to ensure the homogeneity of the samples for subsequent analysis.

The PEF-Fered-O₃ process is similar to the photo-electro-Fenton process, which uses UV irradiation to increase the organic pollutant degradation rate. The main difference is the use of O₃ to increase the oxidative potential of this system, because primary oxidants are provided simultaneously to the solution to generate ·OH. This setup is intriguing because it would only require small changes to the operational routine at WTP that use UV irradiation.

The following operational conditions were evaluated for the PEF-Fered-O₃ process: solution pH range 1.5–9.5, with the required pH controlled during the experimental runs; H₂O₂ concentration of 0–20,000 mg L⁻¹; O₃ concentration of 5–85 mg O₃ L⁻¹; and current intensity of 0.25–5.25 A. Samples were collected at predefined

time points—0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes—to assess TOC, COD, cytotoxicity, and genotoxicity; Ca, Fe, Cu, and intermediate compound levels; electrical conductivity; voltage, and the H₂O₂ concentration.

3.3 RESULTS AND DISCUSSION

3.3.1 WEPBP characterization

We used WEPBP for this study: liquid waste resulting from the enzymatic pretreatment (based on phospholipases) of soybean oil. Its physicochemical characteristics are described elsewhere (Borba et al., 2022). This wastewater is yellow, highly viscous, and rich in organic compounds, as evidenced by the high TOC, COD, and BOD₅ values, as well as the low biodegradability index (BOD₅/COD). Therefore, it is considered a complex matrix and conventional wastewater treatment techniques are not sufficient. The yellow color is associated with the presence of long-chain fatty acids from the soybean oil (oleic and linoleic acids and diisooctyl phthalate [DIOP]) (Borba et al., 2022). The presence of these compounds may explain the high TOC and COD because they use a large portion of the O₂ demand for their oxidation, which also explains the slightly acidic pH of WEPBP. The presence of cations and anions has a significant influence on conductivity, turbidity, and total dissolved solids; they originate from the soybean nutrients, in addition to the impurities that are introduced from soybean processing to oil extraction/purification.

Enzymatic treatment is a relatively new method used in biodiesel industries for soybean oil purification (Nasya binti Ramlee et al., 2022). To the best of our knowledge, there are no published reports on the characterization and treatment of WEPBP to remove pollutant loads.

3.3.2 Response surface methodology (RSM)

Based on our previous investigation (Borba et al., 2022), it is necessary to increase the performance of the PEF-Fered-O₃ system for WEPBP treatment. Thus, we developed a proposal to maximize the efficiency of the operational parameters of the PEF-Fered-O₃ reactor based on RSM. We employed a central composite rotational

design with 27 experimental runs (16 factorial points, 8 axial points, and 3 repetitions in the central points). We investigated a range of current intensity (X_1) (0.25–4.0 A), initial solution pH (X_2) (1.5–9.5), H_2O_2 concentration (X_3) (0–20,000 mg L⁻¹), and O_3 concentration (X_4) (5–85 mg L⁻¹) for 30 minutes of electrolysis. We observed a large variation in the experimental run (Table 3), including a COD removal rate of 8.1%–71.7%. This finding confirmed the need to investigate the ideal interactions of the operating parameters for the PEF-Fered- O_3 reactor.

Table 3 - Real values of COD removal (%) by PEF-Fered- O_3 .

run	X_1 (A)	X_2	X_3 (mg L ⁻¹)	X_4 (mg L ⁻¹)	% COD removal
26	2.75	5.5	0	45	25.1
4	2.75	5.5	20000	45	63.4
6	1.5	3.5	15000	65	32.7
13	1.5	3.5	15000	25	24.1
20	1.5	7.5	15000	65	56.7
1	1.5	7.5	15000	25	40.7
14	4	3.5	15000	25	33.5
18	4	3.5	15000	65	44.1
23	4	7.5	15000	65	51.2
5	4	7.5	15000	25	28.4
22	2.75	5.5	10000	85	52.0
8	2.75	9.5	10000	45	58.3
9	2.75	1.5	10000	45	24.0
17	2.75	5.5	10000	45	71.7
21	2.75	5.5	10000	45	70.6
15	2.75	5.5	10000	5	37.1
24	5.25	5.5	10000	45	51.2
7	0.25	5.5	10000	45	11.9
12	1.5	3.5	5000	65	8.1
16	1.5	3.5	5000	25	18.5
25	1.5	7.5	5000	65	41.0
2	1.5	7.5	5000	25	26.7
3	4	3.5	5000	65	29.3
19	4	3.5	5000	25	24.3
10	4	7.5	5000	65	36.9
11	4	7.5	5000	25	64.9
27	2.75	5.5	10000	45	71.0

We applied two-way analysis of variance (ANOVA) to validate the model (see Eq. 10), which estimates the percent COD removal and provides a 95% confidence interval. The F-test value was F_{cal} (7.45), greater than F_{tab} (2.53), indicating that the model provides a good mathematical representation of the experimental data.

$$R = a_0 + \sum_{i=1}^k X_i q_i + \sum_{i=1}^k X_{ii} q_i^2 \sum_{ii < j} + \sum_j X_{ij} q_i q_j \quad \text{Eq. (10)}$$

The experimental data (percent COD removal) and the predicted values (see Eq. 10) indicated a low residual value (108.7) and presented a normal and independent distribution (Fig. S1). The Pareto chart (Fig. S2) allowed us to observe the magnitude of the influence of the linear and quadratic effects of the variables X_1 , X_2 , X_3 , and X_4 of the PEF-Fered-O₃ process for COD removal. There was a strong tendency for small, positive values (synergistic effect) for the linear coefficients X_{2L} (3.92), X_{1L} (2.79), and X_{3L} (2.70), indicating the potential to maximize the efficiency of the PEF-Fered-O₃ process at intermediate values of the initial solution pH (X_{2L}), the current intensity (X_{1L}), and the initial H₂O₂ concentration (X_{3L}). There were antagonistic effects (negative) for X_{1Q} (-4.32), X_{2Q} (-3.36), X_{3Q} (-3.05), and X_{4Q} (-3.02), indicating that a low current intensity (X_1), initial solution pH (X_2), initial H₂O₂ initial concentration (X_3), and O₃ concentration (X_4) would have a negative impact on the efficiency of the PEF-Fered-O₃ process. Based on these data, we conclude that intermediate values of X_1 , X_2 , X_3 , and X_4 should be applied to ensure good efficiency and performance of the PEF-Fered-O₃ process.

We applied a three-dimensional (3D) response surface to identify the optimized regions from the PEF-Fered-O₃ system for percent COD removal (Fig. 3). We found that the suitable region of the PEF-Fered-O₃ process for COD removal was as follows: an H₂O₂ concentration of 10,000–15,000 mg L⁻¹ (interactions observed in Fig. 3b, d, and f), an initial pH of 5.5–7.5 (interactions observed in Fig. 3a, d, and f), a current intensity of 2.75–4.0 A (interactions observed in Fig. 3a–c), and an O₃ concentration of 45–65 mg O₃ L⁻¹ (interactions observed in Fig. 3c, e, and f). All the experiments elaborated with the suitable region led to < 65% COD removal (Table 3).

