UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

# Degradação de ácido salicílico, cetoprofeno, diclofenaco, paracetamol e cafeína, pelo processo foto-Fenton mediado por ferrioxalato, irradiado com LEDs-UV

SÃO CARLOS

2019

Maykel Douglas Marchetti

# Degradação de ácido salicílico, cetoprofeno, diclofenaco, paracetamol e cafeína, pelo processo foto-Fenton mediado por ferrioxalato, irradiado com LEDs-UV

Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo

SÃO CARLOS

2019

Dedico este trabalho à minha mãe Dirce, ao meu pai Hercules, as minhas irmãs Priscilla e Evelyn (*in memoriam*), a minha companheira Larissa, aos meus amigos, aos meus familiares e a todos que de alguma maneira possam se beneficiar deste estudo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por me incentivar, dar o suporte necessário durante toda a minha trajétoria até aqui e me ensinar valores e princípios fundamentais para a construção do meu caráter. Por me mostrarem que o estudo muda vidas, por serem a prova viva que é possível mudar a condição social através do trabalho, da dedicação, com honestidade, respeito e amor. Agradeço também pelos momentos difíceis que me conduziram a reflexões e foram fundamentais para o desenvolvimento da resiliência, do equilíbrio emocional e da perseverança.

À minha mãe, que desde pequeno, segurou minha mão e enfrentou inúmeros desafios com muita fé e esperança. Que acordava de madrugada, que deixava suas vontades para trás para nos proporcionar o melhor que podia oferecer. Por sua dedicação à familía, por seu caráter, por sua fé, por sua esperânça em um mundo melhor, por sua paixão pela natureza e pelas relações humanas. Por sua crença que podia mudar o próprio mundo e com isso ajudar muitas pessoas.

Ao meu pai, por sua serenidade, por seu equilíbrio, por seu esforço, pelas horas de suor trabalhando até tarde da noite para que nunca nos faltasse nada. Por me ensinar a não desistir. Por acreditar nos meu sonhos. Pelos momentos de conversas construindo sonhos. Pela liberdade. Pelos dias que chegava cansado do trabalho e mesmo assim ainda tinha disposição para nos dar atenção. Por ser meu melhor amigo.

À Priscilla, minha irmã pela confiança, carinho e admiração. Por todos nossos momentos de questionamentos. Por construir a confiança comigo. Por andar ao meu lado. Pelos abraços, pelos sorrisos, pela alegria. Por me ensinar que é preciso sonhar. Pelo espirito livre. Por aceitar as pessoas como elas são.

À Evelyn (*in memoriam*), por sua luz. Pelo sorriso mesmo nos momentos mais dificeis, por sua vontade de viver. Por olhar por nós.

À Larissa, minha companheira, muito obrigado por todos os momentos ao meu lado. Pelo carinho, respeito e amor. Por caminhar comigo. Por me incentivar, por acreditar, por me apoiar nos momentos difíceis. Por sonhar comigo. Por acreditar que podemos construir um futuro juntos. Por ser otimista, por manter a calma, por chorar comigo, por comemorar comigo. Pelas viagens, pelos jantares, pelos devaneios, por cuidar de mim. Por ser a melhor hora do meu dia. Você, Larissa, foi fundamental nessa jornada.

À meu grande amigo Marco pelas conversas e por me ensinar tolerância e sensatez.

Ao Prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo por acreditar desde sempre que era possível. Obrigado por ser sensato, ponderado e honesto. Sei que o senhor é um amigo. À Profa. Dra. Eny Maria Vieira pela contribuição para a realização das análises. À Vania pelo carinho. À Shirlei pela amizade.

Aos servidores públicos do Serviço Autonomo de Água e Esgoto (SAAE) de São Carlos que nos receberam de portas abertas.

Aos funcionários do IQSC que sempre foram atenciosos e solicitos durante todos esses anos. Aqui me sinto em casa. À todos os meus amigos do LTDamb por todas as conversas, desabafos e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de doutorado concedida.

