Glauco Aurélio Roloff

**Degradação do hormônio estradiol por eletrólise,
fotólise e fotoeletrocatalise**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de
mestre em Ciências. (Físico-Química)

Orientador: Prof. Dr. Germano Tremiliosi Filho

São Carlos

2007

DEDICATÓRIA

*Ao amor da minha vida, minha esposa Thatiany.
Aos meus maravilhosos pais Getulio e Rosa e à
minha querida irmã, Débora, por terem
compartilhado este trabalho comigo, sempre com
muita paciência, carinho e apoio nas decisões
mais difíceis.*

Amo muito todos vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela ajuda e motivação em mais uma etapa da vida.

Agradeço a minha esposa Thatiany, pela compreensão, paciência, amor e ser um incentivo, em todos os momentos.

Aos meus pais Getulio Roloff e Rosa Roloff e minha irmã Débora, pois tenho vocês como alicerce exemplo de vida a ser seguido.

. Ao Prof. Dr. Germano Tremiliosi Filho pela credibilidade depositada, amizade, orientação e sugestões na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Éder T. G. Carvalho pela disponibilidade do laboratório.

A Prof.^a Maria Valnice B. Zanoni pelas sugestões e disponibilidade do laboratório.

Aos amigos da república: Helton Wiggers, Marins Danczuk e Sidney Xavier (Puff).

Para a amiga Fabiana Paschoal pela disponibilidade, paciência e ajuda em muitos momentos.

Aos amigos do grupo de eletroquímica: Bruno, Camilo, Daniela, Eduardo, Emerson, Fabio, Gustavo, Jairo, Janete, Kenia, Luciano, Márcia, Roberto e demais colegas do IQSC.

Aos professores IQSC, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Mauro técnico do CAQUI, pela disponibilidade e auxílio.

A Andréia, Silvia, Fátima, Eliana, Bernadete e Regina e demais secretárias e bibliotecárias do IQSC, sempre muito prestativas.

A toda minha família, pelo apoio.

RESUMO

Neste projeto investigou-se o uso de três técnicas: (i) eletrólise, (ii) fotoeletrocatalise e (iii) fotólise, na degradação do hormônio estradiol, comumente encontrado nos esgotos domésticos, e que geram sérias preocupações com a ação nefasta que podem provocar na vida selvagem e humana.

Os ensaios eletroquímicos foram realizados sobre eletrodos de platina e carbono vítreo. A técnica de fotoeletrocatalise foi aplicada empregando-se placas de titânio recobertas com nanocamadas de TiO_2 . Como fonte de radiação ultravioleta utilizou-se uma lâmpada de vapor de mercúrio de 125 W tanto na fotoeletrocatalise como na fotólise. Através dos estudos da oxidação do estradiol por voltametria cíclica, sobre os eletrodos acima mencionados, foi possível definir o seu potencial de oxidação em soluções de KCl e tampão fosfato (pH 7), sobre platina e carbono vítreo. Estes parâmetros serviram de base para a realização das eletrólises sob condições controladas. A fotoeletrocatalise do estradiol foi realizada sobre Ti/TiO_2 preparado por técnica sol-gel e se mostrou muito mais efetiva que a eletrólise eletrolítica. Finalmente, a fotólise também foi testada empregando-se apenas a lâmpada de vapor de mercúrio. Neste último caso a degradação do estradiol foi ligeiramente inferior que aquela observada por fotoeletrocatalise. Identificou-se que em soluções de KCl há a formação de hipoclorito, o que auxilia o processo oxidativo do estradiol. Espectroscopia de UV-vís e cromatografia líquida (HPLC) foram empregadas para acompanhar os processos de degradação. Apesar de ter sido observado o surgimento de bandas e picos cromatográficos devidos aos produtos formados, não foi possível identifica-los.

ABSTRACT

In this project the use of three techniques was investigated: (i) electrolysis, (ii) photoelectrocatalysis and (iii) photolysis, in the degradation of the hormone estradiol, commonly found in the domestic sewers. This hormone can generate serious concerns with a disastrous action that can provoke in the wild and human life.

The electrochemistry studies were accomplished on platinum and glassy carbon electrodes. The photoelectrocatalysis technique was applied using titanium plate covered with nanolayers of TiO_2 . As a source of ultra-violet radiation was used a lamp bulb of mercury vapor of 125 W for the photoelectrocatalysis as also in the photolysis. Through the studies of the oxidation of the estradiol by cyclic voltammetry, on the electrodes above mentioned, it was possible to define the oxidation potential of the organic specie in both solutions, KCl and phosphate buffers (pH 7), for platinum and glassy carbon. These parameters served as base for the realization of the electrolysis under controlled conditions. The photoelectrocatalysis of the estradiol was accomplished on Ti/TiO_2 prepared by sol-gel technique and it was shown much more effective than the electrolytic electrolysis. Finally, the photolysis was also tested being just used the mercury vapor lamp. In this last case the degradation of the estradiol was lightly inferior to that observed by photoelectrocatalysis. It was identified that in solutions of KCl there is the hypochlorite formation, what aids the oxidation of the estradiol. Spectroscopy of UV-vis and high performance liquid chromatography (HPLC) were used to accompany the degradation processes. In spite of the appearance of bands and chromatographic peaks owed to the formed products having been observed, however, it were not possible identify them.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do estradiol.....	4
Figura 2: Mecanismo para fotoativação de um semicondutor	9
Figura 3: Esquema da fotoativação num sistema fotoeletrocatalítico.....	11
Figura 3.1: Célula de vidro de dois compartimentos utilizadas nas medidas eletroquímicas.....	17
Figura 3.2: Sistema e célula utilizado na fotoeletrocatalise e fotólise: (a) célula de vidro, (1) compartimento anódico; (2) compartimento catódico; (3) conexão de teflon (membrana de náfion); (4) eletrodo de Ti/TiO ₂ (eletrodo de trabalho); (5) lâmpada de vapor de mercúrio de 125 W; (6) eletrodo de Pt (contra eletrodo); (7) eletrodo de Ag/AgCl (eletrodo de referência) e capilar de Luggin; (8) tampa de teflon; (9) tubo de quartzo, (b) sistema de refrigeração, (c) caixa de isolamento.....	19
Figura 3.3: Representação dos eletrodos e o capilar de Luggin utilizados nas medidas eletroquímicas (a) e (b) eletrodo de trabalho, (c) contra eletrodo, (d) eletrodo de referência e (e) capilar de Luggin.....	21
Figura 4.1: Espectro de infravermelho obtido para o β -estradiol	28
Figura 4.2: Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de carbono vítreo em (a) KCl 0,1 mol L ⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,00. $v = 50$ mV s ⁻¹ . (—) presença de estradiol ($3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L ⁻¹), (—) branco.....	31
Figura 4.3: Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de carbono vítreo em solução de $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L ⁻¹ estradiol, (a) KCl 0,1 mol L ⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,00 com $v = 50$ mV s ⁻¹	33
Figura 4.4: Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidades de varredura entre 10 e 200 mV s ⁻¹ , utilizando eletrodo de carbono vítreo em solução $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L ⁻¹ estradiol em (a) KCl 0,1 mol L ⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,00.....	35
Figura 4.5: Dependência da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, entre 0,01 e 0,2 V s ⁻¹ , no eletrodo de carbono vítreo em solução $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L ⁻¹ estradiol em solução de (a) 0,1 mol L ⁻¹ KCl e (b) 0,1 mol L ⁻¹ tampão fosfato.....	37
Figura 4.6: Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de platina de (a) KCl 0,1 mol L ⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,00. $v = 50$ mV s ⁻¹ . (—) em solução contendo $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de estradiol e branco (—).	38

- Figura 4.7:** Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de platina em solução de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ 39
- Figura 4.8:** Voltamograma cíclico obtido em velocidades de varredura entre 10 e 200 mV s^{-1} , utilizando eletrodo de platina em solução $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ 40
- Figura 4.9:** Dependência da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, entre $0,01$ e $0,2 \text{ V s}^{-1}$, no eletrodo de platina em solução $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl.41
- Figura 4.10:** Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol no eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h.44
- Figura 4.11:** Foto das alíquotas coletadas para identificação de hipoclorito na degradação do estradiol em eletrólito de KCl por eletrólise sobre eletrodo de carbono vítreo em diferentes tempos de eletrólise: 0, 10, 30, 90, 210, 360 minutos (esquerda → direita).45
- Figura 4.12:** Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h, $\lambda = 220 \text{ nm}$46
- Figura 4.13:** Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de estradiol no eletrólito suporte tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h.47
- Figura 4.14:** Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h.48
- Figura 4.15:** Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol no eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h.49
- Figura 4.16:** Foto das alíquotas coletadas para identificação de hipoclorito na degradação do estradiol em eletrólito de KCl por eletrólise sobre eletrodo de platina em diferentes tempos de eletrólise: 0, 10, 30, 90, 210, 360 minutos (esquerda → direita).....50
- Figura 4.17:** Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h, $\lambda = 220 \text{ nm}$51
- Figura 4.18:** Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol no eletrólito suporte tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h.52
- Figura 4.19:** Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h, $\lambda = 220 \text{ nm}$53

- Figura 4.20:** Curvas de fotocorrente-potencial obtidas para eletrodo de Ti/TiO₂ sem irradiação (Curva A), e sob irradiação nas soluções tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7 (Curva B) e em KCl 0,1 mol L⁻¹ (Curva C) , velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹54
- Figura 4.21:** Espectros UV/Vis de 3,67.10⁻⁴ mol L⁻¹ estradiol em KCl 0,1 mol L⁻¹ , (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise por 3h30min.....57
- Figura 4.22:** Cromatogramas da solução 3,67 mol L⁻¹ estradiol em KCl 0,1 mol L⁻¹. Degradação (a) fotoeletrocatalítica e (b) fotólise, ambas por 3h30min, λ =220 nm.58
- Figura 4.23:** Gráfico da redução do pico cromatográfico do estradiol em função do tempo de degradação. Solução 3,67 mol L⁻¹ de estradiol em 0,1 mol L⁻¹ KCl. Técnicas: fotoeletrocatalise e fotólise, aplicadas por 3h30min.....59
- Figura 4.24:** Fotos das alíquotas coletadas para identificação de hipoclorito durante a degradação do estradiol em eletrólito de KCl por (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise.....61
- Figura 4.25:** Espectros UV/Vis de 3,67.10⁻⁴ mol L⁻¹ estradiol em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00, (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise por 3h30min.62
- Figura 4.26:** Cromatogramas da solução 3,67 mol L⁻¹ de estradiol em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00. Degradações por: (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise, tempo: 3h30min, λ =220 nm.....63
- Figura 4.27:** Gráfico da redução do pico cromatográfico do estradiol em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00, por fotoeletrocatalise e fotólise, em até 3h30min. ..64

LISTA DE ABREVIATURAS, SIMBOLOS E SIGLAS

- α - coeficiente de transferência
- BC** – Banda de condução
- BV** – Banda de valência
- CV** - Voltametria cíclica
- DAD** – Arranjo de diodos
- Δ - Calor
- E** – Potencial
- E_a** - Potencial de pico anódico
- E_p** – Potencial de pico
- ENH** – eletrodo normal de hidrogênio
- F** – Constante de Faraday
- FTIR** – Espectrofotômetro infravermelho
- h⁺** - lacuna
- h ν** - Radiação ultravioleta
- HPLC** - Cromatografia líquida de alta eficiência
- i** – Corrente
- i_p** - Corrente de pico
- i_{pa}** - Corrente de pico anódica
- λ - Comprimento de onda
- MW** – peso molecular
- n _{α}** - número de elétrons transferidos na etapa determinante
- π - transição eletrônica
- R** – Constante dos gases
- t_r** – tempo de retenção
- u.a.** – unidades arbitrárias
- UV-vís** – Ultravioleta visível
- v** - Velocidade de varredura

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	ii
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIMBOLOS E SIGLAS	ix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Apresentação	1
1.2 Estradiol (xeno-estrogênio)	4
1.3. Estudos eletroquímicos	7
1.4. Oxidação fotoeletrocatalise e fotólise	8
2 OBJETIVOS.....	13
3 PARTE EXPERIMENTAL	14
3.1 Reagentes e soluções	14
3.1.1 <i>Solução trabalho de estradiol.....</i>	14
3.1.2 <i>Solução cloreto de potássio</i>	14
3.1.3 <i>Soluções de fosfato.....</i>	15
3.1.4 <i>Solução de tampão fosfato pH 7,00.....</i>	15
3.1.5 <i>Soluções de ácido clorídrico</i>	15
3.1.6 <i>Solução de hidróxido de sódio</i>	15
3.1.7 <i>Solução de cloreto de bário</i>	15
3.1.8 <i>Solução de iodeto de potássio.....</i>	16
3.1.9 <i>Solução de ácido nítrico.....</i>	16
3.1.10 <i>Solventes</i>	16