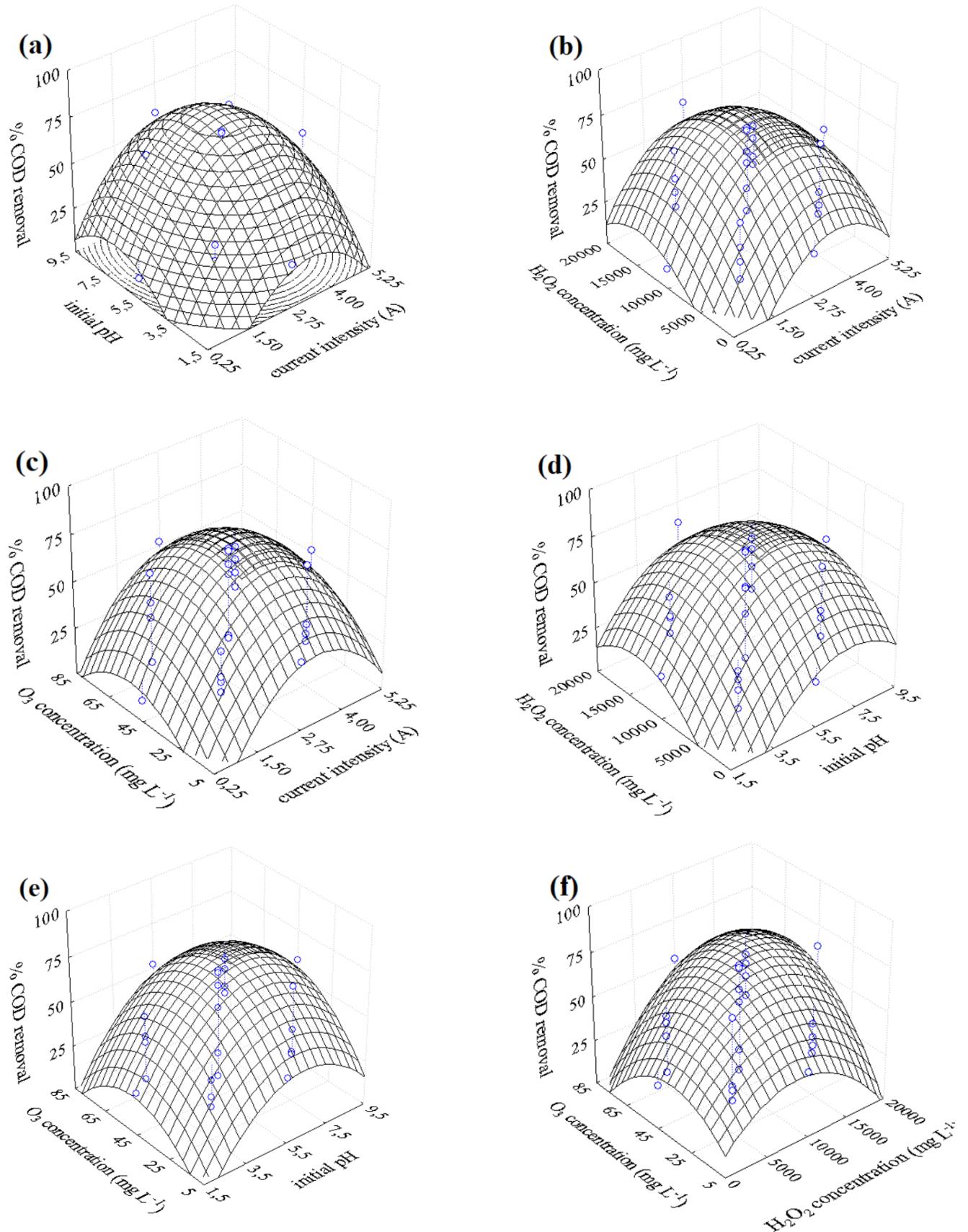


Figure 3. 3D surface of WEPBP submitted to the PEF-Fered-O₃ process.

Based on the results, H_2O_2 concentrations $> 12,000 \text{ mg L}^{-1}$ are not favorable for the PEF-Fered- O_3 process because H_2O_2 might act as a radical scavenger of the already existing $\cdot\text{OH}$ (Seibert et al., 2020; Zorzo et al., 2021). At H_2O_2 concentrations $< 12,000 \text{ mg L}^{-1}$, we also observed low percent COD removal, which might be ascribed to the low conversion of H_2O_2 to $\cdot\text{OH}$.

O_3 shows better solubility at neutral pH (Xiang et al., 2022). A pH of 6.4 can trigger favorable reactions between H_2O_2 and O_3 (see Eq. 5), which facilitates the formation of $\cdot\text{OH}$, alongside a proper current intensity, avoiding a temperature increase (loss of energy in the system) and leading to the release of a suitable amount of Fe into the solution, besides the cathodic and anodic reactions, maximizing $\cdot\text{OH}$ production. In addition, a higher O_3 concentration may increase the mass transfer in the system, favoring peroxone reactions and catalytic ozonation (Gu et al., 2023).

The set of experiments developed using RSM (runs 1–27) highlighted the following critical values: 3.0 A for X_1 , 6.4 for X_2 , $12,000 \text{ mg L}^{-1}$ for X_3 , and $50 \text{ mg O}_3 \text{ L}^{-1}$ for X_4 . Based on these values, 74.9% of COD would be removed at the maximum point of the quadratic response surface curvature, indicating the ideal experimental conditions for the PEF-Fered- O_3 process.

3.3.3 The effects of periodic addition of H_2O_2 on the PEF-Fered- O_3 process

We next investigated the influence of other parameters by using RSM, with the aim of obtaining less toxic WEPBP samples. We performed three new experiments with new strategies regarding oxidant (H_2O_2) addition and a longer reaction time (120 minutes), as shown in Fig. 4.

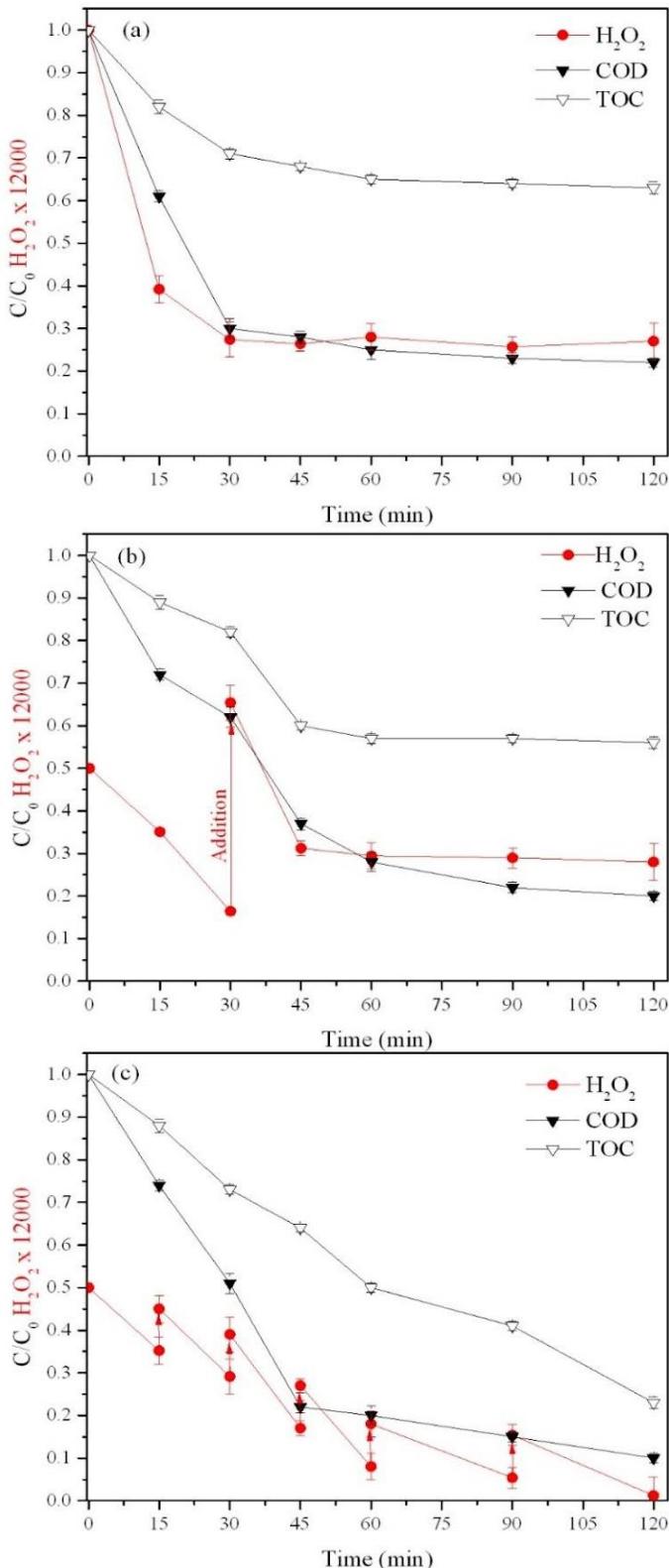
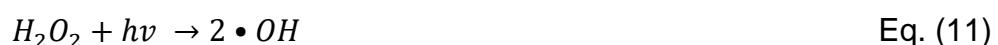


Figure 4. Evaluation of COD degradation, TOC mineralization, and H_2O_2 decomposition during the PEF-Fered- O_3 process. Experimental runs were performed under the following operational conditions: a current intensity of 3A; a controlled solution pH of 6.4; an O_3 concentration of 50 mg L⁻¹; and (a) an initial H_2O_2

concentration of 12,000 mg L⁻¹, (b) an initial H₂O₂ concentration of 6,000 mg L⁻¹, followed by one H₂O₂ addition of 6,000 mg L⁻¹, or (c) an initial H₂O₂ concentration of 6,000 mg L⁻¹, followed by five additions of 1,200 mg L⁻¹ each.