# RESUMO

Dependendo do medicamento, comumente são relatados uma série de problemas ambientais, como: distúrbios endócrinos, bactérias resistentes a antibióticos, ecotoxicidade etc. Como as estações de tratamento existentes não são capazes de remover completamente esses poluentes, novas e altamente eficientes tecnologias devem ser desenvolvidas para esse fim. A reação de Fenton apresenta-se como uma boa alternativa para tal. No entanto, o pH ácido, a geração de lodo e a necessidade da adição contínua de íons ferrosos são problemas a serem superados, por exemplo, com o uso da reação foto-Fenton. Neste trabalho, foi investigada a ocorrência dos fármacos ácido salicílico, cetoprofeno, diclofenaco, paracetamol e cafeína em amostras de águas superficiais do ribeirão Feijão, do córrego do Espraiado, entrada e saída da Estação de Tratamento de Água (ETA – Vila Pureza) no município de São Carlos/SP durante um ano. Os analitos foram extraídos e pré-concentrados, com o uso de um sistema semiautomático de extração em fase sólida (SPE) e, então, analisados por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC/DAD). O método analítico desenvolvido foi validado e mostrou-se linear na faixa de 200 a 360 ng $L^{-1}$ para o paracetamol, 120 a 280 ng $L^{-1}$ para a cafeína, cetoprofeno e diclofenaco e de 160 a 320 ng $L^{-1}$ para o ácido salicílico, com coeficientes de correlação maiores que 0,99. Essas faixas de concentrações têm sido comumente detectadas em águas superficiais. Os limites de detecção e quantificação foram de 36 e 120 ng $L^{-1}$ para o diclofenaco, cetoprofeno e cafeína, de 60 e 200 ng $L^{-1}$ para o paracetamol e de 48 e 160 ng $L^{-1}$ para o ácido salicílico, respectivamente. A precisão intradia variou entre 0,850 e 5,03%, os valores de recuperação variaram entre 50 e 78%, e a exatidão entre 98,9 e 101%. Não foi detectada nenhuma das substâncias investigadas nas amostras analisadas durante o período dos testes. Avaliou-se a degradação desses fármacos pelo processo foto-Fenton irradiado com LEDs-UV, usando-se o ferrioxalato. Três fatores: potência dos LEDs, concentração de $Fe^{3+}$ e de $H_2O_2$ foram estudados via planejamento experimental. Usou-se uma função desejabilidade que levasse em conta a degradação conjunta dos cinco fármacos na $C_{initial}$ = 10 mg $L^{-1}$ (concentração nominal). Os níveis otimizados de cada fator (Potência dos LEDs = 1,768 W; $C_{Fe^{3+}}$ = 15,0 mg $L^{-1}$; e $C_{H_2O_2}$ = 47,6 mg $L^{-1}$) foram determinados utilizando-se a metodologia de superfície de respostas (MSR). No ponto ótimo, todas as concentrações dos fármacos analisados ficaram abaixo dos respectivos limites de detecção após 25 min de reação, 30% de mineralização foi obtida e 40% de DQO foi removida. Ainda no ponto ótimo, avaliou-se a cinética da reação e verificou-se que os fármacos estudados apresentaram comportamentos cinéticos semelhantes (pseudo-primeira ordem), com rápida degradação (aproximadamente 80% nos 10 min iniciais) e constantes de taxa virtualmente idênticas na ordem de $10^{-1}$ $min^{-1}$. Durante a reação o número médio de oxidação do carbono variou de –2,7 para –1,9 (após 25 min). Os testes de ecotoxicidade (*Latuca sativa*) indicaram que, apesar da formação de subprodutos, não houve aumento da fitotoxicidade.



**Palavras-chave:**
Foto-Fenton; ferrioxalato; LED; fármaco; metododologia de superfícies de resposta; validação

## ABSTRACT

Depending on the drug, endocrine disruption, antibiotics-resistant bacteria, ecotoxicity, etc. are commonly reported problems. As the existing treatment stations are not capable of completely removing those pollutants, new and highly efficient technologies should be developed for this purpose. The Fenton's reaction is a good choice for that. However, acidic pH, sludge generation, and the need for the continuous addition of ferrous ion are problems to be overcome, e.g., by the photo-Fenton reaction. The occurrence of salicylic acid, ketoprofen, diclofenac, paracetamol and caffeine was investigated in surface water samples from Feijão and Espraiado streams, entrance of the Water Treatment Plant (WTP – Vila Pureza), and waters intended for public supply (exit of the WTP – Vila Pureza) from the city of São Carlos/SP. The analytes were extracted and preconcentrated using a solid phase extraction (SPE) semiautomatic system and then analyzed by high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC/DAD). The developed analytical method was validated and its linear range was from 200 to 360 ng $L^{-1}$ for acetaminophen, 120 to 280 ng $L^{-1}$ for caffeine, ketoprofen, and diclofenac and from 160 to 320 ng $L^{-1}$ for salicylic acid, with correlation coefficients greater than 0.99. Those concentration rangesare commonly found in surface waters. The detection and quantification limits were 36 and 120 ng $L^{-1}$ for diclofenac, ketoprofen and caffeine, 60 and 200 ng $L^{-1}$ for paracetamol and 48 and 160 ng $L^{-1}$ for salicylic acid, respectively. The intraday precision ranged from 0.850 to 5.03%, recovery ranged from 50 to 78%, and accuracy from 98.9 to 101%. None of the investigated substances were detected in the samples analyzed during the testing period. The degradation of those drugs by the photo-Fenton process irradiated with LEDs-UV and assisted by ferrioxalate was also evaluated. Three factors: LEDs power, $Fe^{3+}$ and $H_2O_2$ concentrations were studied by experimental design. A desirability function, taking into consideration the joint degradation of the five drugs at $C_{initial}$ = 10 mg $L^{-1}$ (nominal concentration), was used. The optimized levels of eaĉ factor (LEDs power = 1.768 W, $C_{Fe^{3+}}$ = 15.0 mg $L^{-1}$, and $C_{H_2O_2}$ = 47,6 mg $L^{-1}$) were determined using the response surface meotodology (RSM). Under the optimized conditions, the concentrations of all drugs were below their respective detection limits after 25 min of reaction, 30% mineralization was achieved, and 40% of the COD was removed. The reaction kinetics (optimized conditions) were assessed and it was verified that the studied drugs presented similar kinetic behavior (pseudo-first order), with fast degradation (approximately 80% in the first 10 min), and virtually identical rate constants around $10^{-1}$ $min^{-1}$. During reaction, the medium oxidation number of carbon ranged from −2.7 to −1.9 (after 25 min). Ecotoxicity tests (*Latuca sativa*) indicated that, despite the formation of byproducts, there was no increase in phytotoxicity.