3.2. Equipamentos	16
3.2.1 Sistema e célula eletroquímica	16
3.2.2 Sistema e célula fotoeletrocatalítica e fotólise	18
3.2.3 Eletrodos.....	20
3.2.3.1 Eletrodos para medidas eletroquímicas	20
3.2.3.2 Eletrodos para medidas fotoeletrocatalíticas.....	21
3.2.4 Espectrofotômetro infravermelho (FTIR).....	22
3.2.5 Espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-vís)	22
3.2.6 Cromatógrafo	22
3.3. Procedimento experimental.....	23
3.3.1 Espectrometria na região do infravermelho	23
3.3.2 Espectrometria no ultravioleta visível da solução de estradiol.....	23
3.3.3 Voltametria cíclica	23
3.3.4 Eletrólise a potencial controlado	24
3.3.5 Preparação do eletrodo de Ti/TiO ₂	24
3.3.6 Fotoeletrocatalise e fotólise	25
3.3.7 Análises cromatográficas.....	26
3.3.8 Análise de dióxido de carbono	27
3.3.9 Análise de cloratos (ClO ₃ ⁻)	27
3.3.10 Análise de hipoclorito de potássio (KClO).....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Caracterização do estradiol.....	28
4.2 Estudos voltamétricos para estradiol.....	30
4.2.1 Comportamento eletroquímico em eletrodo carbono vítreo	30
4.2.1.1 Efeito da velocidade de varredura.....	33
4.2.2 Comportamento eletroquímico em eletrodo platina	38
4.2.2.1 Efeito da velocidade de varredura.....	40
4.3 Oxidação eletroquímica (eletrólise) a potencial controlado	43
4.3.1 Oxidação eletroquímica a potencial controlado utilizando carbono vítreo como eletrodo de trabalho.....	43
4.3.2 Oxidação eletroquímica a potencial controlado utilizando platina como eletrodo de trabalho	49

4.4 Comportamento fotoeletrocatalítico do eletrodo de Ti/TiO₂	54
4.5 Degradação do estradiol por fotoeletrocatalise e fotólise	56
4.5.1 <i>Degradação do estradiol por fotoeletrocatalise e fotólise em solução de KCl</i>	56
4.5.2 <i>Degradação do estradiol por fotoeletrocatalise e fotólise em tampão fosfato</i>	61
4.6 Análise da possível formação de dióxido de carbono	65
5. CONCLUSÃO	66
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1 INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação

Recentemente, uma extensa variedade de contaminantes ambientais, que tem atraído considerável atenção foram identificados como potencialmente capazes de desregular o sistema endócrino das mais altas formas de vida animal, tais como, peixes, aves e mesmo os humanos^{1,2}. Levando a sérios impactos prejudiciais sobre a saúde da vida animal a longo prazo.

Os desreguladores endócrinos estão associados a toda substância ou mistura capazes de assumir idêntica função de um hormônio natural dos seres vivos ou inibir o funcionamento normal do mesmo, alterando as funções do sistema endócrino e conseqüentemente, prejudicando a saúde do organismo. Estas substâncias são na sua maioria poluentes químicos e derivados químicos antropogênicos, provenientes de pesticidas, plásticos, detergentes, lacas, tintas e outros materiais derivados de resíduos industriais ou domésticos. Genericamente, são compostos muito estáveis, também designados por poluentes orgânicos persistentes, o que facilita a rápida e vasta dispersão ambiental, tendo como principais veículos de dispersão os sistemas aquáticos³.

A função hormonal mais afetada por estes agentes artificiais é o mecanismo de regulação dos esteróides, que majoritariamente determinam as características sexuais e o comportamento das espécies, o que já é uma enorme preocupação com relação à saúde pública e ambiental⁴.

Uma complexa rede sinais e mensagens químicas constituem o sistema endócrino, que controlam as funções e reações corporais em quase todos os animais vertebrados e invertebrados, interagindo diretamente no sistema nervoso.

Nos humanos, é constituído por três partes distintas: (a) um conjunto de glândulas especializadas (hipotálamo, pituitárias, tiróide, pâncreas, etc), (b) por mensageiros químicos (hormônios sintetizados e segregados pelas glândulas) e (c) células alvos que recebem os hormônios e respondem às necessidades corporais. O mecanismo de acionamento do sistema endócrino tem início na reação das células nervosas a determinado estímulo (ex. fome, medo, etc) enviando um sinal às glândulas endócrinas. Estas, por sua vez, liberam os hormônios adequados que levarão instruções as células alvo onde se ligarão a receptores específicos que se localizam no núcleo. O receptor interpreta a mensagem hormonal e faz a tradução mediante de dois processos celulares, (a) ordena-se aos genes para produzir novas proteínas, o que causa efeitos em longo prazo, como é o caso da maturação sexual e reprodutiva e (b) altera a atividade de proteínas existentes na célula, provocando uma resposta rápida por parte do organismo, que se repercute, por exemplo, no ritmo cardíaco⁵, etc.

Os hormônios são substâncias de sinalização que viajam através da corrente sangüínea e suscitam respostas em outras partes do corpo. Nos animais podem ser diferenciados em dois tipos, dependendo da forma como são transmitidos e recebidos pelas células alvos: (a) os hormônios protéicos, não esteroideal, requerem emissores/receptores para se transferirem de uma célula para outra, uma vez que são muito pouco solúveis na membrana celular lipídica; (b) os hormônios esteroideais que derivam do colesterol, não precisam de emissores/receptores para atravessarem a membrana celular e difundir-se nas células, onde irão desempenhar ações intracelulares importantes (ex. síntese protéica), uma vez que são de menores dimensões e lipofílicos⁶.

Os hormônios esteroidais circulam livremente entre células alvo, interagindo no seu interior com receptores nucleares específicos formando complexos como o modelo chave/fechadura. São essenciais para a saúde do organismo tendo uma influência importante no metabolismo. Por exemplo, o estradiol é o hormônio responsável pela formação das características femininas, comportamento sexual, ciclos menstruais e ovulação. Além disso, influencia na formação óssea, no sistema cardiovascular, na memória, na pele e no sistema imunológico⁶.

O sistema hormonal no organismo é estimulado com pequeníssimas concentrações de esteróides, da ordem de partes por bilhão (ppb) ou mesmo partes por trilhão (ppt), sendo esta a principal razão porque traços ou vestígios de substâncias químicas exógenas podem ser muito perniciosos⁵.

O desregulamento do sistema endócrino está associado a duas categorias de compostos contaminantes: (i) aqueles que ocorrem naturalmente, como o estradiol, estrônio, estriol, etc; e (ii) aqueles que são artificialmente sintetizados, como o etinilestradiol, dietilestilbestrol, etc.

A grande maioria dos desreguladores endócrinos que no ambiente imitam a família dos hormônios esteroidais feminino, são designados por xeno-estrogênios (estrogênios estranhos) ou eco-estrogênios (estrogênios ambientais), não sendo, no entanto gerados ou produzidos por esse mesmo organismo. A suspeita quanto aos efeitos adversos causados pelos xeno-estrogênios foi constatada desde a década de 60 e em 1993 detectou-se uma relação entre os xeno-estrogênios e problemas no aparelho reprodutor masculino e feminino e em 1999 foi elaborada uma lista de substâncias classificadas como contendo potencial atividade estrogênica^{4,5}.

1.2 Estradiol (xeno-estrogênio)

Com o crescimento populacional, fez-se a necessidade do uso de hormônios (estradiol) em animais e peixes para consumo, para maximizar a produção (crescimento e desenvolvimento) e reduzir os custos, sendo o estradiol logo excretado pela urina do animal em quantidades significativas⁷⁻⁹.

As mulheres excretam pela urina, μg por dia, do hormônio natural feminino (estradiol), sendo este também um dos componentes constituintes de algumas pílulas contraceptivas. Estudos mostram que o organismo absorve apenas 10 % a 50 %, de fármacos (estradiol) o restante é excretado inalterado ou conjugado. Porém, a forma conjugada é muito sensível a eventuais ações bacterianas, conferindo novamente atividade estrogênica ao hormônio^{10,11}.

Os hormônios sexuais humanos como estradiol (hormônio feminino), testosterona (hormônio masculino) e hormônios relacionados (dehidro-isandrosterona, androstenediona e nortestosterona), representam papéis fundamentais em seres humanos em muitos aspectos. O estradiol dentre estes é considerado a molécula mais dura, devido a sua estabilidade e reatividade¹².

A estrutura química do estradiol (17 β -estradiol), de fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$ esta representadas na Figura 1:

Figura 1: Estrutura química do estradiol

Considerando que o hormônio estradiol está presente nos esgotos domésticos e águas naturais, nas concentrações da ordem ng L^{-1} ou $\mu\text{g L}^{-1}$, torna-se um importante tópico internacional. O estradiol encontra-se presente em ambientes aquáticos em varias partes do mundo, como Alemanha¹³, Canadá¹¹, Brasil¹¹, Estados Unidos¹⁴, Itália¹⁵, Japão¹⁶, França¹⁷, etc.

A contaminação de águas com estrogênios endógenos, especificamente, estradiol quando ingeridas por animais e humanos, apresenta sérios problemas especialmente no aparelho reprodutor.

Animais:

- como diminuição na taxa de reprodução (ex. peixes);
- nidificação com elementos de mesmo sexo entre determinados tipos de aves;
- surgimento de casos de pseudohermafrodismo em espécies marinhas;
- má formação genital de répteis;
- pode induzir câncer, acréscimo de mortalidade precoce, etc;

Humanos:

- constatou-se o decaimento na produção de esperma;
- aumento de casos de cancro nos órgãos genitais;
- disfunções dos ovários;
- infertilidade nas mulheres;
- feminismo e mau formação congênitas no feto, entre outros^{18,19}.

A séria preocupação com respeito à ação nefasta provocada pelo estradiol, quando exposto ou ingerido involuntariamente cria uma necessidade urgente de remover este hormônio do ambiente.

Na perspectiva focada se vislumbra a enorme importância de tratar sistemas aquáticos contaminados, uma vez que são os principais veículos de dispersão ambientais do contaminante^{20,21}.

A remoção do estradiol contido em efluentes urbanos é um dos grandes desafios da atualidade. Já foram propostos diversos tratamentos diferenciados até o presente, como, fotocatálise²²⁻²⁴, biodegradação²⁵, ozonização²⁶, adsorção²⁷, reação enzimática²⁸, etc. Apresentando diferentes eficiências de remoção do estradiol. Por exemplo, a fotodegradação estudada na remoção de estrogênios conjugados, como, estradiol-3-glucuronido, estradiol-17-glucuronido, estrônio-3-glucuronido e estrônio-sulfato, foram submetidos a fotodegradação sobre dióxido de titânio. O estradiol, estradiol-17-glucuronido e estrônio foram quase que totalmente degradados pela radiação UV em 4 h. Por outro lado, 20-25% do estradiol-3-glucuronido, estrônio-3-glucuronido e 90% do estrônio-sulfato não sofreram degradação, mesmo após 6,5 h de irradiação²⁹.

A aplicação da fotocatálise para a remoção de várias espécies estrogênicas, entre elas o hormônio aqui considerado, empregando-se o catalisador de dióxido de titânio, apresentou capacidade de reduzir a estrogenidade do estradiol³⁰, tornando-se um caminho atrativo para se estudado, combinado com a oxidação eletroquímica do estradiol, que pela técnica de voltametria cíclica observou-se um pico voltamétrico bem definido.

1.3. Estudos eletroquímicos

O comportamento eletroquímico do estradiol foi investigado sobre eletrodo de carbono vítreo empregando-se a técnica de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. A quantificação do estradiol por ambas as técnicas se deu no intervalo de concentrações entre 4×10^{-5} e 10^{-3} mol L⁻¹, que exibiu uma relação linear entre a concentração e a corrente de pico. O método foi aplicado com sucesso na determinação de estradiol em soro sanguíneo³¹.