When the initial H₂O₂ concentration was 12,000 mg L⁻¹, COD and TOC were reduced up to 30 minutes of electrolysis, and then exhibited a tendency to stabilize after this time. Simultaneously, the H₂O₂ concentration in the solution sharply decreased until 30 minutes. The residual amount of Fe release from the sacrifice electrodes is assumed to impair photon absorption (Brillas et al., 2009; Peng et al., 2016), thus decreasing the homolytic cleavage of the H₂O₂ molecule (Eq. 11) (Brillas, 2014) as well as the photolysis of O₃ for H₂O₂ and ·OH production. However, the insertion of electrons powered by the current intensity (at a solution pH of 6.4), the H₂O₂ excess (see Eqs. 12, 15 and 16), and the presence of radical scavengers in the WEPBP matrix may favor the generation of HO₂[•], which, in turn, react with O₂ to produce H₂O₂ again (see Eqs. 12 and 13). Therefore, ·OH production is decreased, and H₂O₂ in the solution might be slowly consumed. In addition, ·OH reacts with carbonates and bicarbonates present in the WEPBP matrix, generating carbonate radicals (·CO₃⁻) (Eqs. 17 and 18), and the products of these reaction may regenerate H₂O₂ (Peyton and Glaze, 1988).



Espinoza-Quiñones et al. (2021) reported that an initial H₂O₂ concentration of 9,000 mg L⁻¹ is suitable when applying a hybrid electro-Fenton system to treat brewery wastewater; the H₂O₂ is consumed more rapidly because of EC. In addition, a high initial H₂O₂ concentration can decrease the removal efficiency due to the ·OH

scavenging effect of H_2O_2 (see Eqs. 15 and 16) and by the recombination of $\cdot\text{OH}$, as described in Eq. (12) (Muruganandham and Swaminathan, 2004; Nidheesh and Gandhimathi, 2012).

Given the extremely high organic load in WEPBP, the amount of H_2O_2 electro-generated at the cathode was probably not sufficient to reduce COD and TOC levels efficiently, and H_2O_2 may be reduced to HO_2^\bullet by reactions at the anode, resulting in a radical with low oxidative potential (Brillas, 2022). Therefore, we investigated the effects of periodic H_2O_2 addition to avoid scavenging excess of H_2O_2 in the solution and to maximize the conversion of H_2O_2 into $\cdot\text{OH}$. As shown in Fig. 4b, an initial addition of 6,000 mg L⁻¹ H_2O_2 was followed by a new addition of 6,000 mg L⁻¹ after 30 minutes of the reaction. Fig. 4c shows an initial addition of H_2O_2 at 6,000 mg L⁻¹ followed by five new additions of 1,200 mg L⁻¹ of H_2O_2 at 15, 30, 45, 60, and 90 minutes of the reaction.

Dividing the initial H_2O_2 concentration (12,000 mg L⁻¹) into two additions of each 6,000 mg L⁻¹ improved the COD removal 15 minutes after the new addition (45-minute reaction time), probably because the radical scavenging effect of H_2O_2 was reduced during the first minutes of the reaction, and a minimal addition of 6,000 mg L⁻¹ of H_2O_2 was important to produce $\cdot\text{OH}$ to attack OM, considering the high organic content of WEPBP. Nevertheless, after 30 minutes of electrolysis, there had already been 37% COD and 15% TOC removal. Therefore, the second addition of 6,000 mg L⁻¹ of H_2O_2 probably resulted in an excess of H_2O_2 in the solution because the organic load was lower than at the beginning. This finding led us to infer that the radical scavenging effect represented by Eqs. (12), (15), and (16) occurred again (see Fig. 4b). Finally, dividing the subsequent H_2O_2 into five new additions of 1,200 mg L⁻¹ each produced the most efficient removal rates: 91% for COD and 75% for TOC. This H_2O_2 addition strategy may provide an initial amount of H_2O_2 to form $\cdot\text{OH}$ to attack OM, and the subsequent additions avoid scavenging excess H_2O_2 . At these operational conditions, indirect reactions for $\cdot\text{OH}$ production from O_3 decomposition at pH 6.4 are also favored (Borba et al., 2022). Thus, high-molecular-weight compounds present in the WEPBP could be transformed into low-molecular-weight compounds, which demand high amounts of $\cdot\text{OH}$ and energy for complete mineralization, with a residual TOC concentration at the end of the PEF-Fered- O_3 process (Mandal et al., 2017).

Sharma and Simsek (2019) compared a combined system based on electro-coagulation (EC) and electro-oxidation (EO) with electrochemical peroxidation to treat wastewater from canola oil refinery. This wastewater presented a high organic content (24140 and 9110 mg L⁻¹ COD and TOC, respectively). The combined system removed > 90% OM. The authors identified the best most efficient treatment strategy—the combined EC+EO system—by applying regression modeling. These findings highlight the difficulty of treating this environmental matrix: In wastewaters with a high organic load, combined treatments would be the most suitable. It is difficult to compare our finding with studies that investigated the treatment of wastewaters from vegetable oil refinery because only a few have been published. Moreover, these studies were performed in different operational conditions and employed different treatment techniques. Thus, there is great variability in these wastewaters, especially depending on the oil used in the processing. There should be distinct treatment techniques as well as operational conditions and removal rates (Sharma et al., 2014).

Fig. 5 shows the Ca, voltage, Fe, electric conductivity, and copper profiles.