**Keywords:**
photo-Fenton; ferrioxalate; LED; drug; response surface methodology; validation

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular da cafeína (CAF). ..... 16
Figura 2 - Estrutura molecular do ácido salicílico (ASA). ..... 17
Figura 3 - Estrutura molecular do Diclofenaco (DCF). ..... 17
Figura 4 - Estrutura molecular do Paracetamol (PAR). ..... 18
Figura 5 - Estrutura molecular do Cetoprofeno (KETO). ..... 19
Figura 6 - Representação esquemática simplificada do sistema a vácuo: A – reservatório de vidro contendo a amostra; B – conjunto de extração contendo cartucho SPE; C – Bombona de plástico reforçado; D - reservatório com água; E – Injetor Venturi; F – Bomba centrifuga. ... 35
Figura 7 - Cromatogramas: (a) água de nascente e (b) água de nascente fortificada (A – Paracetamol, B – Ca-feína, C – ácido salicílico, D – cetoprofeno e E – Diclofenaco). ..... 40
Figura 8 - Análise estatística dos dados de linearidade do paracetamol. ..... 42
Figura 9 - Análise estatística dos dados de linearidade da cafeína. ..... 42
Figura 10 - Análise estatística dos dados de linearidade do ácido salicílico. ..... 43
Figura 11 - Análise estatística dos dados de linearidade do cetoprofeno. ..... 43
Figura 12 - Análise estatística dos dados de linearidade do diclofenaco. ..... 44
Figura 13 - Resultados de Efeito de Matriz, Recuperação e Eficiência. ..... 46
Figura 14 - Possíveis rotas dos contaminantes no meio ambiente e de contaminação de águas de abastecimento. ..... 52
Figura 15 - Posicionamento de São Carlos em relação às Bacias hidrográficas (UGRHI). ..... 53
Figura 16 - Localização das sub-bacias hidrográficas da bacia Mogi-Guaçu e Tietê-Jacaré e mananciais de abastecimento público do município de São Carlos. ..... 54
Figura 17 - Aquíferos sob a área urbana do município de São Carlos. ..... 55
Figura 18 - Evolução da investigação experimental ..... 66
Figura 19 - Disposição dos experimentos CCD para experimentos com k = 2. ..... 67
Figura 20 - Representação esquemática das curvas de nível da superfície de resposta e da trajetória do caminho de máxima inclinação (seta vermelha). ..... 68
Figura 21 - Fotorreator da Delpho Instruments, modelo Multi-Fótons 320RA: (a) vistas ortográficas (medidas em cm) e (b) foto. ..... 71
Figura 22 - Fluxograma do procedimento de degradação. ..... 72
Figura 23 - Fluxograma das etapas do planejamento e otimização. ..... 75
Figura 24 - Gráfico de Parto referente ao planejamento fatorial preliminar. ..... 77
Figura 25 - Superfície de resposta para o CCD (y = função desejabilidade; •, ponto ótimo). 80

Figura 26 - Comportamento cinético durante a degradação dos fármacos estudados: (a) Ácido Salicílico, (b) Cetoprofeno, (c) Diclofenaco, (d) Paracetamol e (e) Cafeína. .....82
Figura 27 - Remoção (•) COD e (■) DQO e oxidação (▲) NOC de matéria orgânica. .....84

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físico-químicas dos fármacos.....21
Tabela 2 - Contaminantes emergentes e suas respectivas concentrações máximas em diferentes localidades. .....29
Tabela 3 - Gradiente de eluição: A – 0.1% ácido fórmico em água; B – metanol. .....36
Tabela 4 - Níveis de concentração para cada fármaco analisado. .....38
Tabela 5 - Níveis de concentração da avaliação da linearidade. .....41
Tabela 6 - Resultados de exatidão, precisão, LQ e LD. .....45
Tabela 7 - Gradiente de eluição: A – Água acidificada (0.1% de ácido fórmico) e B – metanol. .....70
Tabela 8 - Fatores e níveis (e suas codificações) do planejamento fatorial completo 23.....73
Tabela 9 - Caminho de máxima inclinação. .....74
Tabela 10 - Fatores e níveis do planejamento composto central (CFe3 + = 15 mg $L^{-1}$). .....74
Tabela 11 - Condições e resultados do planejamento fatorial completo $2^3$.....77
Tabela 12 - Fatores e resultados da função desejabilidade ao longo do caminho de máxima inclinação.....78
Tabela 13 - Condições e resultados do planejamento composto central (CCD). .....79
Tabela 14 - ANOVA para os resultados do CCD.....79
Tabela 15 - Constantes (pseudo primeira ordem) da taxa de degradação dos fármacos estudados (com os respectivos coeficientes de determinação).....83

**SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO GERAL ..... 12
1.1 INTRODUÇÃO ..... 12
1.2 COMPOSTOS-ALVO ..... 16
1.2.1 Cafeína ..... 16
1.2.2 Ácido Salicílico ..... 16
1.2.3 Diclofenaco ..... 17
1.2.4 Paracetamol ..... 18
1.2.5 Cetoprofeno ..... 19
1.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E COMPORTAMENTO NO MEIO AMBIENTE ..... 20
REFERÊNCIAS ..... 22

2 VALIDAÇÃO ANALÍTICA ..... 29
2.1 INTRODUÇÃO ..... 29
2.1.1 Seletividade e o Efeito de Matriz ..... 31
2.1.2 Limite de detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) ..... 31
2.1.3 Linearidade ..... 32
2.1.4 Precisão e Exatidão ..... 33
2.2 OBJETIVOS ..... 33
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS ..... 34
2.3.1 Reagentes ..... 34
2.3.2 Soluções padrão de diluições ..... 34
2.3.3 Extração em fase sólida (SPE) ..... 34
2.3.4 Análise cromatográfica ..... 36
2.3.5 Validação do método Analítico ..... 36
2.3.6 Seletividade ..... 37
2.3.7 Linearidade ..... 37
2.3.8 Limite de detecção e quantificação ..... 37
2.3.9 Precisão e exatidão ..... 37
2.3.10 Recuperação e efeito de matriz ..... 38
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 39
2.4.1 Seletividade ..... 39

2.4.2 Linearidade.....41
2.4.3 Limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão.....44
2.4.4 Efeito de Matriz, Recuperação e eficiência .....45
2.5 CONCLUSÃO .....47
REFERÊNCIAS.....48

3 MONITORAMENTO DE FÁRMACOS NAS ÁGUAS DESTINADAS AO ABASTECIMENTO PÚBLICO DO MUNICÍPIO SÃO CARLOS - SP.....51
3.1 INTRODUÇÃO .....51
3.1.1 Área de Estudo.....52
3.2 OBJETIVOS .....55
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....56
3.3.1 Reagentes .....56
3.3.2 Amostragem .....56
3.3.3 Extração em fase sólida (SPE).....57
3.3.4 Análise Cromatográfica .....57
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....57
3.5 CONCLUSÃO.....57
REFERÊNCIAS.....58

4 DEGRADAÇÃO.....61
4.1 INTRODUÇÃO .....61
4.1.1 Processo Fenton .....62
4.1.2 Processo foto-Fenton .....63
4.1.3 Processo foto-Fenton com ferrioxalato.....64
4.1.4 Planejamento e análise de experimentos.....66
4.2 OBJETIVOS .....69
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....69
4.3.1 Reagentes .....69
4.3.2 Análises.....69
4.3.3 Aparato experimental .....70
4.3.4 Procedimento experimental.....71
4.3.5 Planejamento e otimização experimental .....72
4.3.6 Estudo cinético .....76
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....76

4.4.1 Otimização ..... 76
4.4.2 Experimentos nas condições ótimas ..... 81
4.5 CONCLUSÃO ..... 85
REFERÊNCIAS ..... 86

5 ECOTOXICIDADE ..... 91
5.1 INTRODUÇÃO ..... 91
5.2 OBJETIVOS ..... 92
5.3 MATERIAIS E MÉTODOS ..... 93
5.3.1 Reagentes ..... 93
5.3.2 Ensaios de Fitotoxicidade ..... 93
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 94
5.5 CONCLUSÃO ..... 95
REFERÊNCIAS ..... 96

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS ..... 91

# 1

# INTRODUÇÃO GERAL

## 1.1 INTRODUÇÃO

Em 22 de março de 1992, a ONU estabeleceu o "Dia Internacional da Água" com a publicação do documento intitulado "Declaração Universal dos Direitos da Água". Nesse texto, destaca-se o parágrafo 5:

> A água não é somente herança de nossos predecessores: ela é, sobretudo, um empréstimo aos nossos sucessores. Sua proteção constitui uma necessidade vital, assim como a obrigação moral do homem para com as gerações futuras (ONU, 1992).

É irrefutável a ideia de que sem água não haveria vida na Terra. A importância desse recurso natural tem se tornado, a cada dia, motivo de disputas e preocupações. A poluição se alastra e a busca por fontes disponíveis deste recurso para o consumo humano torna-se dispendiosa.

A continuação da vida no planeta poderá ser afetada pela escassez de água potável, por sua má distribuição e pela poluição em suas mais variadas formas.

Na primeira década do século XXI, um quinto da humanidade não tinha acesso à água potável e os países mais afetados pela desertificação e a falta d'água são os do Terceiro Mundo (SANTOS, 2001).

> A água potável é um pressuposto para o exercício de outros direitos fundamentais, como, por exemplo, o direito à vida. Dizendo de modo inverso, o direito fundamental à vida somente poderá ser garantido, se as pessoas tiverem acesso à água potável (FACHIN; SILVA, 2010).