Quando a superfície do carbono vítreo é modificada a sensibilidade de análise aumenta significativamente. Em geral, os estrogênios produzem um pico de oxidação voltamétrica bem definido sobre carbono vítreo modificado por náfon na presença de brometo de cetilmetilamônio. A corrente de pico para a oxidação do estradiol é proporcional a sua concentração no intervalo de concentrações de $2,5 \times 10^{-8}$ a $1,5 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e o limite de detecção foi de 1×10^{-9} mol L⁻¹ depois de 6 minutos de acumulação³². Por outro lado, quando o carbono vítreo é nano-modificado por dispersão superficial de Al₂O₃, exibe um grande aumento na corrente de oxidação do estradiol na presença de brometo de cetilmetilamônio. O limite de detecção, neste caso, foi de 8×10^{-8} mol L⁻¹ para uma acumulação de apenas 2 minutos. A resposta do eletrodo se mostrou linear no intervalo de concentrações entre 4×10^{-7} a 4×10^{-5} mol L⁻¹³³. Uma alteração no substrato de carbono vítreo para filmes de carbono diamantado e dopado com boro, modificado com tirosinase foi testado para a determinação de várias espécies estrogênicas, entre elas o estradiol. Este eletrodo foi aplicado em um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) que mostrou resposta amperométrica ao estradiol com um limite de detecção abaixo de 1 μmol L⁻¹. O comportamento eletroquímico do estradiol e outros

estrogênios foram estudado com o objetivo de estabelecer aspectos mecanísticos e moleculares envolvidos nos seus processos de oxidação³⁴⁻³⁶.

1.4. Oxidação fotoeletrocatalise e fotólise

As reações fotoquímicas são iniciadas pela absorção de radiações eletromagnéticas por uma molécula. A radiação ultravioleta é muito energética podendo fotolisar muitas ligações químicas, levando a degradação da molécula, sendo assim a fotólise uma via de degradação de elevada importância.

A fotocatalise tem sido extensivamente estudada desde a década de setenta⁵¹, para tratamentos de águas e esgotos porque não é tóxica, apresenta estabilidade fotoquímica e custos razoáveis. Nesta técnica, a oxidação de substâncias orgânicas pode ser normalmente alcançada com um catalisador semicondutor de TiO_2 sobe iluminação UV³⁷.

Muitos semicondutores como TiO_2 , WO_3 , SrO_2 , ZrO_2 , ZnO , Fe_2O_3 , CeO_2 , CdS and ZnS , tem sido investigado com relação as propriedades catalíticas e degradações fotocatalíticas de contaminantes ambientais^{38,40}. Entre os semicondutores, o TiO_2 é o mais utilizado em processos fotocatalíticos devido as varias características favoráveis, dentre as quais se destacam:

- estabilidade fotoquímica;
- potencial da banda de valência adequado para catalisar reações redox;
- baixo custo;
- estabilidade química numa ampla faixa de pH;
- insolubilidade em água;
- possibilidade de imobilização sobre sólidos;

- não apresenta problemas ambientais;
- promove a formação de radicais hidroxila ($\text{OH}^\bullet$) que é um agente altamente oxidante ($E = +2,72 \text{ V vs. ENH}$)^{41,42}.

Por esta razão, o TiO_2 tornou-se um dos semicondutores mais utilizados na fotodegradação de compostos orgânicos.

O princípio da fotocatalise envolve a ativação de um semicondutor, onde as reações fotocatalíticas redox se processam segundo as seguintes etapas:

- excitação com luz de energia maior que o “band gap” do semicondutor;
- geração de pares elétrons/lacunas (e^-/h^+);
- reação redox entre espécies adsorvidas e cargas fotogeradas;
- desorção dos produtos da reação redox com a consequente regeneração do semicondutor para reiniciar o processo.^{30,37}

O mecanismo de fotoativação do semicondutor esta ilustrado na Figura 2.

Figura 2: Mecanismo para fotoativação de um semicondutor ⁴³.

Onde,

os elétrons e as lacunas podem sofrer recombinação interna ou participar de reações de oxi-redução. A recombinação interna ocorre com liberação de calor^{42,43}.

As reações que ocorrem nos processos fotocatalíticos, na superfície do eletrodo, podem-se observar a formação de radicais hidroxila, pelas lacunas (h^+) geradas na banda de valência no deslocamento dos elétrons para a banda de condução. Radicais hidroxila, espécie de vida curta que apresentam elevado poder oxidativo, à maioria das moléculas orgânicas.

ou

Os elétrons da banda de condução reagem com o oxigênio ou água na superfície do eletrodo, fazendo a redução dos mesmo⁴⁴.

ou

Entretanto devido a dificuldade da remoção das partículas dos fotocatalisadores da fase aquosa depois de terminado o tratamento, fez-se a necessidade de imobilizar os fotocatalisadores, nos diferentes materiais como por exemplo titânio recoberto com nanocamadas de TiO_2 , pelas técnicas sol-gel e processos de oxidação anódica⁴⁴.

A eficiência do processo fotocatalítico também pode ser aumentada quando for combinada com a aplicação de um potencial positivo fixo sob iluminação UV, uma

vez que retarda a recombinação de cargas no semicondutor, aumentando assim o tempo de vida do par e^-/h^+ . Adicionalmente, se for realizado a adição de pequenas quantidades controladas de impurezas metálicas no semicondutor (dopagem), existe a possibilidade de aumentar a velocidade de transferência de carga, aumentando a eficiência do processo^{38,39}.

Assim, a fotoeletrocatalise do orgânico pode ocorrer na superfície do eletrodo de TiO_2 (ânodo), iluminado e mantido sob potencial positivo constante. Neste caso, o água adsorvido sobre a superfície do TiO_2 doa elétrons às lacunas vazias sobre o fotocatalisador, gerando radicais hidroxila, que oxidam assim o orgânico. O oxigênio dissolvido ou água podem ser aceptores de elétrons, estes que são conduzidos da banda de condução até o contra eletrodo (cátodo) neste sistema. Uma representação do esquema esta na Figura 3^{45,46}.

Figura 3: Esquema da fotoativação num sistema fotoeletrocatalítico^{41,47}.

A utilização de fotoeletrocatalise não foi testada na degradação do estradiol, mas está sendo usada em outros sistemas, como ex. corantes têxtil⁴⁸ etc^{37,46,47}.

Seria natural iniciar os estudos empregando-se este caminho, como subsídio para aplicar a fotoeletrocatalise.

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo estudar a degradação do hormônio estradiol, que por ser considerado um desregulador hormonal é altamente prejudicial ao meio ambiente e é encontrado em sistemas aquáticos urbanos. As técnicas de eletrólise, fotoeletrocatalise e fotólise serão empregadas com o intuito de eliminar completamente a atividade estrogênica do estradiol. Os estudos serão realizados em dois meios, tampão fosfato, pH 7 e solução de KCl 0,1 mol L⁻¹.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico (P.A.) e usados sem purificação prévia. Todas as soluções foram preparadas em água ultra-pura purificada em sistema Milli-Q (Millipore).

3.1.1 *Solução trabalho de estradiol*

As soluções trabalho contendo estradiol $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, foram preparadas pela diluição do estradiol em etanol e água na proporção etanol/água 1:1 (v/v). Na água foram dissolvidos os eletrólitos suportes KCl ou tampão fosfato. As concentrações dos eletrólitos suporte nas soluções trabalho final de estradiol foi $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato pH 7,00. A solução de KCl foi empregada com o intuito de simular descartes domésticos, que contém altas quantidades de íons cloretos. A solução tampão foi usada para se ter controle de meios com pH neutros, como ocorre em geral nos corpos aquáticos.

3.1.2 *Solução cloreto de potássio*

A solução de cloreto de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foi preparada dissolvendo-se 0,745 g de KCl (J. T. Backer) em 1000 mL de água.

3.1.3 Soluções de fosfato

As soluções estoques de fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram preparadas dissolvendo-se 26,80 g de fosfato dibásico de sódio (Mallinckrodt) em 1000 mL de água e 13,80 g de fosfato monobásico de sódio (Mallinckrodt) em 1000 mL de água.

3.1.4 Solução de tampão fosfato pH 7,00

A solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00 foi preparada a partir das soluções estoques de fosfato anteriormente citadas, nas proporções volumétricas adequadas, para obtenção do pH 7,00.

3.1.5 Soluções de ácido clorídrico

A solução de ácido clorídrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diluindo-se o volume de 42 mL do ácido clorídrico (J. T. Backer), em 1000 mL de água. Solução de ácido clorídrico 2 mol L^{-1} foi preparada diluindo-se o volume de 17 mL do ácido clorídrico (J. T. Backer), em 100 mL de água, ambos padronizados.

3.1.6 Solução de hidróxido de sódio

A solução de hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 20,00 g de hidróxido de sódio (Mallinckrodt) em 1000 mL de água.

3.1.7 Solução de cloreto de bário

A solução de cloreto de bário $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 24,44g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Mallinckrodt) em 1000 mL de água.

3.1.8 Solução de iodeto de potássio

A solução de iodeto de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 1,66g e KI (Merck) em 100 mL de água.

3.1.9 Solução de ácido nítrico

A solução de ácido nítrico clorídrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diluindo-se o volume de 6,4 mL do ácido nítrico (J. T. Backer), em 200 mL de água.

3.1.10 Solventes

Nas determinações cromatográficas, os solventes utilizados foram acetronitrila (HPLC solvente, J. T. Backer) e metanol (HPLC solvente, J. T. Backer).

3.2. Equipamentos

3.2.1 Sistema e célula eletroquímica

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula de dois compartimentos representado na Figura 3.1, com capacidade volumétrica total de 60 mL (40 mL no compartimento do eletrodo de trabalho e 20 mL no compartimento do

contra eletrodo) sendo separados por uma membrana de Náfion, para evitar a mistura das soluções.

Os eletrodos de trabalhos utilizados nos experimentos foram de carbono vítreo e de platina. O eletrodo de referência Ag/AgCl, foi colocado no compartimento de trabalho utilizando-se um capilar de Luggin. Um eletrodo de platina de área $2,5 \text{ cm}^2$, foi utilizado como eletrodo auxiliar.

Figura 3.1: Célula de vidro de dois compartimentos utilizadas nas medidas eletroquímicas.

Realizaram-se as medidas voltamétricas, empregadas na determinação do potencial de oxidação do estradiol, utilizando-se um potenciostato da autolab PGSTAT 30, acoplado a um microcomputador e controlado pelo programa GPES-4.9. Nas eletrólises a potencial controlado utilizou-se um potenciostato microquímica (MQPG-01).

3.2.2 Sistema e célula fotoeletrocatalítica e fotólise

Os estudos foram efetuados em uma célula de vidro de 230 mL de capacidade total, dividida em dois compartimentos, onde 150 mL no compartimento do eletrodo de trabalho e 80 mL no compartimento do contra eletrodo, sendo separados por uma membrana de Náfion, para evitar a mistura das soluções.

Um tubo de quartzo de diâmetro 2,4 cm e comprimento de 11,5 cm foi acoplado no centro do compartimento de trabalho, por meio do qual foi inserida uma lâmpada de vapor de mercúrio de 125 W (sem o bulbo protetor). O eletrodo de trabalho Ti/TiO₂ em formato cilíndrico, foi arranjado concentricamente na célula rodeando o tubo de quartzo e separados a 0,7 cm, observados na Figura 3.2(a).

O eletrodo de referência Ag/AgCl foi acoplado ao compartimento de trabalho através de um capilar de Luggin. No compartimento do contra eletrodo foi usado um eletrodo de platina em formato de grade.

Os eletrodos eram conectados ao potenciostato microquímica (MQPG-01), para manter uma diferença de potencial constante.

A célula era refrigerada mergulhando-a em um banho de água no controlador de temperatura (Cole-Parmer), mantendo-se a temperatura a 20 °C. Uma caixa recoberta com papel de alumínio foi utilizada para isolar a radiação da lâmpada. A célula e os sistemas utilizados podem ser observados na Figura 3.2(b) e (c).

Nos estudos envolvendo fotólise, a mesma célula foi utilizada, apenas a lâmpada foi acionada sem a presença dos eletrodos.

Figura 3.2: Sistema e célula utilizado na fotoeletrocatalise e fotólise: (a) célula de vidro, (1) compartimento anódico; (2) compartimento catódico; (3) conexão de teflon (membrana de náíon); (4) eletrodo de Ti/TiO₂ (eletrodo de trabalho); (5) lâmpada de vapor de mercúrio de 125 W; (6) eletrodo de Pt (contra eletrodo); (7) eletrodo de Ag/AgCl (eletrodo de referência) e capilar de Luggin; (8) tampa de teflon; (9) tubo de quartzo, (b) sistema de refrigeração, (c) caixa de isolamento.

3.2.3 Eletrodos

3.2.3.1 Eletrodos para medidas eletroquímicas

Nas voltametrias cíclicas, assim como nas eletrólises a potencial controlado, os eletrodos de trabalho utilizados foram os de carbono vítreo e platina.

No eletrodo de carbono vítreo utilizou-se uma placa de carbono vítreo com área $0,855 \text{ cm}^2$, fixada em resina. O contato elétrico foi estabelecido conectando-se um fio de cobre ao carbono vítreo com o auxílio de cola de prata (EPO-TEK 410E, Epoxy Technology). Uma representação do eletrodo de carbono vítreo pode ser observada na Figura 3.3(a).