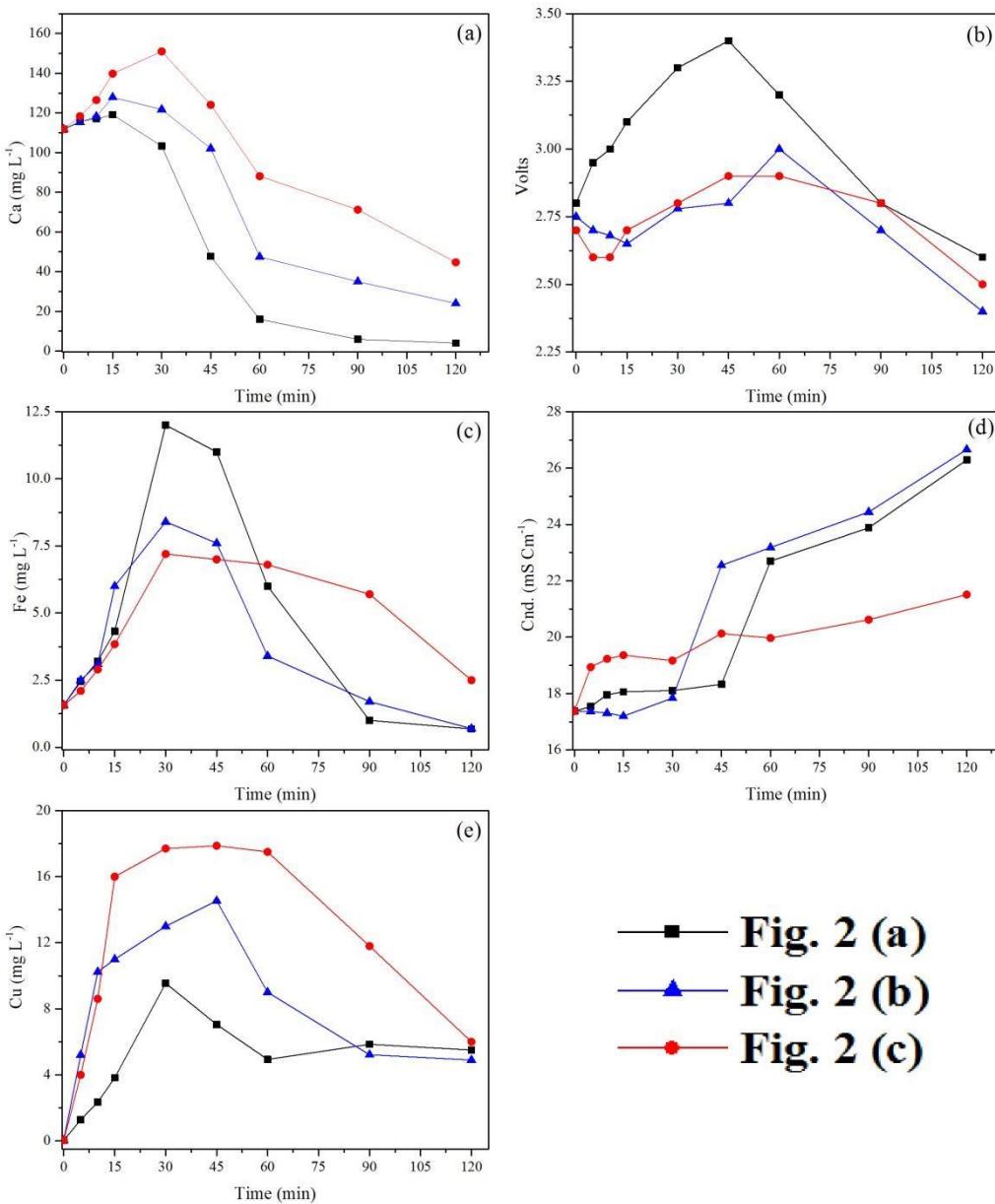


Figure 5. Characteristics of the (a) Ca concentration, (b) applied voltage, (c) total Fe concentration, (d) electric conductivity, and (e) Cu concentration during the PEF-Fered-O₃ process.

Adequate operational conditions for AOP provide efficient removal rates, decreasing the quantities of required chemicals and saving energy. Therefore, for the PEF-Fered-O₃ process, control of the solution pH and continuous O₃ and H₂O₂ feeding at correct concentrations potentially decrease undesired side reactions, maximizing the production of ·OH for OM oxidation. We observed some patterns for the Ca, Fe, and Cu concentrations (Fig. 5a, c, and e). Periodic H₂O₂ addition resulted in higher TOC and COD removal rates; as a consequence, compounds that are bound or

adsorbed to OM can be dissolved in the solution (Borba et al., 2018). An increased O₂ concentration in a solution enhances metal mobility (Bao et al., 2023; De Jonge et al., 2012). In this regard, we believe that several periodic H₂O₂ additions avoided undesired side reactions, allowing ·OH to attack OM efficiently. As a consequence, more Ca and Cu were dissolved in the solution (Fig. 5a and e). There was an additional decrease in the concentrations of these metals in solution, possibly related to precipitation and the formation of complexes with calcium carbonates and hydroxides, impairing their detection. Espinoza-Quiñones et al. (2009) reported similar findings for the treatment of tannery wastewater via EC.

Voltage and electric conductivity profiles are indirectly proportional because at higher electric conductivity, less energy is used to conduct the electrons through the solution. Electric conductivity is provided by the mobility of conductors and semiconductors, which are dissolved in or inserted into the WEPBP bulk (Romani et al., 2020). The increase in electrical conductivity can be ascribed to the release of Fe into the solution through the sacrifice electrodes. Periodic addition of H₂O₂ was important to maintain suitable conditions for the Fenton reaction because H₂O₂ can act as a weak acid and a buffering agent to avoid sharp pH changes and to maintain sufficient Fe²⁺ species in solution (Fig. 5) (Espinoza-Quiñones et al., 2021; Yu et al., 2020). In addition, stopping the periodic addition of H₂O₂ could lead to coagulation of Fe compounds, impairing oxidative reactions and decreasing bulk electrical conductivity (Espinoza-Quiñones et al., 2021). This can be seen in Fig. 5c, where in the profiles with periodic H₂O₂ addition, Fe²⁺ could be detected at high concentrations in the solution for a longer period of time. The increase in Fe species during electrolysis has also been reported by others authors who employed the Fe cathode and/or anode (Pellenz et al., 2020; Romani et al., 2020). The decreased Fe concentration after 90 minutes most likely did not decrease electrical conductivity because during the PEF-Fered-O₃ process, the oxidation and mineralization of OM might have led to dissolved inorganic species, which also contribute to the maintenance of electrical conductivity. As electrical conductivity is favorable for the PEF-Fered-O₃ process, the voltage profiles decrease; thus, less electrical energy is spent to treat WEPBP.

3.3.4 Amorphous and crystalline phases of WEPBP sludge samples

We submitted raw WEPBP sludge and WEPBP treated with the PEF-Fered-O₃ process as shown in Fig. 4c (for 120 minutes) to XRD. We aimed to evaluate the molecular structures present in the samples based on the amorphous and crystalline indices. This analysis is generally performed by using pristine samples to observe single compounds, an approach that allows comparing diffraction intensity peaks and thus provides quantitative data. Analysis of the crystal structures (qualitative data) indicated that there was a rearrangement of the compounds present in WEPBP after PEF-Fered-O₃ treatment (64.5% crystallinity) compared with the raw WEPBP sample (37.5% crystallinity). This was possibly caused by the oxidation of a large fraction of OM into small-chain organic structures (thus increasing the degree of crystallinity) and more inorganic ions present in the sludge, resulting in a larger reorganization index of the molecular structures in the treated sample.

3.3.5 Toxicity assays

Some organisms, such as the meristematic cells from the roots of *A. cepa*, are sensitive to environmental contaminants and can be used to evaluate damage to the cell cycle and gene regulation. During mitosis, the error rate of chromosomal movement is around 1 per 1 million events. When errors exceed this rate, it can be inferred that a xenobiotic is interfering with genetically regulated processes. Leme and Marin-Morales (2009) agree that this is a sensitive test to evaluate the water quality as well as the genotoxic potential of industrial wastewaters, surface water, and groundwater in industrialized and urban areas. This bioindicator is widely used to investigate the movements of microtubules involved in cell division in the presence of potentially genotoxic compounds (Andrioli et al., 2012; Borba et al., 2018; Inticher et al., 2021; Zorzo et al., 2021). Table 4 presents the results of the toxicity assays using the *A. cepa* meristematic cells exposed to raw and treated WEPBP, including the mitotic index (MI). Fig. 6 presents micrographs of these cells exposed to raw and treated WEPBP.

Table 4 - The number of *Allium cepa* meristematic cells in the process of mitosis (out of 3,000 cells) and the mitotic index (MI). The cells were exposed to raw or treated WEPBP samples.

Treatments	Cells in mitosis/3000 cells	MI %
Positive control - Lead Nitrate 0.5%	143	4.8
Negative control – Distilled Water	357	11.9
WEPBP raw sample	0	0
Fig. 4 (a) (45min)	0	0
Fig. 4 (a) (120min)	0	0
Fig. 4 (b) (120min)	0	0
Fig. 4 (c) (120min)	87	2.9