Há algumas décadas, a sociedade passou a adotar novos paradigmas sobre as relações humanas e o meio ambiente, influenciada por movimentos socioambientais e estudos que alertam sobre os impactos causados pela constante destruição da natureza.

Pode-se citar como marco, a primeira Conferência específica sobre a água, que ocorreu no ano de 1977 na Argentina e ficou conhecida como “Ação de Mar del Plata”.

Ainda na década de 1970, foram publicadas as primeiras pesquisas alertando para a contaminação de ambientes aquáticos por fármacos (D’AMATO; TORRES; MALM, 2002; JONES-LEPP et al., 2004; SALDANHA et al., 2010). Garrison (1976) detectou ácido clofíbrico – um metabólito ativo de fármacos utilizados como reguladores de lipídios no sangue – em esgotos domésticos não tratados e também em efluentes de Estação de Tratamento de Esgotos (ETE). Hignite e Azamoff (1977), também nos EUA, detectaram cafeína, ácido clofíbrico além de outros compostos em efluentes da ETE.

A Agenda 21, documento resultante da Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento de 1992 (ECO 92), em seu Capítulo 18, afirma que:

> A água é necessária em todos os aspectos da vida. O objetivo geral é assegurar que se mantenha uma oferta adequada de água de boa qualidade para toda a população do planeta, ao mesmo tempo em que se preservem as funções hidrológicas, biológicas e químicas dos ecossistemas, adaptando as atividades humanas aos limites da capacidade da natureza e combatendo vetores de moléstias relacionadas com a água. Tecnologias inovadoras, inclusive o aperfeiçoamento de tecnologias nativas, são necessárias para aproveitar plenamente os recursos hídricos limitados e protegê-los da poluição (BRASIL, 1995).

No Brasil, as políticas públicas e ações destinadas a conservação da água como um valor social e que garantam água de qualidade à população ganharam força a partir da segunda década do século XXI (BREDARIOL, 2001). Entretanto, a realidade de países em desenvolvimento, como o Brasil, é crítica. De acordo com a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico realizada pelo IBGE em 2002, 82% dos esgotos domésticos eram descartados em rios utilizados para o abastecimento de água potável (IBGE, 2002). Em 2010, a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico apontou que no Brasil, 71,8% dos municípios ainda não apresentavam políticas de saneamento e em 48,7% deles não havia órgão fiscalizador da qualidade da água (IBGE, 2010). Já em 2018, a pesquisa revelou que 61,8% dos municípios ainda não apresentavam políticas de saneamento (IBGE, 2018). Uma vez que a maior parcela desses efluentes não passaram por um processo de tratamento para a remoção de nutrientes e desinfecção e foram descartados diretamente nos corpos hídricos, o descarte de esgoto doméstico assumira destaque como umas das principais fontes de contaminação ambiental durante anos (SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010).

Além disso, a mudança no estilo de vida e do comportamento de consumo da população, acompanhados do desenvolvimento de novos produtos, contribuíram para o agravamento da poluição dos recursos hídricos, do solo e da atmosfera.

Nas últimas décadas, influenciado por movimentos socioambientais e estudos que alertaram sobre os impactos causados à biota pela constante degradação dos recursos hídricos, aumentou o interesse da comunidade cientifica em identificar, monitorar e desenvolver processos eficientes para a degradação dos chamados "contaminantes emergentes" (CAMPANHA et al., 2015; D'AMATO; TORRES; MALM, 2002; DAUGHTON; TERNES, 1999; HALLING-SØRENSEN et al., 1998; KÜMMERER, 2009; RAIMUNDO, 2011; SCHWARZENBACH, 2006; STAN; HEBERER; LINKERHÄIGNER, 1994).

O termo "contaminantes emergentes" abrange diversas substâncias potencialmente tóxicas como fármacos, produtos de higiene pessoal, surfactantes, pesticidas, agentes plastificantes, hormônios e nano materiais (BRAUSCH; RAND, 2011; CELIZ; TSO; AGA, 2009; KNEPPER et al., 1999; PETROVIC; BARCELÓ, 2006; RICHARDSON; TERNES, 2011).

A presença de contaminantes emergentes (CE) nos recursos hídricos é preocupante, já que esses compostos podem ocasionar desenvolvimento de microrganismos resistentes, disfunção do sistema endócrino e reprodutivo de seres humanos e dos animais, além de distúrbios metabólicos e incidência de neoplasias malignas (CARTAGENA, 2011; DARBRE et al., 2004; KUSTER; ALDA; BARCELÓ, 2005).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, no Brasil o número de doses de antibióticos consumidas aumentou entre 2016 e 2018, tornando-se um dos maiores do mundo superando a média (doses $hab^{-1}$) do consumo de países como Canadá, Japão e União Europeia (WHO, 2018).

Devido à elevada produção e ao alto grau de consumo, e como consequência a contínua introdução dos mesmos no ambiente, é provável que estes compostos não precisem ser persistentes para ocasionarem efeitos adversos (PETROVIC; GONZALEZ; BARCELÓ, 2003).