Este eletrodo foi escolhido por apresentar propriedades especiais como: boa condutividade eletrônica, ampla faixa de potencial disponível para análises eletroquímicas, baixa resistividade elétrica, alta resistência a ataques químicos, baixa porosidade e permeabilidade a gases e líquidos^{49,40}.

O eletrodo de platina utilizado como eletrodo de trabalho foi, uma placa de área $2,4 \text{ cm}^2$, soldada a um fio de platina com 1 cm de comprimento conectado a um fio de cobre, para contato elétrico. Este eletrodo foi montado em suporte de vidro como representado na Figura 3.3(b).

Como o eletrodo de referência foi utilizado Ag/AgCl. A montagem se fez com um fio de prata de 30 mm de comprimento e diâmetro de 0,5 mm que foi recoberto com cloreto de prata por eletrólise, utilizando-se uma solução saturada de cloreto de potássio, aplicando uma corrente de $2,5 \text{ mAcm}^2$. Após a eletrólise este foi mantido em um tudo de vidro com solução saturada de cloreto de potássio. Estão representados o eletrodo e o capilar de Luggin na Figura 3.4 (d) e (e).

A estabilidade e reprodutibilidade desse eletrodo foram verificadas através da medida de potencial contra o eletrodo padrão de hidrogênio.

Utilizou-se platina de área $2,5 \text{ cm}^2$, como eletrodo auxiliar, soldada a um fio de platina de 1 cm de comprimento conectado a um fio de cobre, para contato elétrico, este eletrodo foi montado em suporte de vidro representado na Figura 3.3(c).

Figura 3.3: Representação dos eletrodos e o Capilar de Luggin utilizados nas medidas eletroquímicas (a) e (b) eletrodo de trabalho, (c) contra eletrodo, (d) eletrodo de referência e (e) capilar de Luggin.

3.2.3.2 Eletrodos para medidas fotoeletrocatalíticas

Utilizou-se placa titânio (Realum - Ind. Com. Ltda.), que foi moldada em formato cilíndrico, com diâmetro 3,5 cm e comprimento 5 cm, recoberto com filme de dióxido de titânio, formando o eletrodo de trabalho de Ti/TiO_2 .

Como eletrodo de referência foi utilizado o mesmo eletrodo descrito no item 3.2.3.1

Utilizou-se como eletrodo auxiliar uma grade de platina com 3 cm de largura por 3 cm de comprimento, o contato elétrico foi feito por um fio de platina.

3.2.4 Espectrofotômetro infravermelho (FTIR)

Utilizou o espectrofotômetro Bomem modelo MB-102, que corresponde com número de onda entre 4000 a 400 cm^{-1} .

3.2.5 Espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-vís)

Utilizou-se o equipamento espectrofotométrico Varian do modelo Cary 5G/UV-vís-NIR, que corresponde com comprimento de onda entre 200 a 800 nm.

3.2.6 Cromatógrafo

Neste estudo o cromatógrafo utilizado foi de sistema cromatografia líquida alta eficiência (HPLC), Shimadzu modelo SCL-10AVP, com uma bomba modelo LC-6AD, com detector de UV-visível SPD-10AVP com sistema arranjo de diodos (DAD) consiste de um injetor manual (seringa), com um volume de injeção ajustado para 20 μL . A coluna cromatográfica utilizada foi LC-18 Supelcosil, com 150 mm de comprimento, diâmetro de 5 μm .

3.3. Procedimento experimental

3.3.1 Espectrometria na região do infravermelho

O espectro de infravermelho foi obtido a partir da amostra de estradiol, retirada diretamente do frasco e prensada com KBr em pastilhas, o qual foi comparado com a literatura⁵⁰, para atestar a qualidade do produto. Esta técnica não foi utilizada para caracterizar os produtos das degradações, pois os mesmos foram obtidos em pequenas quantidades.

3.3.2 Espectrometria no ultravioleta visível da solução de estradiol

Foram obtidos espectros UV-vís, das soluções de estradiol $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, utilizados posteriormente para a comparação na literatura e determinação do comprimento de onda para método cromatográfico com detecção de arranjo de diodos. E para observar o comportamento das soluções de estradiol degradadas nos tempos determinados.

3.3.3 Voltametria cíclica

As medidas voltamétricas para a determinação estradiol foram realizadas com desaeração da solução após borbulhamento com nitrogênio por 20 min. A superfície dos eletrodos de carbono vítreo foi renovada entre cada determinação, com feltro e o eletrodo de platina com solução de permanganato de potássio e peróxido de hidrogênio.

Foram realizadas medidas de voltametria cíclica para verificar o comportamento eletroquímico do estradiol, os potenciais de oxidação e redução. As medidas foram feitas com estradiol na concentração de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , entre 0 e 1000 mV (vs. Ag/AgCl).

Também estudou-se o efeito da velocidade de varredura de potenciais em voltametria cíclica, com velocidades entre 10 e 200 mV s^{-1} para $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de estradiol nos eletrólitos utilizados.

3.3.4 Eletrólise a potencial controlado

A fim de se observar a degradação do estradiol, foram realizadas eletrólises das soluções de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de estradiol, sob agitação magnética constante. Os potenciais aplicados foram de 2,5 V para o eletrodo de carbono vítreo e 1,5 V para o eletrodo de platina. Eletrólitos suportes utilizados foram KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00. O tempo de eletrólise foi de 6 horas, a cada 10, 30, 90, 210 e 360 min foram retiradas alíquotas da solução para que a degradação do estradiol e os produtos formados pudessem ser acompanhados em relação ao tempo de eletrólise por UV-vís e HPLC. O pH inicial e final foram medidos.

3.3.5 Preparação do eletrodo de Ti/TiO_2

Foi utilizado tetraisopropóxido de titânio (Aldrich) para preparação da suspensão coloidal de TiO_2 , o tetraisopropóxido de titânio foi adicionado em uma solução de ácido nítrico em água, de modo que a razão molar manteve a seguinte

proporção 1:0,5:200 de $\text{Ti}/\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}$. O precipitado obtido foi agitado continuamente até completa peptização, para obtenção de uma suspensão estável. Esta suspensão foi dialisado em água, utilizando-se uma membrana de diálise Micropore (3500 MW), o pH da solução final foi de 3,5.⁵¹

O eletrodo de titânio foi construído através de uma chapa de titânio de 0,5 mm de espessura no formato cilíndrico de 3,5 cm de diâmetro e comprimento 5 cm. O eletrodo foi lavado com detergente, acetona, submetido ao banho de ultrassom e então lavado com água. Secou-se em estufa e calcinou-se a 350 °C por três horas.

O eletrodo limpo e seco foi imerso na suspensão anteriormente preparada, e retirando-o a uma velocidade constante utilizando-se o aparelho de imersão (dip-coating) para a deposição do filme fino de TiO_2 . Depois seco em estufa e calcinado a 350 °C por três horas, completando um ciclo. Foram realizados cinco ciclos adicionais⁵¹.

3.3.6 Fotoeletrocatalise e fotólise

As degradações do estradiol, foram realizadas por fotoeletrocatalise das soluções de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol sob agitação constante com borbulhamento de gás nos dois compartimentos. A lâmpada de 125 W e intensidade de radiação de $26,500 \text{ mW/cm}^2$ era acionada 30 segundos antecipadamente ao potencial aplicado de 1,00 V para o aquecimento da mesma. O eletrodo de trabalho utilizado foi $\text{Ti}/\text{nano-partículas TiO}_2$. Os eletrólitos suportes foram KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00. O tempo de fotoeletrocatalise foi de 3 h 30 min, e de tempos determinados 2, 5, 10, 30, 90 e 210 min, foram retiradas alíquotas da

solução para acompanhamento da degradação do estradiol e dos produtos formados sendo analisados pelas técnicas de UV-vís e HPLC.

Nos estudos envolvendo fotólise, as degradações das soluções $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} de estradiol, em eletrólitos de KCl $0,1$ mol L^{-1} e tampão fosfato $0,1$ mol L^{-1} pH 7,00, sob agitação constante, foi acompanhado por 3 h 30 min de degradação. As alíquotas coletadas da solução nos tempos de 2, 5, 10, 30, 90 e 210 min eram acompanhados em relação ao tempo de degradação por UV-vís e HPLC. Foi medido o pH inicial antes e após as degradações fotoeletrocatalítica e fotólise.

3.3.7 Análises cromatográficas

A etapa inicial da análise qualitativa por HPLC, consistiu na otimização dos parâmetros experimentais como: escolha da coluna, composição da fase móvel e fluxo da fase móvel.

A eluição da fase móvel foi feita no modo isocrático, com a proporção dos solventes: acetonitrila/metanol/água de 50:30:20, com um fluxo de $0,5$ mL min^{-1} , temperatura 25 °C. No sistema DAD, os comprimentos de onda selecionados para a quantificação foram 220 nm e 280 nm para as soluções de estradiol injetadas nos tempos de degradações. Serão apresentados neste trabalho somente os espectros em 220 nm, pois os espectros em 280 nm possuem semelhante perfil cromatográfico.

3.3.8 Análise de dióxido de carbono

O CO₂ foi analisado tanto na fase gasosa quanto em solução. Na fase gasosa o CO₂ dissolvido na solução foi arrastado por um fluxo de N₂ e coletado por precipitação em três tubos em série com solução de 0,5 mol L⁻¹ de NaOH + 0,1 mol L⁻¹ de BaCl₂ e a determinação da concentração foi feita por titulação potenciométrica com padrão ácido (0,5 mol L⁻¹ de HCl). Na fase aquosa, por titulação, também foi feita a determinação direta do CO₂ presente na solução de estradiol no tempo inicial e no tempo final de cada técnica de degradação usada. O primeiro ponto de equivalência é do hidróxido, e o segundo ponto de equivalência é do álcali total e por subtração deste com o primeiro dado, o volume ácido requerido para a formação do carbono foi obtido^{52,53}.

3.3.9 Análise de cloratos (ClO₃⁻)

A fim de observar a presença de clorato durante as degradações do estradiol em KCl 0,1 mol L⁻¹, foram adicionadas nas alíquotas gotas de ácido sulfúrico concentrado. Na presença de clorato haverá formação de gás de coloração amarelo-esverdeado⁵⁴.

3.3.10 Análise de hipoclorito de potássio (KClO)

Para verificar a formação de hipoclorito de potássio durante as degradações em meio de cloreto, adicionou-se nas alíquotas coletadas nos tempos das degradações 2 a 3 gotas de solução de iodeto de potássio amidado 0,1 mol L⁻¹ e acidificado com ácido clorídrico diluído 2 mol L⁻¹. Na presença de hipoclorito a solução apresenta uma coloração vermelho-púrpura^{52,54}.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do estradiol

Para a caracterização do estradiol, foi obtido o espectro de infravermelho, apresentado na Figura 4.1, onde se observa as bandas características do β -estradiol.

Figura 4.1: Espectro de infravermelho obtido para o β -estradiol

Na Tabela 4.1 estão apresentadas as atribuições de algumas das principais bandas do β -estradiol.

Tabela 4.1: Atribuições das principais bandas do estradiol⁵⁵.

Estradiol (cm ⁻¹)	Atribuição
3436–3227	Deformação axial de O–H, larga, em ligação de hidrogênio intermolecular
3013	Deformação axial C–H: aromático
2964	assimétrica CH ₃
2872	simétrica CH ₃
2923	assimétrica CH ₂
2851	simétrica CH ₂
1605	
1498	Deformação axial de C=C do anel
1454	
1248	
1227	Deformação angular de O–H, possivelmente confundida com a deformação angular no plano de C–H, 1209 cm ⁻¹ .
1051	
1017	Deformação axial de C–O
808	
727	Deformação angular fora do plano de C–H

O espectro da Figura 4.1, quando comparado com a literatura observou-se as mesmas bandas características, confirmando assim que se trata do β -estradiol, eliminando qualquer suspeita da possibilidade da presença de ser α -estradiol⁵⁰.

4.2 Estudos voltamétricos para estradiol

Primeiramente a técnica de voltametria cíclica, foi utilizada para caracterizar o estradiol, onde pôde-se encontrar o potencial de redox, o grau de reversibilidade da reação, a ocorrência ou não de processos na superfície dos eletrodos e o número de elétrons envolvidos na reação. Posteriormente a técnica de voltametria linear foi utilizada para caracterizar o eletrodo de Ti/TiO₂. Após a obtenção dos parâmetros eletroquímicos, a espécie orgânica foi submetida a três diferentes rotinas de degradação: (a) eletrólise, (b) fotoeletrocatalise e (c) fotólise, com o objetivo de eliminar completamente a atividade estrogênica do estradiol.