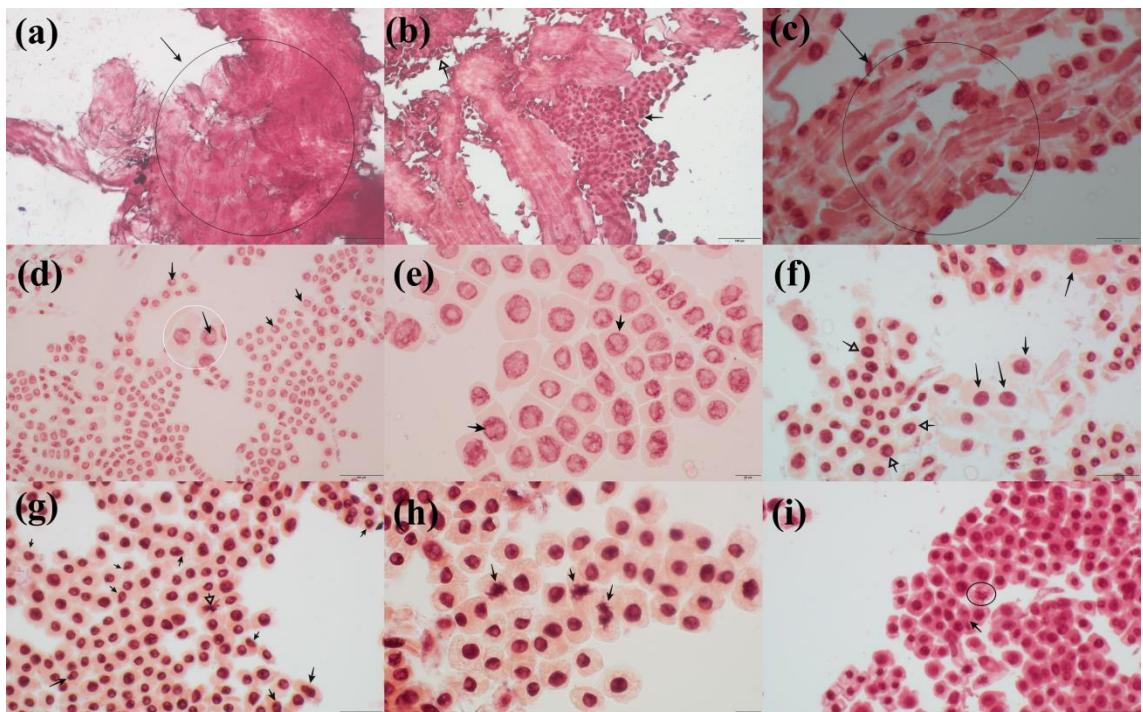


Figure 6. *Allium cepa* meristematic cells exposed for 24 hours to: (a) raw WEPBP (200x magnification); (b) WEPBP treated as shown in Fig. 4a (45 minutes; the dark arrows indicate cells in interphase and the light arrow indicates a malformed nucleus; 200x magnification); (c) WEPBP treated as shown in Fig. 4a (120 minutes; the circled area shows damaged cells, necrosis, and malformed nuclei; 400x magnification); (d) WEPBP treated as shown in Fig. 4b (the dark arrows indicate visible nuclei in

interphase and the circled area indicate nuclei with degeneration; 200 \times magnification); (e) WEPBP treated as shown in Fig. 4b (the dark arrows show degenerating nuclei with little chromatin; 600 \times magnification); (f) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the light arrows show cells in interphase with intact nuclei and dark arrows show cells in the first stage of mitosis, prophase; 400 \times magnification); (g) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the light arrow shows metaphase with adherence of chromosomes and malformed nucleus, and the dark arrows show indication of premutation event or cell death; 400 \times magnification); (h) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the dark arrow shows metaphase with adherence of chromosomes; 600 \times magnification); (i) WEPBP treated as shown in Fig. 4c (the circled area shows metaphase with errors and the dark arrow shows anaphase with bridge; 400 \times magnification).

The *A. cepa* meristematic cells exposed to raw WEPBP were not viable, which impeded counting them (Fig. 6a). The compounds present in this sample interfered with basic cell cycle processes, interrupting the control mechanism that regulates passage from the G1 to the S phase and promoting a high level of necrosis and apoptosis, common events in the case of injury (Fenech, 2020). Borba et al. (2022) identified oleic and linoleic acids as the main fatty acids present in WEPBP, in addition to endocrine-disrupting chemicals. The presence of high amounts of fatty acids might damage membrane transport mechanisms and slow down basic cellular processes (Aghasa et al., 2022).

There were no dividing cells in the samples exposed to WEPBP treated as described in Fig. 4a and Table 4 (Fig. 6b and c). In this case, the residual amount of H₂O₂ might be the reason for the lack of cell division. Excess H₂O₂ depolarizes the cell membranes, increasing their permeability and inducing lipid peroxidation, which results in generalized cellular dysfunction and, subsequently, cell death (Yu et al., 2003). Lipid peroxidation may be the primary cytotoxic event that triggers a sequence of lesions in a cell. Changes in membranes dysregulate permeability, altering the flux of ions and other substances, and ultimately resulting in a loss of selectivity for the entry and/or exit of nutrients and toxic substances into the cell, as well as DNA alterations. Phugare et al. (2011) exposed *Allium* sp. to samples of textile dyes that had undergone degradation and also showed high rates of genotoxicity and oxidative stress.

Plants present numerous defense mechanisms and evolutionary aspects that are different from those of animals. They show injury resistance mechanisms that enable

them to survive in their environment because they do not have the “escape” modes of animals (Borba et al., 2018). Some plants have genes that induce responses against oxidative stress (Tewari et al., 2015), such as *Arabidopsis thaliana*, which can increase the expression of antioxidant enzyme genes (*Fsd1* and *APX1*), improving the ascorbate-glutathione pathway to remove excess ROS and prevent cell structure damage (Vanhoudt et al., 2008).

The *A. cepa* meristematic cells exposed to the WEPBP treated as shown in Fig. 4b also presented a lack of mitosis; however, a different event was observed. The cells were well defined, and few showed signs of necrosis (Fig. 6d and e). However, the nuclei showed chromatin in the process of degeneration, which was identified by cytological staining. Generally, cells in interphase show more pronounced chromatin staining with evident nucleoli, which indicates the start of apoptosis with chromatin degradation; this explains the clear regions observed in the analysis. Exposure of *A. cepa* cells to WEPBP impeded the regulation of mitosis, preventing cells from passing the G1 to S checkpoint. We infer that the presence of excess H₂O₂ prevents the cells from moving from interphase to mitosis.

The *A. cepa* meristematic cells exposed to WEPBP treated as described in Fig. 4c and Table 3 showed improved gene regulation and cell morphology. Although the MI of these cells was lower than that of the positive control, there was a notable improvement compared with the other samples. We observed nuclei in interphase (Fig. 6f, white arrows), without signs of degeneration, differently from the cells exposed to the WEPBP treated as described in Fig. 4b.

Most of the cells in prophase (Fig. 6f, full arrow) presented standard features of this phase, with chromatin in the process of condensation and with increased nuclei compared with cells in interphase; however, several cells showed malformed nuclei (Fig. 6g). This abnormality suggests premutation or even nuclear abnormalities of the lobulated or binucleated nuclei, indicating cell death (Leme et al., 2008). There were a high number of nuclei with buds (nuclear buds). According to a previous study (Fernandes et al., 2007) testing the herbicide trifluralin, this morphology indicates the elimination of excess genetic material, a consequence of polyploidization error.

When we observed cells at the most advanced stage of mitosis, they showed genotoxic damage, such as poorly aligned chromosomes on the equatorial line at

metaphase (Fig. 6g, white arrows) and the absence of chromatids, indicative of chromosomal adhesion events (Fig. 6h, full arrows). We also observed cells in anaphase (Fig. 6i, full arrows). This is important for chromosomal disjunction, which allows each daughter cell to have the correct number of chromosomes. Non-disjunction results in serious problems in chromosomal balance, with irreversible damage to the daughter cells in the form of an aneugenic error.

In addition to carboxylic acids, the following compounds that are included in the WEPBP treated as shown in Fig. 4c might induce damage to mitotic processes: 4-hydroxy-4-methylcyclohexanone ($T_r = 3.250$ minutes; CAS number: 17429-02-6; $C_7H_{12}O_2$) and 4-ethocyclohexanone ($T_r = 3.025$ minutes; CAS number: 23510-92-1; $C_8H_{14}O_2$). Many compounds can bind to or intercalate with DNA, promoting breaks and errors in replication and disjunction. The *A. cepa* meristematic cells exposed to WEPBP treated as shown in Fig. 4c showed an increase in the MI compared with the other samples, but we still observed damage to the genetic material in the analyzed cells. Thus, according to the results obtained, we conclude that the WEPBP treated as shown in Fig. 4c is less toxic to living organisms.