Mezzelani et al. (2018) investigaram os efeitos moleculares e celulares em mexilhões *Mytilus galloprovincialis* expostos a anti-inflamatórios não esterioidais (AINEs) por até 60 dias. Os resultados apresentados indicaram alterações de parâmetros imunológicos, efeitos genotóxicos e no metabolismo de modulação de lipídios. Guiloski et al. (2015) realizaram estudos de exposição de peixes machos *Hoplias malabaricus* a AINEs e os resultados apresentados indicaram estresse oxidativo e redução nos níveis de testosterona.

AINEs são medicamentos que podem ser utilizados no tratamento de dores, processos inflamatórios, além de apresentarem ação antitérmica ou antipirética por atuarem na inibição da produção de prostaglandinas (KEDE, 2004; BRICKS, 1998).

Um estudo realizado pela IMS Health do Brasil, com um panorama do comércio de medicamentos no Brasil no período de setembro de 2015 a agosto de 2016 (IMS HEALTH DO BRASIL, 2016), aponta que medicamentos que contêm Diclofenaco (DCF), Paracetamol (PAR), Cetoprofeno (KETO) e Ácido salicílico (ASA) — pesquisados no presente trabalho — estavam entre os mais vendidos no Brasil. Esse estudo reforça o fato apontado por Bricks (1998) que já apresentava os AINEs como os medicamentos mais utilizados na medicina humana, com ou sem prescrição médica.

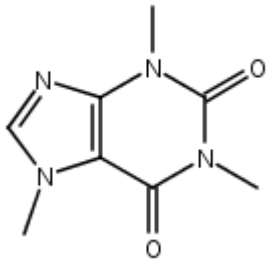
A cafeína (CAF) é provavelmente a substância psicoativa mais consumida no mundo e apesar de não ser, necessariamente, uma substância capaz de provocar alteração no sistema endócrino, apresenta elevada solubilidade em água, persistência no ambiente e é potencialmente recalcitrante aos processos habituais das estações de tratamento de água (ETA) e esgoto (ETE). Estudos apontam que a presença de cafeína pode estar relacionada à presença de vários contaminantes emergentes. Sendo assim, ela vem sendo adotada como marcador de atividades antropogênicas (SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010; RAIMUNDO et al., 2011; IDE et al., 2013; GHISELLI; JARDIM, 2007; VIVIANO et al., 2014).

## 1.2 COMPOSTOS-ALVO

### 1.2.1 Cafeína

A cafeína (CAF, CAS 50-08-2), mostrada na Figura 1, faz parte das metilxantinas e é capaz de estimular o sistema nervoso central. Pode ser encontrada em várias espécies vegetais, tais como guaraná, café e chás e também na composição de medicamentos e bebidas energéticas, além de produtos de higiene pessoal.

Figura 1 - Estrutura molecular da cafeína (CAF).



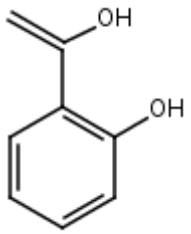

Fonte: autoria própria.

Além de ser utilizada como indicadora de contaminação, estudos revelam que elevadas concentrações de CAF podem causar efeitos negativos em peixes, como a diminuição da capacidade de locomoção e a morte de embriões (CHEN et al., 2008).

### 1.2.2 Ácido Salicílico

O ácido salicílico (ASA, CAS - 69-72-7), mostrado na Figura 2, é o principal metabólito da aspirina (medicamento mais consumido no mundo durante os últimos dois séculos) e provavelmente é o responsável por muitos dos efeitos farmacológicos desse medicamento (CHOI et al., 2015).

Figura 2 - Estrutura molecular do ácido salicílico (ASA).



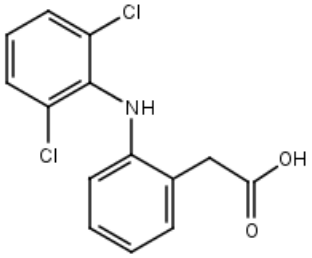

Fonte: autoria própria

Trata-se de um beta-hidroxiácido fenólico que apresenta propriedade queratolíticas e antimicrobianas. É um composto auxiliar no tratamento da acne e muito utilizado no tratamento de dermatite seborreica, doença descamativa de caráter crônico, dor, febre e inflamação (CHOI et al., 2015; KEDE; SABATOVICH, 2004; SAMPAIO et al., 2011). Nas plantas, mesmo em baixas concentrações pode atuar como um hormônio vegetal e está envolvida em processos de sinalização de defesa vegetal contra organismos patogênicos (WEBER et al., 2012).

### 1.2.3 Diclofenaco

O diclofenaco (DCF, CAS-15307-79-6), mostrado na Figura 3, anti-inflamatório não-esteroidal, possui propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antirreumáticas e antipiréticas. Atua como inibidor da síntese das prostaglandinas que influenciam diretamente na inflamação, dor e febre. Estudos apontam que o DCF é um dos fármacos AINE mais vendidos no mundo, sendo utilizado em 120 países (CHRISTEN et al., 2010; SARAVANAN; KARTHIKA; RAMESH, 2011; SOUZA; FERRÃO, 2006).