4.2.1 Comportamento eletroquímico em eletrodo carbono vítreo

O comportamento voltamétrico do estradiol sobre eletrodo de carbono vítreo pode ser observado na Figura 4.2. Soluções de (a) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00 foram empregadas como eletrólitos suportes, tanto na presença de 3,67.10⁻⁴ mol L⁻¹ de estradiol, bem como na sua ausência (branco). A velocidade de varredura usada foi de 50 mV s⁻¹.

Figura 4.2: Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de carbono vítreo em (a) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (—) presença de estradiol ($3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), (—) branco.

Observa-se na Figura 4.2 que os voltamogramas apresentam um pico de oxidação referente ao estradiol nas duas soluções eletrolíticas estudadas. O potencial de pico anódico para a oxidação de estradiol, tendo como eletrólitos suporte as soluções de KCl e tampão fosfato, foi respectivamente de $E_a = 0,80 \text{ V}$ e $E_a = 0,75 \text{ V}$. Pelo fato dos voltamogramas experimentais não exibirem os correspondentes processos catódicos, isto indica que se trata de um sistema eletroquímico irreversível.

Pode-se observar dos voltamogramas, na presença de estradiol, que a corrente de pico em eletrólito tampão fosfato é menor que aquela obtida em KCl, isto pode estar associado com o coeficiente de difusão do estradiol nos diferentes eletrólitos suporte.

Os voltamogramas da Figura 4.3 ilustram o comportamento dos ciclos voltamétricos sucessivos obtidos em solução de estradiol com os eletrólitos (a) KCl e (b) tampão fosfato pH 7,00. Observa-se um decréscimo sistemático da corrente de pico com as varreduras repetitivas. A redução na corrente de pico pode ser atribuída

ou a formação de produto de oxidação não-eletroativo, ou a deposição de produto eletropolimerizável, ou produto que torna-se adsorvido na superfície do eletrodo, o que resulta numa inibição na velocidade de transferência de elétron na superfície do eletrodo ou numa inibição na transferência de massa do estradiol para o eletrodo. Outra hipótese para a redução do pico de corrente pode estar relacionada com a possibilidade de formação de ligações intra- e inter-hidrogênio entre diferentes moléculas⁵⁶. A tendência da corrente de pico atingir um limite de decréscimo com os sucessivos ciclos, deve-se ao fato da superfície do eletrodo recobrir-se apenas parcialmente pelo produto de oxidação^{33,57}.

Outra observação a ser feita quanto aos ciclos sucessivos é que o potencial de pico torna-se mais positivo com o aumento do número de ciclos, sugerindo uma ligeira inibição da reação pelo produto formado na superfície do eletrodo. As camadas dos produtos de oxidações do estradiol adsorvidos na superfície do eletrodo podem suprimir parcialmente a oxidação do estradiol, devido a formação de uma camada protetora, modificando o potencial na superfície, originando potenciais mais positivos para oxidar o estradiol³³.

Figura 4.3: Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de carbono vítreo em solução de $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ estradiol, (a) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00 com $v = 50$ mV s⁻¹.

4.2.1.1 Efeito da velocidade de varredura

O efeito da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica do eletrodo carbono vítreo foi investigado em solução $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ estradiol em (a) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7. Os resultados obtidos variando a velocidade de varredura entre 10 e 200 mV s⁻¹, onde os 1º ciclos em cada velocidade de varredura estão representados na Figura 4.4. Os voltamogramas cíclicos mostram um aumento na intensidade de corrente de pico anódico com o aumento da velocidade de varredura. Adicionalmente, quanto ao potencial de pico, observam-se dois efeitos diferentes dependendo do eletrólito suporte empregado. Em soluções de KCl, o potencial de pico se mantém constante para velocidades de varredura entre 25 e 200 mV/s, apenas em 10 mV/s observa-se um deslocamento de 45 mV no E_p para potenciais mais positivos. Em tampão fosfato, o potencial de pico

desloca-se continuamente para potenciais menores, com o aumento da velocidade de varredura.

A proporcionalidade entre o potencial de pico (E_p) e a velocidade de varredura (v), para um processo irreversível, é dada pela equação abaixo³³:

$$E_p \propto [0,5RT(\alpha n_\alpha F)^{-1} \ln v] \quad (4.1)$$

onde, R e F são as constantes dos gases e de Faraday, respectivamente, α é o coeficiente de transferência e n_α é o número de elétrons participante da etapa determinante da velocidade reacional.

Da equação acima fica claro que deve haver uma dependência linear entre E_p e $\ln v$. O que de fato é observado para o tampão fosfato. Entretanto, o coeficiente angular calculado foi da ordem de 75 mV, valor da ordem de três vezes superior ao esperado (25,7 mV) para um processo de transferência monoeletrônica puramente irreversível. Isto mostra que apesar de ter sido observado uma relação linear entre E_p e $\ln v$, o coeficiente angular não é compatível com o previsto para um processo puramente difusional. O que indica que em tampão fosfato deve haver algum processo cinético acoplado com o processo difusional e/ou com a transferência de carga. Nas suposições feitas acima considerou-se que há transferência de apenas 1 elétron, isto está fundamentado no fato de que, em geral, a etapa determinante das reações eletroquímicas são monoeletrônica ($n_\alpha = 1$). Adicionalmente, o coeficiente angular teórico previsto para a dependência E_p vs. $\ln v$ é de $26/n_\alpha$ mV, tomando valor mais próximo do coeficiente angular experimental (75 mV) se n_α for unitário.

Por outro lado, para o eletrólito de KCl, a equação acima não se aplica, uma vez que há uma invariância de E_p com $\ln v$, o que indica claramente que o processo eletródico apresenta algum tipo de complicação, ou seja, uma reação paralela predominante, além da oxidação eletroquímica do estradiol.

Os estudos de ciclagem sucessivas, para os dois eletrólitos suportes empregados, de fato, já haviam indicados indícios de complicações cinéticas ou de bloqueio parcial da superfície eletródica, como discutido na seção anterior e que agora fica mais evidenciado este tipo de complicação.

Figura 4.4: Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidades de varredura entre 10 e 200 mV s^{-1} , utilizando eletrodo de carbono vítreo em solução $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em (a) KCl 0,1 mol L^{-1} e (b) tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} pH 7,00.

A corrente de pico para um sistema irreversível é descrita pela equação⁵⁸.

$$i_p = \pm 2,99 \cdot 10^5 n(\alpha n_\alpha)^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (4.2)$$

Na qual, i_p é a corrente de pico, n é o número de elétrons envolvidos na reação redox, A é a área do eletrodo (cm^2), C é a concentração da espécie eletroativa (mol cm^{-3}), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), n_α é o número de elétrons transferidos na etapa determinante da velocidade, α é o coeficiente de transferência de carga eletroquímico e v é a velocidade de varredura (V s^{-1}). O sinal positivo (+) ou negativo (-) representa os processos de oxidação ou redução, respectivamente. De acordo com a Equação 4.2, i_p aumenta linearmente com a raiz

quadrada da velocidade de varredura, quando todas as outras condições forem mantidas constantes.

Observa-se na Figura 4.5, a relação entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura para a oxidação do estradiol nos dois eletrólitos suporte empregados e sobre eletrodo de carbono vítreo.

A análise da dependência da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura apresentou linearidade com coeficiente de correlação de 0,995 para solução estradiol em KCl e coeficiente de correlação de 0,994 para solução de estradiol em tampão fosfato. Estes coeficientes indicam que a transferência de carga parece ser preferencialmente controlada por difusão^{31,58}. Os correspondentes coeficientes angulares encontrados foram de $2,771 \times 10^{-4} \text{ A (V s}^{-1})^{-1/2}$ em KCl e $1,911 \times 10^{-4} \text{ A (V s}^{-1})^{-1/2}$ em tampão fosfato, que levaram ao cálculo de coeficientes de difusão de $1,7 \times 10^{-5}$ e $8,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, respectivamente. Nestes cálculos foi suposto que $n = n_\alpha = 1$ ^{33,35}. Estes valores encontrados para os coeficientes de difusão são da ordem de grandeza dos valores tipicamente conhecidos ($10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$). Entretanto, não se pode considerar que o processo de oxidação seja puramente controlado por difusão, uma vez que anteriormente foi detectado que deve haver complicações cinéticas envolvidas.

Figura 4.5: Dependência da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, entre 0,01 e 0,2 $V s^{-1}$, no eletrodo de carbono vítreo em solução $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em solução de (a) 0,1 mol L^{-1} KCl e (b) 0,1 mol L^{-1} tampão fosfato.

Um mecanismo sugerido para a oxidação do estradiol, com transferência de um elétron, envolve o grupo hidroxila no anel aromático, com a perda de um próton, H^+ , produzindo um radical fenoxi, representado no Esquema 1 a seguir.

Esquema 1: Mecanismo de reação proposto para a oxidação eletroquímica do estradiol⁵⁷.

4.2.2 Comportamento eletroquímico em eletrodo platina

Estudos voltamétricos utilizando o eletrodo de platina podem ser observados na Figura 4.6 para as soluções de (a) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00 como eletrólitos suportes na presença e na ausência de 3,67.10⁻⁴ mol L⁻¹ de estradiol, na velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

Figura 4.6: Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de platina de (a) KCl 0,1 mol L⁻¹ e (b) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (—) em solução contendo 3,67.10⁻⁴ mol L⁻¹ de estradiol e branco (—).

No voltamograma acima (Fig. 4.6a) observa-se um pico anódico referente a oxidação do estradiol em eletrólito de KCl no potencial de 0,77 V. O processo oxidativo do estradiol em eletrólito tampão fosfato foi observado em um potencial de 0,70 V. O voltamograma na ausência de estradiol (branco, Fig. 4.6b), em solução tampão fosfato, também apresentou um pico na mesma região onde ocorre a oxidação do estradiol. Devido a esta complicação por sobreposição, os estudos do comportamento voltamétrico do estradiol sobre eletrodo de platina serão apenas realizados para o eletrólito suporte de KCl. As correntes voltamétricas obtidas sobre

platina é bem maiores que as observadas sobre carbono vítreo, da ordem de 5-6 vezes. Isto se deve ao fato de que sobre platina a oxidação de estradiol ocorre dentro da região de geração de oxigênio molecular, o que facilita o processo oxidativo devido a grande disponibilidade de espécies oxigenadas para promover a oxidação do orgânico.

Como para o eletrodo de carbono vítreo, quando se realiza varreduras sucessivas empregando-se eletrodo de platina, observa-se uma diminuição da corrente de pico com os sucessivos ciclos, como pode ser visto na Figura 4.7. Anteriormente, este efeito foi atribuído a vários fatores como, formação de produto de oxidação não-eletoativo, deposição de produto eletropolimerizável, produto que torna-se adsorvido na superfície do eletrodo, o que resulta numa inibição na velocidade de transferência de elétron na superfície do eletrodo ou numa inibição na transferência de massa do estradiol para o eletrodo. Neste caso, o potencial de pico mantém-se constante no decorrer dos sucessivos ciclos.

Figura 4.7: Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo de platina em solução de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2.2.1 Efeito da velocidade de varredura

O efeito da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica do eletrodo de platina foi investigado em solução $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de estradiol em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 4.8 ilustra o efeito da variação de velocidade de varredura entre 10 e 200 mV s^{-1} .

Os voltamogramas cíclicos registrados mostram que com o aumento da velocidade de varredura, implica em um aumento na intensidade de corrente e em um ligeiro deslocamento dos potenciais de pico anódico. O leve deslocamento dos potenciais de pico são tão pequenos que não permitem observar a dependência entre E_p com $\ln v$, o que indica claramente que o processo eletródico apresenta algum tipo de complicação, ou seja, uma reação paralela predominante, além da oxidação eletroquímica do estradiol.

Figura 4.8: Voltamograma cíclico obtido em velocidades de varredura entre 10 e 200 mV s^{-1} , utilizando eletrodo de platina em solução $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Uma dependência linear entre i_p e $v^{1/2}$ está apresentada na Figura 4.9. O coeficiente de correlação é de 0,996. Este coeficiente indica que a transferência de carga parecer ser preferencialmente controlada por difusão^{31,58}. O correspondente coeficiente angular encontrado foi de $1,36 \times 10^{-3} \text{ A (V s}^{-1})^{-1/2}$ em KCl, o que leva ao cálculo de um coeficiente de difusão de $1,31 \times 10^{-5}$. Neste cálculo foi suposto que $n = 2$ e $n_\alpha = 1$ ^{33,35}. Entretanto, não se pode considerar que o processo de oxidação seja puramente controlado por difusão, uma vez que anteriormente foi detectado que deve haver complicações cinéticas envolvidas. O número de elétrons no caso do eletrodo de platina foi considerado como sendo 2 uma vez que as correntes voltamétricas para o eletrodo de platina são maiores que as observadas para o carbono vítreo.