3.4 CONCLUSION

WEPBP is a complex matrix that is generated in mass quantities. It demands proper and efficient treatment before it is discharged into the environment, and this process presents a challenge for biodiesel industry managers. We have proposed a solution for the real problem by enhancing WEPBP degradation and mineralization with the PEF-Fered-O₃ process based on a previous study (Borba et al., 2022). By applying RSM, we showed that a current intensity of 3 A, an initial solution pH controlled at 6.4, an initial H₂O₂ concentration of 12,000 mg L⁻¹, and an O₃ concentration of 50 mg L⁻¹ could be suitable operational conditions to treat WEPBP. The removal rates were maximized by the periodic addition of H₂O₂ during the PEF-Fered-O₃ process. A single addition of H₂O₂ at 12,000 mg L⁻¹ to the WEPBP solution favored many undesired side reactions, increasing the levels of less oxidative potential radicals, such as ·HO₂. We could avoid these undesirable effects by performing five periodic H₂O₂ additions of 1,200 mg L⁻¹, after an initial addition of 6,000 mg L⁻¹, to efficiently attack the high organic load present in the WEPBP matrix. With this H₂O₂ addition strategy, there was

91% COD and 77% TOC removal from the WEPBP matrix within 120 minutes of electrolysis. We applied XRD to study the crystal structures of the untreated and treated WEPBP sludge. We noted a rearrangement of the compounds in the treated WEPBP sludge, possibly caused by the oxidation of a large fraction of OM, increasing its crystallinity indices. We also investigated the genotoxicity and cytotoxicity of WEPBP to *A. cepa* meristematic cells. Raw WEPBP was very toxic to these cells: The compounds present in raw WEPBP likely damage membrane transport mechanisms and slow down basic cellular processes. The residual amount of H₂O₂ was also a drawback for cell division when the cells were exposed to treated WEPBP samples. However, the periodic addition of H₂O₂ to the PEF-Fered-O₃ system enhanced gene regulation and cell morphology, resulting in well-defined cells. Thus, the treated WEPBP was less toxic to *A. cepa*. In conclusion, the PEF-Fered-O₃ process is a suitable approach to treat the complex WEPBP matrix, efficiently decreasing its organic load as well as genotoxicity and cytotoxicity, besides enhancing the mineralization index. Therefore, the hazardous potential of this wastewater is considerably decreased, minimizing its risk to human and ecosystem health. As a limitation to be overcome, we recommend applying the PEF-Fered-O₃ hybrid system at pilot and industrial scales in future studies.

ACKNOWLEDGMENTS

The author F. H. Borba thanks the support of Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq— Edital 09/2020) for the research productivity and research project grant. The author G. K. Kreutz thanks the support of EDITAL Nº 174/GR/UFFS/2022-CAPES and EDITAL Nº 739/GR/UFFS/2021-UFFS. The author D. Seibert wish to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Postgraduate Program of Environment and Sustainable Technologies (PPGATS) and Federal University of Fronteira Sul (EDITAL Nº 1063/GR/UFFS/2022).

REFERENCES

- Aghasa, A., Choi, S., Lee, J., Hwang, S., 2022. Effect of initial bacterial diversity on anaerobic degradation of long-chain fatty acids. *Biomass Bioenergy* 162, 106498. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106498>
- Ahmadzadeh, S., Kassim, A., Rezayi, M., Rounaghi, G.H., 2011. Thermodynamic Study of the Complexation of p-Isopropylcalix[6]arene with Cs⁺ Cation in Dimethylsulfoxide-Acetonitrile Binary Media. *Molecules* 16, 8130–8142. <https://doi.org/10.3390/molecules16098130>
- Ahmadzadeh, S., Rezayi, M., Kassim, A., Aghasi, M., 2015. Cesium selective polymeric membrane sensor based on p-isopropylcalix[6]arene and its application in environmental samples. *RSC Adv.* 5, 39209–39217. <https://doi.org/10.1039/C5RA02799C>
- Ambaye, T.G., Formicola, F., Sbaaffoni, S., Prasad, S., Milanese, C., Robustelli della Cuna, F.S., Franzetti, A., Vaccari, M., 2023. Treatment of petroleum hydrocarbon contaminated soil by combination of electro-Fenton and biosurfactant-assisted bioslurry process. *Chemosphere* 138013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138013>
- Andrioli, N.B., Soloneski, S., Laramendy, M.L., Mudry, M.D., 2012. Cytogenetic and microtubule array effects of the zineb-containing commercial fungicide formulation Azzurro® on meristematic root cells of Allium cepa L. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 742, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.11.014>
- APHA, AWWA, WEF, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed. Washington, DC.
- Arshad, R., Bokhari, T.H., Javed, T., Bhatti, I.A., Rasheed, S., Iqbal, M., Nazir, A., Naz, S., Khan, M.I., Khosa, M.K.K., Iqbal, M., Zia-ur-Rehman, M., 2020. Degradation product distribution of Reactive Red-147 dye treated by UV/H₂O₂/TiO₂ advanced oxidation process. *J. Mater. Res. Technol.* 9, 3168–3178. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.01.062>
- Bao, T., Wang, P., Hu, B., Wang, X., Qian, J., 2023. Mobilization of colloids during sediment resuspension and its effect on the release of heavy metals and dissolved organic matter. *Sci. Total Environ.* 861, 160678. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160678>
- Bavasso, I., Montanaro, D., Petrucci, E., 2022. Ozone-based electrochemical advanced oxidation processes. *Curr. Opin. Electrochem.* 34, 101017. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2022.101017>
- Borba, F.H., Hahn, C.L., Mayer, I., Seibert, D., Guimarães, R.E., Inticher, J.J., Zorzo, C.F., Kreutz, G.K., 2022a. New hybrid strategy of the photo-Fered-Fenton process assisted by O₃ for the degradation of wastewater from the pretreatment of biodiesel

production. Chemosphere 306, 135470.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135470>

Borba, F.H., Hahn, C.L., Mayer, I., Seibert, D., Guimarães, R.E., Inticher, J.J., Zorzo, C.F., Kreutz, G.K., 2022b. New hybrid strategy of the photo-Fered-Fenton process assisted by O₃ for the degradation of wastewater from the pretreatment of biodiesel production. Chemosphere 135470.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135470>

Borba, F.H., Hahn, C.L., Mayer, I., Seibert, D., Guimarães, R.E., Inticher, J.J., Zorzo, C.F., Kreutz, G.K., 2022c. New hybrid strategy of the photo-Fered-Fenton process assisted by O₃ for the degradation of wastewater from the pretreatment of biodiesel production. Chemosphere 306, 135470.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135470>

Borba, F.H., Pellenz, L., Bueno, F., Inticher, J.J., Braun, L., Espinoza-Quiñones, F.R., Trigueros, D.E.G., de Pauli, A.R., Módenes, A.N., 2018a. Pollutant removal and biodegradation assessment of tannery effluent treated by conventional Fenton oxidation process. *J. Environ. Chem. Eng.* 6, 7070–7079.
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.11.005>

Borba, F.H., Schmitz, A., Pellenz, L., Bueno, F., Kasper, N., Wenzel, B.M., Baroni, S., Dall’Oglio, I.C., Módenes, A.N., 2018b. Genotoxicity and by-products assessment in degradation and mineralization of Ciprofloxacin by UV/H₂O₂ process. *J. Environ. Chem. Eng.* 6, 6979–6988. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.10.068>

Brillas, E., 2022. Fenton, photo-Fenton, electro-Fenton, and their combined treatments for the removal of insecticides from waters and soils. A review. *Sep. Purif. Technol.* 284, 120290. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.120290>

Brillas, E., 2014. Electro-Fenton, UVA photoelectro-Fenton and solar photoelectro-Fenton treatments of organics in waters using a boron-doped diamond anode: a review. *J. Mex. Chem. Soc.* 58, 239–255.

Brillas, E., Garcia-Segura, S., 2020. Benchmarking recent advances and innovative technology approaches of Fenton, photo-Fenton, electro-Fenton, and related processes: A review on the relevance of phenol as model molecule. *Sep. Purif. Technol.* 237, 116337. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116337>

Brillas, E., Sirés, I., Oturan, M.A., 2009. Electro-Fenton Process and Related Electrochemical Technologies Based on Fenton’s Reaction Chemistry. *Chem. Rev.* 109, 6570–6631. <https://doi.org/10.1021/cr900136g>

Chozhavendhan, S., Vijay Pradhap Singh, M., Fransila, B., Praveen Kumar, R., Karthiga Devi, G., 2020. A review on influencing parameters of biodiesel production and purification processes. *Curr. Res. Green Sustain. Chem.* 1–2, 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2020.04.002>

Coha, M., Farinelli, G., Tiraferri, A., Minella, M., Vione, D., 2021. Advanced oxidation processes in the removal of organic substances from produced water: Potential,

configurations, and research needs. *Chem. Eng. J.* 414, 128668. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128668>

da Silva Brito, G.F., Oliveira, R., Grisolia, C.K., Guirra, L.S., Weber, I.T., de Almeida, F.V., 2019. Evaluation of advanced oxidative processes in biodiesel wastewater treatment. *J. Photochem. Photobiol. Chem.* 375, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.01.013>

De Jonge, M., Teuchies, J., Meire, P., Blust, R., Bervoets, L., 2012. The impact of increased oxygen conditions on metal-contaminated sediments part I: Effects on redox status, sediment geochemistry and metal bioavailability. *Water Res.* 46, 2205–2214. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.01.052>

Dolatabadi, M., Ahmadzadeh, S., 2020. Microplastics Pollution in the Aquatic Environment: Problems and Challenges. *Ssu-Jehsd* 5, 980–981. <https://doi.org/10.18502/jehsd.v5i2.3383>

Dolatabadi, M., Ahmadzadeh, S., 2018. Phthalates as Emerging Pollutants in Water Environment: Control & Treatment Strategies. *J. Environ. Health Sustain. Dev.* 3, 554–556.