Figura 3 - Estrutura molecular do Diclofenaco (DCF).




Fonte: Autoria própria

No Brasil, o DCF também é utilizado na agropecuária. De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em sua Instrução Normativa Nº 09, de 21 de fevereiro de 2017, que trata do plano de amostragem e limites de referência para o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal, para o gado bovino, por exemplo, o limite de referência para o DCF é de 5 µg $kg^{-1}$ (BRASIL, 2017).

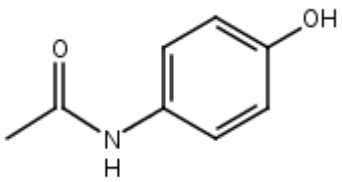
A eliminação do DCF se dá principalmente pela urina. Aproximadamente 60% da dose administrada é excretada na forma de metabólitos. Observa-se que menos de 1% é excretado na forma não modificada, ou seja, como substância inalterada. O restante da dose é eliminada na forma de metabólitos através da bile nas fezes (DICLOFENACO SÓDICO, s.d.).

A presença de diclofenaco no meio aquático ao redor do mundo, inclusive no Brasil (ISLAS-FLORES et al., 2013; GHISELLI, 2006) é preocupante visto que o DCF e seus metabólitos podem provocar complicações renais em aves e mortandade de peixes (COLEMAN et al., 2004; SARAVANAN; KARTHIKA; RAMESH, 2011; STEPANOVA et al., 2013; TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2006).

### 1.2.4 Paracetamol

O paracetamol (PAR, CAS-103-90-2), mostrado na Figura 4, é um fármaco com propriedades analgésicas, utilizado na redução da febre e para o alívio temporário de dores relacionadas a gripes e resfriados, especialmente utilizado em pediatria. Apesar de considerado seguro, ingestões diárias acima de 4 g podem provocar hepatotoxicidade (CHRISTEN et al., 2010; SEBBEN et al., 2010).

Figura 4 - Estrutura molecular do Paracetamol (PAR).




Fonte: Autoria própria

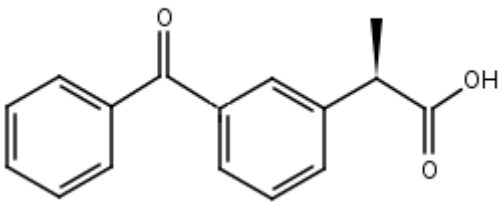
Após a administração oral, aproximadamente 96% do PAR ingerido é rapidamente absorvido e metabolizado pelo fígado; o restante é excretado pela urina (BOUND; VOULVOULIS, 2005). Além da possível hepatotoxicidade, estudos apontam que o uso recorrente do PAR pode ocasionar problemas renais, cardiovasculares e estar relacionado à formação de tumores e doenças do sangue (ROBERTS et al., 2016; WALTER et al., 2011).

Estudos apontam a presença desse fármaco em ambientes aquáticos nos EUA, Alemanha e Brasil (HEBERER, 2002; KRAMER, 2012). Segundo Nava-Álvarez et al. (2014) e Guiloski et al. (2017), a exposição crônica ao paracetamol pode ocasionar redução da atividade enzimática da catalase em carpas (*Cyprinus carpio*) e o aumento na atividade de superóxido dismutase (resposta relacionada ao estresse oxidativo) em peixes da espécie *Rhamdia quelen*.

### 1.2.5 Cetoprofeno

O cetoprofeno (KETO, CAS 22071-15-4), mostrado na Figura 5, é um AINE derivado do ácido propiônico. Ele apresenta efeito analgésico, anti-reumático e atua inibindo a agregação plaquetária. Assim como o DCF, o KETO é inibidor da síntese das prostaglandinas, um mediador químico relacionado à inflamação (CETOPROFENO, s.d.; JAMALI; BROCKS, 1990).

Figura 5 - Estrutura molecular do Cetoprofeno (KETO).




Fonte: Autoria própria

Estudos apontam que o KETO é aproximadamente cem vezes mais potente que a aspirina e apresenta melhores resultados em relação à condição geral do paciente, quando comparado ao DCF. É considerado um dos mediadores mais potentes da dor. Diferentemente da maioria dos anti-inflamatórios que diminuem a síntese de proteoglicanos e aceleram a destruição das cartilagens articulares, o KETO minimiza o estado degradativo da articulação, ou seja, apresenta ação condroprotetora (LANDONI; CUNNINGHAM; LEES, 1995; MALINOVSKY et al., 1998; SARZI-PUTTINI et al., 2013).

Embora esse fármaco seja aprovado para uso veterinário em países como Brasil e Canadá (PAPICH, 2007), o KETO não é autorizado para tal finalidade nos Estados Unidos (GRISNEAUX et al., 1999; PETERSOM; TALCOTT, 2013).

Apesar do seu uso ser aparentemente seguro, estudos mostram que pode ocasionar toxicidade em cães (renal e gastrointestinal), urubus (depressão, gota abdominal e inchaço da cabeça) e em ambientes aquáticos também apresentam risco para diversas espécies aquáticas (PLUMB, 2002; NAIDOO et al., 2010a, 2010b; FOURIE et al., 2015; PRASKOVA et al., 2013).