Figura 4.9: Dependência da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, entre 0,01 e 0,2 V s^{-1} , no eletrodo de platina em solução $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em 0,1 mol L^{-1} KCl.

Na oxidação do estradiol o mecanismo sugerido é uma extensão daquele sugerido para o eletrodo de carbono vítreo, ou seja, considerou-se neste caso o envolvimento de 2 elétrons. Então, inicialmente ocorre a transferência de um elétron, associada com a perda de um próton da hidroxila no anel aromático, produzindo um radical fenoxi. A segunda transferência de elétron, acontece com a oxidação deste radical para íon fenóxido, seguido por uma reação química que conduz a formação de uma cetona, como representado no Esquema 2 a seguir.

Esquema 2: Mecanismo de reação proposto para a oxidação eletroquímica do estradiol⁵⁷.

4.3 Oxidação eletroquímica (eletrólise) a potencial controlado

A oxidação eletroquímica do estradiol a potencial controlado, utilizando-se como eletrodos de trabalho carbono vítreo e platina, foi efetuada com o propósito de verificar a sua degradação. Nestes estudos aplicou-se potenciais dentro da região de geração de oxigênio molecular, para aumentar a eficiência do processo oxidativo pela formação de espécies oxigenadas reativas. Todas as eletrólises foram realizados durante 6 horas e várias alíquotas foram periodicamente retiradas para acompanhar o decréscimo na concentração do estradiol.

4.3.1 Oxidação eletroquímica a potencial controlado utilizando carbono vítreo como eletrodo de trabalho

A degradação do estradiol pelo processo eletroquímico foi realizada por eletrólise aplicando um potencial de 2,5 V, valor maior que o potencial de oxidação do estradiol observado pela técnica de voltametria cíclica.

Na Figura 4.10 esta apresentado o espectro de UV-vís normalizado para a degradação eletroquímica do estradiol sobre eletrodo de carbono vítreo, em eletrólito de KCl. Alíquotas para análise foram coletadas nos tempos de 10, 30, 90, 210 e 360 min após o início da eletrólise.

Figura 4.10: Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol no eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h.

Observa-se nos espectros as bandas características do estradiol antes da oxidação (tempo 0), na região de 220 nm e 280 nm, que são originárias essencialmente das transições $\pi - \pi^*$ no anel benzênico do estradiol¹².

Durante a eletrólise em solução de KCl, surge uma banda em 250 nm que aumenta de intensidade (Fig. 4.10). Nota-se que as bandas em 220 e 280 nm não são afetadas. Então, como resultado final, observa-se o espectro como uma sobreposição das três bandas. A banda em 250 nm deve estar associada com a formação do fenox, como observado anteriormente³². Adicionalmente, observou-se que o pH da solução variou de 6,5 a 3,0 após seis horas de eletrólise. Os mecanismos propostos nos esquemas 1 e 2, sugerem que deve ocorrer uma diminuição no pH da solução eletrolítica.

As eletrólises em soluções de KCl podem paralelamente levar a formação de compostos clorados fortemente oxidantes, como ClO_x^- ($x = 1-4$), Cl_2^* e Cl^* , que podem potencialmente promover a oxidação indireta do estradiol. Em vista desta hipótese foram realizados testes para verificar se durante as eletrólises havia a formação de principalmente de hipoclorito e clorato. Assim, o teste da presença de hipoclorito foi realizado tomando-se alíquotas de 1 mL, coletadas em diferentes tempos, durante as eletrólises. Foram adicionadas a cada alíquota 2-3 gotas de solução mista de iodeto de potássio amidado $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido clorídrico 2 mol L^{-1} . A coloração das alíquotas mudaram para vermelho púrpura como pode ser visto na Figura 4.11. Pode-se observar da mesma, que para as eletrólises empregando-se eletrodo de carbono vítreo, a mudança de coloração tornava-se mais intensa, com o aumento do tempo de eletrólise. Sendo que o frasco da esquerda corresponde a solução sem sofrer eletrólise e os outros frascos na seqüência esquerda-direita os tempos de eletrólise foram respectivamente 10, 30, 90, 210 e 360 minutos. A forte alteração de coloração das soluções testes indica que foi formado hipoclorito durante as eletrólises do estradiol. Este oxidante formado com certeza deve contribuir para promover a degradação indireta do hormônio, paralelamente a oxidação direta pela aplicação de potencial.

Figura 4.11: Foto das alíquotas coletadas para identificação de hipoclorito na degradação do estradiol em eletrólito de KCl por eletrólise sobre eletrodo de carbono vítreo em diferentes tempos de eletrólise: 0, 10, 30, 90, 210, 360 minutos (esquerda → direita).

Adicionalmente foram feitos testes para identificação de clorato. Então, para isto adicionou-se ácido sulfúrico concentrado nas alíquotas. A presença de clorato pode ser observada se ocorrer a liberação de um gás de coloração amarelo-esverdeado (ClO_2). Como não foi observado o desprendimento do gás amarelo-esverdeado, ficou confirmado que não há formação de cloratos.

Finalmente, foram realizadas análises cromatográficas por HPLC para acompanhar o decréscimo da concentração de estradiol e os possíveis produtos formados durante as eletrólises em soluções de KCl e sobre carbono vítreo. Observa-se da Figura 4.12 que o pico do estradiol, no tempo de retenção de 4,55 minutos, diminui drasticamente após 30 minutos eletrólise. Adicionalmente, observa-se o surgimento de cinco picos, em tempos de retenção entre 5 e 11 minutos, que crescem de intensidade no decorrer da eletrólise. Estes picos correspondem aos produtos formados na oxidação do estradiol. Estes produtos ou parte deles podem estar associados com a banda espectral que surge no decorrer da eletrólise observada em 250 nm, dos espectros UV-vis apresentados na Figura 4.10.

Figura 4.12: Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h, $\lambda = 220 \text{ nm}$.

Na Figura 4.13 esta apresentado o espectro de UV-vis normalizado para a degradação eletroquímica do estradiol sobre eletrodo de carbono vítreo, em eletrólito de tampão fosfato pH 7,00. Alíquotas para análise foram coletadas nos tempos de 10, 30, 90, 210 e 360 min após o início da eletrólise. Observa-se que a sobreposição das bandas na região em 250 nm, como em eletrólito de KCl, não ocorreu. Na realidade não se observa qualquer alteração dos espectros entre 200 e 400 nm, no decorrer da eletrólise. O pH observado da solução de fosfato, apesar de tamponada variou de 7,00 para 4,00, após seis horas de eletrólise.

Figura 4.13: Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ de estradiol no eletrólito suporte tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h.

As análises cromatográficas por HPLC, Figura 4.14, para acompanhar a uma possível variação na concentração de estradiol durante as eletrólises em soluções de tampão fosfato, sobre carbono vítreo.

Figura 4.14: Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, em eletrodo de carbono vítreo, potencial 2,5 Volts, por 6h.

Observa-se no espectro que o pico do estradiol, aparece no tempo de retenção de 4,57 minutos. Após 10 minutos de eletrólise não se observa redução significativa na altura do pico, concordando com as análises feitas por UV/vís. Através das áreas destes picos, observa-se um decréscimo muito pouco acentuado. Conseqüentemente, observa-se o surgimento discreto de pequenos picos, em tempos de retenção entre 5 e 11 minutos. Estes picos apresentam os mesmos tempos de retenção dos picos observados nos cromatogramas da Figura 4.12, sugerindo a formação de produtos de oxidação semelhantes. Os produtos de oxidação formados, em KCl e tampão fosfato, não foram possíveis de serem identificados.

4.3.2 Oxidação eletroquímica a potencial controlado utilizando platina como eletrodo de trabalho

Foram realizadas eletrólises do estradiol, aplicando-se um potencial de 1,5 V. O valor do potencial aplicado é maior do que o potencial de pico de oxidação do estradiol, observado na voltametria cíclica.

Esta apresentado na Figura 4.15 o espectro normalizado de UV-vis da degradação eletroquímica do estradiol utilizando eletrodo de platina em eletrólito de KCl. Aliquotas para análise foram coletadas nos tempos de 10, 30, 90, 210 e 360 min após o início das eletrólises

Figura 4.15: Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol no eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h.

As bandas características do estradiol (tempo 0), em 220 nm e 280 nm, são observadas nos espectros. Durante a eletrólise, observa-se dos espectros UV-vís em KCl (Figura 4.15), o surgimento de uma nova banda (250 nm), na mesma região

espectral previamente obtida sobre o eletrodo de carbono vítreo (Figura 4.10), mas de menor intensidade. Esta menor intensidade deve estar relacionada com a aplicação de um potencial menor do que em carbono vítreo, que conseqüentemente levou a uma menor formação de fortes agentes oxidantes e produtos. O pH inicial da solução de KCl variou de 6,5 para 2,8 após seis horas de eletrólise.

O teste de formação de hipoclorito de potássio realizado pela adição de solução de iodeto de potássio amidado $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido clorídrico 2 mol L^{-1} , resultou positivo com coloração vermelho-púrpura, entretanto, as colorações das alíquotas testes foram menos intensas que aquelas observadas para carbono vítreo, como mostrado na Figura 4.16.

Figura 4.16: Foto das alíquotas coletadas para identificação de hipoclorito na degradação do estradiol em eletrólito de KCl por eletrólise sobre eletrodo de platina em diferentes tempos de eletrólise: 0, 10, 30, 90, 210, 360 minutos (esquerda → direita).

Observa-se da Figura 4.16, as mudanças de coloração, sendo que da esquerda para a direita o tempo de eletrólise variou de 0 a 360 min., indicando uma presença crescente de hipoclorito que se forma durante as eletrólises sobre platina.

Analises para a identificação de cloratos, realizadas pela adição de ácido sulfúrico concentrado, nas alíquotas retiradas em diferentes tempos de eletrólise, resultaram negativas, ou seja, não houve a liberação de gás de cor amarela

esverdeada (ClO_2), indicativo desta espécie. Isto ilustra que não há formação de cloratos.

A análise cromatográfica por HPLC para acompanhar o decréscimo da concentração de estradiol e os possíveis produtos formados durante as eletrólises em soluções de KCl, sobre platina estão representadas nos cromatogramas da Figura 4.17.

Figura 4.17: Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h, $\lambda = 220 \text{ nm}$.

Na Figura 4.17, observa-se um pico intenso para o estradiol no tempo de retenção de $t_r = 4,55$ minutos. Uma redução significativa na altura deste pico é observada após 10 minutos de eletrólise. Adicionalmente, observa-se o surgimento de aproximadamente cinco novos picos. O tempo de retenção destes picos assemelham-se a aqueles observados em KCl sobre carbono vítreo mostrados na Figura 4.12, sugerindo que houve a formação dos mesmos produtos de oxidação, independente do eletrodo empregado.

No espectro UV-vis do estradiol em tampão fosfato pH 7,00, Figura 4.18, não se observa a banda em 250 nm, mesmo após 6 horas de eletrólise, indicando que não ocorreu degradação do estradiol sobre estas condições. O pH da solução apesar de tamponada variou de 7,00 a 3,8, após seis horas de eletrólise.

Figura 4.18: Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol no eletrólito suporte tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h.

Observa-se na Figura 4.19, os cromatogramas (HPLC) levantados durante a eletrólise do estradiol em tampão fosfato, o pico intenso observado nos espectros em um tempo de retenção de $t_r = 4,57$ minutos está associado ao estradiol.

Figura 4.19: Cromatograma da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, em eletrodo de platina, potencial 1,5 Volts, por 6h, $\lambda = 220 \text{ nm}$.

Após 10 minutos de eletrólise não se observa redução na altura do pico do estradiol, indicando a ausência de oxidação sob estas condições, semelhantemente ao observado por UV/vis. A redução de área do pico de estradiol é mínima e observa-se indícios de aparecimento de picos associados aos produtos, nos mesmos tempos de retenção já observados nos espectros anteriores (Fig. 4.14) para carbono vítreo.

4.4 Comportamento fotoeletrocatalítico do eletrodo de Ti/TiO₂

A caracterização do eletrodo de Ti/TiO₂, foi realizada utilizando a voltametria linear, no intervalo de potencial de – 0,55 a + 1,00 V, com velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹, nas soluções: (a) 0,1 mol L⁻¹ KCl e (b) tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00. O comportamento voltamétrico, na ausência e presença de radiação UV, pode ser observado na Figura 4.20.

Figura 4.20: Curvas de fotocorrente-potencial obtidas para eletrodo de Ti/TiO₂ sem irradiação (Curva A), e sob irradiação nas soluções tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7 (Curva B) e em KCl 0,1 mol L⁻¹ (Curva C), velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹.