Dolatabadi, M., Akbarpour, R., Ahmadzadeh, S., 2022a. Catalytic ozonation process using ZnO/Fe₂O₃ nanocomposite for efficient removal of captopril from aqueous solution. *Anal. Methods Environ. Chem. J.* 5, 31–39.

Dolatabadi, M., Ehrampoush, M.H., Pournamdari, M., Ebrahimi, A.A., Fallahzadeh, H., Ahmadzadeh, S., 2023a. Simultaneous electrochemical degradation of pesticides from the aqueous environment using Ti/SnO₂–Sb₂O₃/PbO₂/Bi electrode; process modeling and mechanism insight. *Chemosphere* 311, 137001. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137001>

Dolatabadi, M., Ghorbanian, A., Ahmadzadeh, S., 2022b. Degradation of High-Concentration of Perchloroethylene from Aqueous Solution Using Electro-Fenton Process. *Ssu-Jehsd* 7, 1676–1683. <https://doi.org/10.18502/jehsd.v7i2.9790>

Dolatabadi, M., Hajebrahimi, Z., Malekahmadi, R., Ahmadzadeh, S., 2022c. Electrochemical Oxidation Approach towards the Treatment of Acetamiprid Pesticide from Polluted Water. *Ssu-Jehsd* 7, 1561–1570. <https://doi.org/10.18502/jehsd.v7i1.8966>

Dolatabadi, M., Świergosz, T., Wang, C., Ahmadzadeh, S., 2023b. Accelerated degradation of groundwater-containing malathion using persulfate activated magnetic Fe₃O₄/graphene oxide nanocomposite for advanced water treatment. *Arab. J. Chem.* 16, 104424. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104424>

Eckert, G.L., Smaniotto, T.Â., Dartora, N., Pelegrin, C.M.G. de, Baroni, S., 2022. The chemical composition of different leaf extracts of *Lantana fucata* Lindl. influences its cytotoxic potential: A study using the *Allium cepa* model. *J. Ethnopharmacol.* 289, 115003. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115003>

Espinoza-Quiñones, F.R., Dall’Oglio, I.C., de Pauli, A.R., Romani, M., Módenes, A.N., Trigueros, D.E.G., 2021. Insights into brewery wastewater treatment by the electro-Fenton hybrid process: How to get a significant decrease in organic matter and toxicity. *Chemosphere* 263, 128367. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128367>

Espinoza-Quiñones, F.R., Fornari, M.M.T., Módenes, A.N., Palácio, S.M., da Silva, F.G., Szymanski, N., Kroumov, A.D., Trigueros, D.E.G., 2009. Pollutant removal from tannery effluent by electrocoagulation. *Chem. Eng. J.* 151, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.043>

Fenech, M., 2020. Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay Evolution into a More Comprehensive Method to Measure Chromosomal Instability. *Genes* 11. <https://doi.org/10.3390/genes11101203>

Fernandes, A., Gągol, M., Makoś, P., Khan, J.A., Boczkaj, G., 2019. Integrated photocatalytic advanced oxidation system (TiO₂/UV/O₃/H₂O₂) for degradation of volatile organic compounds. *Sep. Purif. Technol.* 224, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.05.012>

Fernandes, T.C.C., Mazzeo, D.E.C., Marin-Morales, M.A., 2007. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pestic. Biochem. Physiol.* 88, 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.12.003>

Flores, I.S., Godinho, M.S., de Oliveira, A.E., Alcantara, G.B., Monteiro, M.R., Menezes, S.M.C., Lião, L.M., 2012. Discrimination of biodiesel blends with ¹H NMR spectroscopy and principal component analyses. *Fuel* 99, 40–44. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.04.025>

Frangos, P., Wang, H., Shen, W., Yu, G., Deng, S., Huang, J., Wang, B., Wang, Y., 2016. A novel photoelectro-peroxone process for the degradation and mineralization of substituted benzenes in water. *Chem. Eng. J.* 286, 239–248. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.096>

Ghazal, H., Koumaki, E., Hoslett, J., Malamis, S., Katsou, E., Barcelo, D., Jouhara, H., 2022. Insights into current physical, chemical and hybrid technologies used for the treatment of wastewater contaminated with pharmaceuticals. *J. Clean. Prod.* 361, 132079. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132079>

Gu, S., Liu, X., wang, H., Liu, Z., Xing, H., Yu, L., 2023. Preparation and characterization of TiO₂ photocatalytic composites supported by blast furnace slag fibres for wastewater degradation. *Ceram. Int.* 49, 5180–5188. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.10.035>

Guo, Y., Zhan, J., Yu, G., Wang, Y., 2021. Evaluation of the concentration and contribution of superoxide radical for micropollutant abatement during ozonation. *Water Res.* 194, 116927. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116927>

Inticher, J.J., Cabrera, L.C., Guimarães, R.E., Zorzo, C.F., Pellenz, L., Seibert, D., Borba, F.H., 2021a. Advanced treatment of water contaminated with atrazine,

difenoconazole and fipronil mixture, its by-products and bio-toxicity levels. *J. Environ. Chem. Eng.* 9, 105883. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105883>

Inticher, J.J., Cabrera, L.C., Guimarães, R.E., Zorzo, C.F., Pellenz, L., Seibert, D., Borba, F.H., 2021b. Advanced treatment of water contaminated with atrazine, difenoconazole and fipronil mixture, its by-products and bio-toxicity levels. *J. Environ. Chem. Eng.* 9, 105883. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105883>

Kalu-Uka, G.M., Kumar, S., Kalu-Uka, A.C., Vikram, S., Okorafor, O.O., Kigozi, M., Iheweme, G.O., Onwualu, A.P., 2021. Prospects for biodiesel production from *Macrotermes nigeriensis*: Process optimization and characterization of biodiesel properties. *Biomass Bioenergy* 146, 105980. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.105980>

Korpe, S., Rao, P.V., 2021. Application of advanced oxidation processes and cavitation techniques for treatment of tannery wastewater—A review. *J. Environ. Chem. Eng.* 9, 105234. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105234>

Kumar, V., Shah, M.P., 2021. 1 - Advanced oxidation processes for complex wastewater treatment, in: Shah, M.P. (Ed.), *Advanced Oxidation Processes for Effluent Treatment Plants*. Elsevier, pp. 1–31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821011-6.00001-3>

Leme, D.M., Angelis, D. de F. de, Marin-Morales, M.A., 2008. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. *Aquat. Toxicol.* 88, 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.04.012>

Leme, D.M., Marin-Morales, M.A., 2009. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutat. Res. Mutat. Res.* 682, 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>

Manasfi, T., 2021. Chapter Four - Ozonation in drinking water treatment: an overview of general and practical aspects, mechanisms, kinetics, and byproduct formation, in: Manasfi, T., Boudenne, J.-L. (Eds.), *Comprehensive Analytical Chemistry, Analysis and Formation of Disinfection Byproducts in Drinking Water*. Elsevier, pp. 85–116. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2021.02.003>

Mandal, P., Dubey, B.K., Gupta, A.K., 2017. Review on landfill leachate treatment by electrochemical oxidation: Drawbacks, challenges and future scope. *Waste Manag.* <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.08.034>

Muruganandham, M., Swaminathan, M., 2004. Decolourisation of Reactive Orange 4 by Fenton and photo-Fenton oxidation technology. *Dyes Pigments* 63, 315–321. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2004.03.004>

Nabatian, E., Dolatabadi, M., Ahmadzadeh, S., 2022. Application of experimental design methodology to optimize acetaminophen removal from aqueous environment by magnetic chitosan@ multi-walled carbon nanotube composite: Isotherm, kinetic, and regeneration studies. *Anal. Methods Environ. Chem.* J. 5, 61–74.