Observa-se do comportamento voltamétrico da Figura 4.20, que quando o eletrodo de Ti/TiO₂ é exposto a radiação ultravioleta há um aumento na intensidade de corrente nas duas soluções testadas, KCl (Curva C) e tampão fosfato (Curva B). Na ausência da radiação ultravioleta a corrente é muito pouco significativa, tanto para a solução de KCl como tampão fosfato, (Curva A)^{40,51}.

A ativação do semicondutor com energia superior à energia “*band gap*”, resulta na formação de pares de elétrons/lacuna na superfície do eletrodo.

A radiação excita elétrons da banda de valência para a banda de condução, deixando lacunas (carga positiva) na banda de valência.

Os elétrons na banda de condução, sob potencial aplicado maior que o potencial da banda plana são removidos da região de carga espacial para o contra eletrodo⁵⁹, sendo responsável pela evolução de hidrogênio. E as lacunas (cargas positivas) deslocam-se para a superfície do semicondutor, ocorrendo transferências de elétrons da água adsorvidas e gerando radicais hidroxilas, poderoso agente oxidante de compostos orgânicos. Isto ocorre conforme as reações⁵¹ (4.3 - 4.6).

Eletrodo de trabalho:

ou

Contra eletrodo:

Com ausência de irradiação ultravioleta, não há fotoefeito para potenciais mais negativos do que a banda plana⁴⁰, o eletrodo funciona como cátodo.

Observa-se da Figura 4.20, que a intensidade de corrente em KCl é maior do que em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,00. Adicionalmente, em -0,54 V já se observa fotocorrente em KCl, enquanto, em tampão fosfato a fotocorrente inicia-se apenas em -0,45 V. Esta diferença na intensidade de corrente, provavelmente, deve-

se ao fato de que os íons cloreto geram radicais cloro (4.7)⁵¹ sob condições fotocatalíticas.

O aumento da corrente reflete a eficiência das trocas de cargas, minimizando o efeito de recombinação elétron/lacuna, pela coexistência da geração dos radicais hidroxila e cloro em meio de KCl.

4.5 Degradação do estradiol por fotoeletrocatalise e fotólise

A degradação do estradiol também foi estudada por fotoeletrocatalise e fotólise. Considerando que a eficiência da degradação sob condições de eletrólise foi pobre, optou-se por empregar o auxílio da radiação UV com o propósito de e aumentar a eficiência de degradação. A seguir, os resultados de fotoeletrocatalise e fotólise serão paralelamente considerados.

4.5.1 Degradação do estradiol por fotoeletrocatalise e fotólise em solução de KCl

Os espectros de UV-vis apresentados na Figura 4.21 ilustram o decréscimo e total desaparecimento do estradiol ($3,67 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) em KCl após os processos de fotoeletrocatalise e fotólise. Alíquotas de solução foram coletadas nos tempos de experimentos de 2, 5, 10, 30, 90 e 210 min. Observa-se dos espectros que as bandas espectrais características do estradiol em 220 e 280 nm desaparecem em até 30 minutos de teste. Após, apenas, 2 minutos já se pode notar uma redução

significativa nas intensidades das bandas, sendo que esta redução é ligeiramente mais acentuada na degradação fotoeletrocatalítica.

A variação de pH é bastante pronunciada, sendo que na fotoeletrocatalise observa-se uma variação do pH inicial de 6,5 para 1,8 após 210 minutos. Enquanto que, na fotólise o pH varia de um valor inicial de 6,5 para um valor final de 4,3.

Figura 4.21: Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise por 3h30min.

As alíquotas retiradas nos tempos pré-determinados de fotoeletrocatalise e fotólise foram também analisadas por cromatografia líquida (HPLC).

Obtiveram-se os seguintes cromatogramas apresentados na Figura 4.22, para (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise respectivamente.

Figura 4.22: Cromatogramas da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Degradação (a) fotoeletrocatalítica e (b) fotólise, ambas por 3h30min, $\lambda = 220 \text{ nm}$.

Observa-se na Figura 4.22(a) e (b), o pico do estradiol no tempo de retenção de $t_r = 4,55$ minutos. Após 30 minutos de degradação observa-se o desaparecimento total do pico do estradiol. Não foram observados nos cromatogramas o surgimento de novos picos significando que não ocorreu a formação de produtos de degradação detectáveis por HPLC, sob as condições aqui empregadas. Pode-se inferir que os produtos da degradação apresentam completa diferença na estrutura química comparada a do estradiol, assim não absorvendo no comprimento de onda ajustado.

A análise do comportamento da redução do pico cromatográfico normalizado do estradiol durante a sua degradação está apresentada na Figura 4.23.

Figura 4.23: Gráfico da redução do pico cromatográfico do estradiol em função do tempo de degradação. Solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ de estradiol em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl. Técnicas: fotoeletrocatalise e fotólise, aplicadas por 3h30min.

Onde pode-se observar da figura inserida que, depois de dois minutos de degradação fotoeletrocatalítica, houve uma redução de 43 % na quantidade de estradiol, enquanto que para a fotólise a redução foi de apenas 3 %. Após cinco minutos uma redução de 78 % e 41 % na quantidade de estradiol é observada para a fotoeletrocatalise e fotólise, respectivamente. Em dez minutos estes valores sobem para 92 e 91 %, respectivamente. Após 30 minutos de degradação fotoeletrocatalítica ou fotólise do estradiol é totalmente consumido pelos processos oxidativos. Estes resultados indicam que tanto a fotoeletrodegradação como a fotólise são bem mais eficientes na degradação do estradiol quando comparada com a eletrólise a potencial constante. Por outro lado, da Figura 4.23 fica claro que a fotoeletrocatalise é um pouco mais eficiente que a fotólise na degradação do estradiol.

Comparando os espectros da Figura 4.21 bem como os cromatogramas da Figura 4.22, observa-se que na fotoeletrocatalise há uma redução de bandas ou picos ligeiramente maior que na fotólise. Isto deve estar associado com a formação de radicais cloro (equação 4.7) sob condições fotoeletrocatalíticas, minimizando o efeito de recombinação elétron/lacuna, e pela coexistência da geração dos radicais hidroxila, aumentando a eficiência. Na fotólise pode estar gerando oxidantes fortes mas em menor velocidade. Adicionalmente, o hipoclorito é formado por fotoeletrodegradação, como ilustrado na Figura 4. 24a. Por outro lado, na fotólise a formação do hipoclorito não é observada, Figura 4.24b. Finalmente, foi aplicado o teste de clorato, que não indicou a formação desta espécie. Então, na fotoeletrocatalise, o cloro radicalar e o hipoclorito podem estar contribuindo para a oxidação do estradiol, além do radical hidroxila.

Figura 4.24: Fotos das alíquotas coletadas para identificação de hipoclorito durante a degradação do estradiol em eletrólito de KCl por (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise.

4.5.2 Degradação do estradiol por fotoeletrocatalise e fotólise em tampão fosfato

As degradações da solução de estradiol ($3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em tampão fosfato pH 7,00, por fotoeletrocatalise e fotólise foram acompanhadas por espectroscopia UV-vis e os resultados estão apresentados nos espectros da Figura 4.25. Alíquotas da solução de estradiol foram coletadas nos tempos de experimentos de 2, 5, 10, 30, 90 e 210 min. Observa-se dos espectros que as bandas espectrais características do estradiol em 220 e 280 nm desaparecem gradativamente em até 30 minutos sob regime de fotoeletrocatalise. Na fotólise as bandas espectrais do estradiol em 220nm e 280 nm desaparecem em tempos bem mais longos, 210 minutos de teste. Não foi observado bandas extras como constatado na oxidação eletroquímica devido aos produtos formados.

Figura 4.25: Espectros UV/Vis de $3,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ estradiol em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise por 3h30min.

A medida do pH foi efetuada nas alíquotas retiradas nos diferentes tempos de degradação, observando-se uma variação entre o início e o final do teste de 7,0 para 3,15 na fotoeletrocatalítica, e de 7,0 para 6,6 na fotólise.

Na sequência são apresentados os cromatogramas (HPLC) obtidos em $\lambda = 220$ nm, Figura 4.26, obtidos durante a fotoeletrocatalise (a) e fotólise (b), para a solução de estradiol em tampão fosfato.

Figura 4.26: Cromatogramas da solução $3,67 \text{ mol L}^{-1}$ de estradiol em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00. Degradações por: (a) fotoeletrocatalise e (b) fotólise, tempo: 3h30min, $\lambda = 220$ nm.

O pico observado para o estradiol encontra-se no tempo de retenção $t_r = 4,57$ minutos como está mostrado nas Figuras 4.26. Uma análise em curtos tempos de degradação mostra que após dois minutos, observa-se uma redução mais acentuada nos picos cromatográficos por fotoeletrocatalise e sua redução mais gradativa na fotólise. Não foram observados nos cromatogramas o surgimento de novos pico após o inicio das degradações, o que indica que não ocorreu a formação de produtos de degradação detectáveis por HPLC, sob as condições empregadas. Sugerindo que os produtos formados são estruturalmente diferentes do estradiol uma vez que não foram cromatograficamente observados em tempos de retenção de até 14 minutos.

A análise do comportamento da redução do pico cromatográfico normalizado do estradiol durante a sua degradação está apresentada na Figura 4.27.

Figura 4.27: Gráfico da redução do pico cromatográfico do estradiol em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,00, por fotoeletrocatalise e fotólise, em até 3h30min.

Pode-se observar da Figura inserida que, após dois minutos de degradação houve uma redução de 32 % na quantidade de estradiol por fotoeletrocatalise, enquanto que por fotólise a redução foi de 48 %. Em cinco minutos de degradação, a redução nas quantidades de estradiol foram de 72 % e 67 % respectivamente. Após dez minutos a redução observada foi de 89 % e 71 % de estradiol degradados por fotoeletrocatalise e fotólise. A redução na quantidade de estradiol por degradação fotoeletrocatalítica mostra-se ligeiramente mais efetiva, sendo que o estradiol é consumido totalmente em 30 minutos, Na fotólise a redução total ocorreu em tempos mais longos, 210 minutos.

Uma comparação entre os cromatogramas das Figuras 4.22 e 4.26, mostram que as degradações em eletrólito de KCl, ocorreram mais rápidas, do que em meio de tampão fosfato. Isto deve-se ao fato de que em KCl há a geração de cloro radicalar na fotoeletrocatalise.

4.6 Análise da possível formação de dióxido de carbono

Fez análises para verificar se um dos produtos formados na degradação do estradiol é o CO₂. Estas análises foram realizadas por titulação potenciométrica. Por esta técnica observou-se que não houve a formação de CO₂ durante as eletrólises, fotoeletrocatalise e fotólise. Então, apesar de não ter sido possível identificar os produtos formados, o estradiol não sofreu mineralização completa até dióxido de carbono.

5. CONCLUSÃO

O estudo do comportamento voltamétrico do estradiol, mostra-se como um sistema eletroquímico irreversível, o número de elétrons envolvidos na oxidação do estradiol sugere a formação de radicais fenox quando se utiliza eletrodo de carbono vítreo e cetonas sob eletrodo de platina, concordante com os comportamentos voltamétricos de oxidação do estradiol citados na literatura.

Os ensaios feitos na degradação do estradiol pelas técnicas de eletrólise, fotoeletrocatalise e fotólise, em eletrólitos de KCl e tampão fosfato, mostraram que em meio de KCl independente da técnica utilizada a degradação do estradiol foi mais evidenciada, devido a geração de compostos clorados fortemente oxidantes, que auxiliam indiretamente na oxidação do estradiol, como foi observado pelos testes feitos para a identificação de hipoclorito.

A degradação do estradiol pela técnica de eletrólise, considerando a eficiência de degradação sob as condições utilizadas foi pobre, como foi observado o comportamento da redução da quantidade do estradiol através dos espectros de UV-vís e HPLC.

Os estudos baseados na técnica de fotoeletrocatalise e fotólise, conduziram a uma melhor degradação em relação a eletrólise, como verificado no comportamento de decréscimo da quantidade do estradiol. A técnica de fotoeletrocatalise foi ligeiramente mais efetiva que a técnica de fotólise sob as condições utilizadas na degradação do estradiol. Fatores como proximidade da lâmpada e a intensidade de radiação, podem ter influenciado na pequena diferença observada entre estas duas técnicas.

O estudo e a implantação no grupo da técnica fotoeletrocatalítica, utilizando eletrodo de Ti/TiO₂, foi satisfatório, tendo como trabalhos futuros o aperfeiçoamento da técnica.

Este presente trabalho teve como objetivo dar uma contribuição para a degradação do estradiol, considerado uma preocupação quando detectado no meio ambiente.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- SNYDER, S. A.; VILLENEUVE, D. L.; SNYDER, E. M.; GIESY, J. P. Identification and quantification of estrogen receptor agonists in wastewater effluents. **Environmental Science & Technology**, v. 35, p. 3620-3625, 2001.
- 2- CASEY, F. X. M.; HAKK, H.; SIMUNEK, J.; LARSEN, G. L. Fate and transport of testosterone in agricultural soils. **Environmental Science & Technology**, v. 38, p. 790-798, 2004.
- 3- COLBORN, T.; SAAL, F.S.V.; SOTO, A. M. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. **Environmental Health Perspectives**, v.101, p. 378-384, 1993.
- 4- PAYNE, J.; RAJAPAKSE, N.; WIKINS, M.; KORTENKAMP, A. Prediction and assessment of the effects of mixtures of four xenoestrogens. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, p. 983-987, 2000.
- 5- NOGUEIRA, J. M. F.; Desreguladores endócrinos: efeitos adversos e estratégias para monitorização dos sistemas aquáticos. **Química**, v. 88, p.65-71, 2003.
- 6-ESTRADIOL. Disponível em:
<<http://www.dq.fct.unl.pt/qoa/bpn2002/estradiol/8.htm>>. Acesso em: 15 mar. 2005.
- 7- JACOBSEN, A. M.; LORENZEN, A.; CHAPMAN, R.; TOPP, E. Persistence of testosterone and 17 β -estradiol in soils receiving swine manure or municipal biosolids. **Journal Environmental Quality**, v. 34, p. 861-871, 2005.
- 8- BUDZINSKI, H.; DEVIER, M. H.; LABADIE, P.; TOGOLA, A. Analysis of hormonal steroids in fish plasma and bile by coupling solid-phase extraction to GC/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, p. 1429-1439, 2006.
- 9- VOLPE, G.; FARES, G.; QUADRI, F. D.; DRAISCI, R.; FERRETTI, G.; MARCHIAFAVA, C.; MOSCONE, D.; PALLESCHI, G. A disposable immunosensor for detection of 17 β -estradiol in non-extracted bovine serum. **Analytica Chimica Acta**, v. 572, p. 11-16, 2006.
- 10- BARONTI, C.; CURINI, R.; ASCENZO, G. D'; CORCIA, A. D.; GENTILI, A.; SAMPERI, R. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. **Environmental Science & technology**, v. 34, p. 5059-5066, 2000.
- 11- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, p. 523-530, 2003.

- 12- TAKAHATA, Y.; VENDRAME, R.; Ionization energies, electron affinities and excitation energies of some steroid hormones calculated with the semiempirical HAM/3 method. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 165-172. 2001.
- 13- JOHNSON, A.C.; AERNI, H. R.; GERRITSEN, A.; GIBERT, M.; GIGER, W.; HYLLAND, K.; JURGENS, M.; NAKARI, T.; PICKERING, A.; SUTER, M. J. F. SVENSON, A.; WETTSTEIN, F. E. Comparing steroid estrogen, and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices. **Water Research**, v. 39, p. 47-58, 2005.
- 14- CASEY, F. X. M.; LARSEN, G. L.; HAKK, H.; SIMUNEK, J. **Environmental Science & Technology**, v. 37, p. 2400-2409, 2003.
- 15- ASCENZO, G. D'; CORCIA, A. D.; GENTILI, A.; MANCINI, R.; MASTROPASQUA, R.; NAZZARI, M. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. **The Science of the Total Environment**, v. 302, p.199-209, 2003.
- 16- MATSUMOTO, Y.; KURAMITZ, H.; ITOH, S.; TANAKA, S. Quantitative Analysis of 17 β -estradiol in river water by fluorometric enzyme immunoassay using biotinylylated estradiol. **Analytical Sciences**, v. 21, p. 219-224, 2005.
- 17- CARGOUET, M.; PERDIZ, D.; SOUALI, A. M.; KAROLAK, S. T. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). **Science of the Total Environment**, v. 324, p. 55-66, 2004.
- 18- BOYD, G. R.; PALMERI, J. A.; ZHANG, S.; GRIMM, D. A. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine disrupting chemicals (EDCs) in stormwater canals and Bayou St. John in New Orleans, Louisiana, USA. **Science of the Total Environment**, v. 333, p. 137-148, 2004.
- 19- KORSGAARD, B.; ANDREASSEN, T. K.; RASMUSSEN, T. H. Effects of an environmental estrogen, 17 α -ethinyl-estradiol, on the maternal-fetal trophic relationship in the eelpout *Zoarces viviparus* (L). **Marine Environmental Research**, v. 54, p. 735-739, 2002.
- 20- ISOBE, T.; SERIZAWA, S.; HORIGUCHI, T.; SHIBATA, Y.; MANAGAKI, S.; TAKADA, H.; MORITA, M.; SHIRAISHI, H. Horizontal distribution of steroid estrogens in surface sediments in Tokyo Bay. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 632-638. 2006.
- 21- ALMEIDA, C.; NOGUEIRA, J. M. F. Determination of steroid sex hormones in water and urine matrices by stir bar sorptive extraction and liquid chromatography with diode array detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, p. 1303-1311, 2006.
- 22- ZHANG, Y.; ZHOY, J. L.; NING, B. Photodegradation of estrone and 17 β -estradiol in water. **Water research**, v. 41, p. 19-26, 2007.

- 23- FENG, X.; TU, J.; DING, S.; WU, F.; DENG, N. Photodegradation of 17 β -estradiol in water by UV-vis/Fe(III)/H₂O₂ system. **Journal of Hazardous Materials**, v. 127, p. 129-133, 2005.
- 24- MALYGINA, T.; PREIS, S.; KALLAS, J. The role of pH in aqueous photocatalytic oxidation of β -estradiol. **International Journal of Photoenergy**, v. 7, p.187-191, 2005.
- 25- YING, G.; KOOKANA, R. S.; DILLON, P. Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material. **Water Research**, v. 37, p. 3785-3791, 2003.
- 26- IRMAK, S.; ERBATUR, O.; AKGERMAN, A. Degradation of β -estradiol and bisphenol A in aqueous medium by using ozone and ozone/UV techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 126, p. 54-62, 2005.
- 27- ZHANG, Y.; ZHOU, J. L. Removal of estrone and 17 β -estradiol from water by adsorption. **Water Research**, v. 39, p. 3991-4003, 2005.
- 28- SUZUKI, K.; HIRAI, H.; MURATA, H.; NISHIDA, T. Removal of estrogenic activities of 17 β -estradiol and ethinylestradiol by ligninolytic enzymes from white rot fungi. **Water Research**, v. 37, p. 1972-1975, 2003.
- 29- MITAMURA, K.; NARUKAWA, H.; MIZUGUCHI, T.; SHIMADA, K. Degradation of estrogen conjugates using titanium dioxide as a photocatalyst. **Analytical Sciences**, v. 20, p. 3-4, 2004.
- 30- COLEMAN, H. M.; ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J. P.; EGGINS, B. R.; BYRNE, J. A. Rapid loss of estrogenicity of steroid estrogens by UVA photolysis and photocatalysis over an immobilized titanium dioxide catalyst. **Water Research**, v. 38, p. 3233-3240, 2004.
- 31- SALCI, B.; BIRYOL, I. Voltammetric investigation of β -estradiol. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, p. 753-759, 2002.
- 32- HU, S.; WU, K.; YI, H.; CUI, D. Voltammetric behavior and determination of estrogens at nafion-modified glassy carbon electrode in the presence of cetyltrimethylammonium bromide. **Analytica Chimica Acta**, v. 464, p. 209-216, 2002.
- 33- HE, Q.; YUAN, S.; CHEN, C.; HU, S. Electrochemical properties of estradiol at glassy carbon electrode modified with nano-Al₂O₃ film. **Materials Science & Engineering**, v. 23, p. 621-625, 2003.
- 34- NOTSU, H.; TATSUMA, T.; FUJISHIMA, A. Tyrosinase-modified boron-doped diamond electrodes for the determination of phenol derivatives. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 523, p. 86-92. 2002.

- 35- JIN, G.; LIN, X. Voltammetric behavior and determination of estrogens at carbamylcholine modified paraffin-impregnated graphite electrode. **Electrochimica Acta**, v. 50, p. 3556-3562, 2005.
- 36- LIN X.; LI, Y. A sensitive determination of estrogens with a Pt nano-clusters/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Biosensores & Bioelectronics**, v. 22, p. 253-259, 2006.
- 37- XIE, YI.; LI, X. Degradation of bisphenol A in aqueous solution by H₂O₂-assisted photoelectrocatalytic oxidation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 138, p. 526-533, 2006.
- 38- HE, C.; XIONG, Y.; SHU, D.; ZHU, X.; LI, X. Preparation and photoelectrocatalytic activity of Pt(TiO₂)-TiO₂ hybrid films. **Thin Solid Films**, v. 503, p.1-7, 2006.
- 39- HE, C.; LI, X. Z.; GRAHAM, N.; WANG, Y. Preparation of TiO₂/ITO and TiO₂/Ti photoelectrodes by magnetron sputtering for photocatalytic application. **Applied Catalysis A: General**, v. 305, p. 54-63, 2006.
- 40- BRETT, A.M.O.; BRETT, C.M.A. **Electroquímica**. Oxford: Oxford University Press, 1996. 471p.
- 41- HAPPEL, M.; HAZELTON, S. Photoelectrocatalytic degradation of diazo dyes on nanostructured WO₃ electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 50, p. 5278-5291, 2005.
- 42- CARNEIRO, P. A.; OSUGI, M. E.; SENE, J. J.; ANDERSON, M. A.; ZANONI, M. V. B. Evaluation of color removal and degradation of a reactive textile azo dye on nanoporous TiO₂ thin-film electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 49, p. 3807-3820, 2004.
- 43- PURNAMA, H. Photocatalytic decolouration of reactive orange 16(R3R) dye. **Jurnal Teknik Gelagar**, v. 16, p. 85-93, 2005.
- 44- HE, C.; SHU, D.; XIONG, Y.; ZHU, X.; LI, X. Comparison of catalytic activity of two platinised TiO₂ films towards the oxidation of organic pollutants. **Chemosphere**, v. 63, p. 183-191, 2006.
- 45- XIE, Y. Photoelectrochemical application of nanotubular titania photoanodo. **Electrochimica Acta**, v. 51, p. 3399-3406, 2006.
- 46- AN, T.; XIONG, YA.; LI, G.; ZHU, X.; SHENG, G.; FU, J. Improving ultraviolet light transmission in a packed-bed photoelectrocatalytic reactor for removal of oxalic acid from wastewater. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 181, p. 158-165, 2006.
- 47- CHRISTENSEN, P. A.; CURTIS, T. P.; EGERTON, T. A.; KOSA, S. A. M.; TINLIN, J. R. Photoelectrocatalytic and photocatalytic disinfection of E. coli suspension by titanium dioxide. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 41, p. 371-386, 2003.

48- LI, G.; QU, J.; ZHANG, X.; LIU, H.; LIU, H. Electrochemically assisted photocatalytic degradation of Orange II: influence of initial pH values. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 259, p. 238-244, 2006.

49- LASSALI, T. F. **Propriedades eletroquímicas de eletrodos de carbono vítreo para a redução de oxigênio**. 1990. 160f. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1990.

50- ESTRADIOL. Disponível em:
<<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?estradiol>> Acesso em: 2 abr. 2005.

51- ZANONI, M.V.B.; SENE, J.J.; ANDERSON, M.A. Photoelectrocatalytic degradation of Remazol Brilliant Orange 3R on titanium dioxide thin-film electrodes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.157, p. 55-63, 2003.

52- VOGEL, A.I. **Análise inorgânica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1981. 420p.

53- VIELSTICH, W.; PAGANIN, V. A.; LIMA, F.H.B.; TICIANELLI, E.A. Nonelectromical pathway of methanol oxidation at a platinum- catalysed oxygenium gas diffusion electrode. **Journal of the Electrochemical Society**, v.148, n. 5, p. 1-4, 2001.

54- VAITSMAN, D.S; BOTTENCOURT, O.A. **Ensaio químicos qualitativos**. Rio de Janeiro: Interciência, 1995. 94-147p.

55- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1979. p. 65-140.

56 – NGUNDI, M. M.; SADIK, O. A.; YAMAGUCHI, T.; SUYE, S. First comparative reaction mechanisms of β -estradiol and selected environmental hormones in a redox environment. **Electrochemistry Communications**, v. 5, p. 61– 67, 2003.

57- MURUGANANTHAN, M.; YOSHIHARA, S.; RAKUMA, T.; UEHARA, N.; SHIRAKASHI, T. Electrochemical degradation of 17 β -estradiol (E_2) at boron-doped diamond (Si/BDD) thin film electrode. **Electrochimica Acta**, v. 52, p. 3242-3249, 2007.

58- BARD, A. J.; FUIKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. New York: John Wiley, 1980. 718p.