Nasya binti Ramlee, N., Mahdi, H.I., Wan Azelee, N.I., 2022. Chapter 7 - Biodiesel production using enzymatic catalyst, in: Gurunathan, B., Sahadevan, R., Zakaria, Z.A. (Eds.), Biofuels and Bioenergy. Elsevier, pp. 133–169. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85269-2.00017-4>

Nidheesh, P.V., Gandhimathi, R., 2012. Trends in electro-Fenton process for water and wastewater treatment: An overview. *Desalination* 299, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.05.011>

Nogueira, R.F.P., Oliveira, M.C., Paterlini, W.C., 2005. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. *Talanta* 66, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.10.001>

Pan, H., Huang, Y., Li, J., Li, B., Yang, Y., Chen, B., Zhu, R., 2022. Coexisting oxidation and reduction of chloroacetaldehydes in water by UV/VUV irradiation. *Water Res.* 214, 118192. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118192>

Pellenz, L., Borba, F.H., Daroit, D.J., Lassen, M.F.M., Baroni, S., Zorzo, C.F., Guimarães, R.E., Espinoza-Quiñones, F.R., Seibert, D., 2020b. Landfill leachate treatment by a boron-doped diamond-based photo-electro-Fenton system integrated with biological oxidation: A toxicity, genotoxicity and by products assessment. *J. Environ. Manage.* 264, 110473. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110473>

Pellenz, L., Borba, F.H., Daroit, D.J., Lassen, M.F.M., Baroni, S., Zorzo, C.F., Guimarães, R.E., Espinoza-Quiñones, F.R., Seibert, D., 2020a. Landfill leachate treatment by a boron-doped diamond-based photo-electro-Fenton system integrated with biological oxidation: A toxicity, genotoxicity and by products assessment. *J. Environ. Manage.* 264, 110473. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110473>

Peng, J., Wang, G., Zhang, Dahai, Zhang, Dongmei, Li, X., 2016. Photodegradation of nonylphenol in aqueous solution by simulated solar UV-irradiation: The comprehensive effect of nitrate, ferric ion and bicarbonate. *J. Photochem. Photobiol. Chem.* 326, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2016.04.015>

Peyton, G.R., Glaze, W.H., 1988. Destruction of pollutants in water with ozone in combination with ultraviolet radiation. 3. Photolysis of aqueous ozone. *Environ. Sci. Technol.* 22, 761–767.

Phugare, S.S., Kalyani, D.C., Patil, A.V., Jadhav, J.P., 2011. Textile dye degradation by bacterial consortium and subsequent toxicological analysis of dye and dye metabolites using cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. *J. Hazard. Mater.* 186, 713–723. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.11.049>

Rekhate, C.V., Srivastava, J.K., 2020. Recent advances in ozone-based advanced oxidation processes for treatment of wastewater- A review. *Chem. Eng. J. Adv.* 3, 100031. <https://doi.org/10.1016/j.ceja.2020.100031>

Ribeiro, C., Scheufele, F.B., Alves, H.J., Kroumov, A.D., Espinoza-Quiñones, F.R., Módenes, A.N., Borba, C.E., 2019. Evaluation of hybrid neutralization/biosorption process for zinc ions removal from automotive battery effluent by dolomite and fish

scales. Environ. Technol. 40, 2373–2388.
<https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1441332>

Romani, M., Espinoza-Quiñones, F.R., Módenes, A.N., Borba, C.E., 2020. New insights into the improvement of electrocoagulation performance on the basis of a time-integrated performance index: The pivotal role of electrical conductivity. *J. Environ. Chem. Eng.* 8, 103902. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103902>

Seibert, D., Henrique Borba, F., Bueno, F., Inticher, J.J., Módenes, A.N., Espinoza-Quiñones, F.R., Bergamasco, R., 2019. Two-stage integrated system photo-electro-Fenton and biological oxidation process assessment of sanitary landfill leachate treatment: An intermediate products study. *Chem. Eng. J.* 372, 471–482. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.04.162>

Seibert, D., Zorzo, C.F., Borba, F.H., de Souza, R.M., Quesada, H.B., Bergamasco, R., Baptista, A.T., Inticher, J.J., 2020. Occurrence, statutory guideline values and removal of contaminants of emerging concern by Electrochemical Advanced Oxidation Processes: A review. *Sci. Total Environ.* 748, 141527. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141527>

Sharma, S., Sharma, A.K., Verma, S., Dodiya, H.S., 2014. International Journal of Chemical Studies. *Int. J. Chem. Stud.* 2.

Sharma, S., Simsek, H., 2019. Treatment of canola-oil refinery effluent using electrochemical methods: A comparison between combined electrocoagulation + electrooxidation and electrochemical peroxidation methods. *Chemosphere* 221, 630–639. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.066>

Syafiuddin, A., Chong, J.H., Yuniarto, A., Hadibarata, T., 2020. The current scenario and challenges of biodiesel production in Asian countries: A review. *Bioresour. Technol. Rep.* 12, 100608. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100608>

Tewari, R., Horemans, N., Nauts, R., Wannijn, J., Van Hees, M., Vandenhove, H., 2015. Uranium exposure induces nitric oxide and hydrogen peroxide generation in *Arabidopsis thaliana*. *Environ. Exp. Bot.* 120, 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.08.004>

Vanhoudt, N., Vandenhove, H., Smeets, K., Remans, T., Van Hees, M., Wannijn, J., Vangronsveld, J., Cuypers, A., 2008. Effects of uranium and phosphate concentrations on oxidative stress related responses induced in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 987–996. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.06.003>

Wang, Xinglin, Wang, Xuelin, Mi, J., Du, Q., Wang, Y., Chen, W., Sun, D., Song, W., Shao, M., Jia, R., 2023. UV/H₂O₂/O₃ removal efficiency and characterization of algal-derived organic matter and odorous substances. *J. Environ. Chem. Eng.* 11, 109128. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.109128>

Wang, Z., Lin, X., Huang, Y., Ma, L., 2022. The role of hydroxylation on-OH generation for enhanced ozonation of benzoic acids: Reactivity, ozonation efficiency and radical formation mechanism. *J. Hazard. Mater.* 431, 128620. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128620>

Wen, Q., Ma, M., Hou, H., Yu, W., Gui, G., Wu, Q., Xiao, K., Zhu, Y., Tao, S., Liang, S., Liu, B., Hu, J., Yang, J., 2022. Recirculation of reject water in deep-dewatering process to influent of wastewater treatment plant and dewaterability of sludge conditioned with Fe²⁺/H₂O₂, Fe²⁺/Ca(ClO)₂, and Fe²⁺/Na₂S₂O₈: From bench to pilot-scale study. Environ. Res. 203, 111825. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111825>

Yu, Han, Dou, D., Zhang, X., Zhang, L., Dong, H., Yu, Hongbing, 2020. Degradation of Norfloxacin in saline water by synergistic effect of anode and cathode in a novel photo-electrochemical system. J. Clean. Prod. 242, 118548. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118548>

Yu, J.Q., Ye, S.F., Zhang, M.F., Hu, W.H., 2003. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. Biochem. Syst. Ecol. 31, 129–139. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(02\)00150-3](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00150-3)

Zahedi, S., Asadipour, A., Dolatabadi, M., Ahmadzadeh, S., 2022. Response surface modeling for the treatment of methylene blue from aqueous media using electro-Fenton process before determination by UV-VIS spectrometer: Kinetic and degradation mechanism. Anal. Methods Environ. Chem. J. 5, 39–50.

Zorzo, C.F., Inticher, J.J., Borba, F.H., Cabrera, L.C., Dugatto, J.S., Baroni, S., Kreutz, G.K., Seibert, D., Bergamasco, R., 2021a. Oxidative degradation and mineralization of the endocrine disrupting chemical bisphenol-A by an eco-friendly system based on UV-solar/H₂O₂ with reduction of genotoxicity and cytotoxicity levels. Sci. Total Environ. 770, 145296. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145296>

Zorzo, C.F., Inticher, J.J., Borba, F.H., Cabrera, L.C., Dugatto, J.S., Baroni, S., Kreutz, G.K., Seibert, D., Bergamasco, R., 2021b. Oxidative degradation and mineralization of the endocrine disrupting chemical bisphenol-A by an eco-friendly system based on UV-solar/H₂O₂ with reduction of genotoxicity and cytotoxicity levels. Sci. Total Environ. 770, 145296. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145296>