## 1.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E COMPORTAMENTO NO MEIO AMBIENTE

O comportamento de poluentes orgânicos no meio ambiente entre outros fatores está relacionado às respectivas solubilidades em água. Quanto maior o logaritmo do coeficiente de partição *n*-octanol/água (log $K_{ow}$) de um composto, mais lipofílico ele é e maior é a tendência dele estar adsorvido em materiais particulados, em sedimentos e de se bioacumular em organismos vivos (VIGNATI et al., 2009). Os valores de solubilidade em água e do log $K_{ow}$ e da massa molar dos fármacos em estudo estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Características físico-químicas dos fármacos

| **Composto** | **MM (g mol$^{-1}$)** | **log $K_{ow}$** | **Solubilidade (g L$^{-1}$) a 25 ºC** |
|---|---|---|---|
| ASA | 138,1 | 2,26 | 3,0 |
| CAF | 194,2 | 0,01 | 21,7 |
| KETO | 254,3 | 3,12 | $5{,}3.10^{-2}$ |
| DCF | 296,2 | 4,50 | $4{,}8.\ 10^{-3}$ |
| PAR | 151,2 | 0,46 | 14,2 |

Fonte: NCBI, 2019; MONTAGNER; JARDIM, 2011; GHISELLI; JARDIM, 2007; RODIL et al., 2009; HERWIG et al., 2001

De maneira geral, a solubilidade em água diminui tanto com o aumento do log $K_{ow}$ quanto da massa molar de um composto. Estima-se que compostos com valores de log $K_{ow} > 5$ e elevada massa molar (lipofílicos) adsorvam em materiais particulados e sedimentos e que os com log $K_{ow} < 5$ e baixa massa molar (hidrofílicos) estarão provavelmente dissolvidos nos corpos d'água (VIGNATI et al., 2009).

## REFERÊNCIAS


BOUND, J. P.; VOULVOULIS, N. Household disposal of pharmaceuticals as a pathway for aquatic contamination in the United Kingdom. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 12, p. 1705-1711, 2005.

BRASIL. Câmara dos Deputados. Comissão de Defesa do Consumidor, Meio Ambiente e Minorias. **Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento:** Agenda 21. Brasília: 1995.

BRASIL. Instrução Normativa nº 9, de 21 de fevereiro de 2017. **Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 08 mar. 2017.

BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518-1532, 2011.

BREDARIOL, Celso. **Conflito ambiental e negociação para uma política local de meio ambiente**. 2001. 216 f. Tese (Doutorado em planejamento). Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

BRICKS, L. F.. Analgésicos, antitérmicos e antiinflamatórios não hormonais: Toxicidade-Parte I. **Pediatria (Säo Paulo)**, v. 20, n. 2, p. 126-36, 1998.

CAMPANHA, M. B.; AWAN, A. T.; SOUSA, D. N. R.; GROSSELI, G. M.; MOZETO, A. M.; FADINI, P. S. A 3-year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 10, p. 7936-7947, 2015.

CARTAGENA, C. J. Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmacéuticos. **Revista lasallista de investigación**, v. 8, n. 2, p. 143-153, 2011.

CELIZ, M. D.; TSO, J.; AGA, D. S. Pharmaceutical metabolites in the environment: analytical challenges and ecological risks. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 12, p. 2473-2484, 2009.

CETOPROFENO. Responsável Técnico: Antonia A. Oliveira CRF-SP n° 5.854. [s.d.]. São Paulo: Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda. Bula de remédio. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=2317762013&pIdAnexo=1545842>. Acesso em: 19 jun. 2017.

CHEN, Y. H.; HUANG, Y. H.; WEN, C. C.; WANG, Y. H.; CHEN, W. L.; CHEN, L.C; TASY, H. J. Movement disorder and neuromuscular change in zebrafish embryos after exposure to caffeine. **Neurotoxicology and teratology**, v. 30, n. 5, p. 440-447, 2008.

CHOI, H. W.; TIAN, M.; MANOHAR, M.; HARRAZ, M. M.; PARK, S.; SCHROEDER, F. C.; SNYDER, S. H.; KLESSING, D. F. Human GAPDH is a target of aspirin's primary metabolite salicylic acid and its derivatives. **PLoS One**, v. 10, n. 11, p. e0143447, 2015.

CHRISTEN, V.; HICKMANN, S.; RECHENBERG, B.; FENT, K. Highly active human pharmaceuticals in aquatic systems: a concept for their identification based on their mode of action. **Aquatic toxicology**, v. 96, n. 3, p. 167-181, 2010.

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 immobilised titanium dioxide catalyst. **Water research**, v. 38, n. 14-15, p. 3233-3240, 2004.

D`AMATO, C.; TORRES, J.; MALM, O. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental-uma revisão. **Química Nova**, v. 25, n. 6/A, p. 995-1002, 2002.

DARBRE, P. D.; SAUER, M. J.; COLDHM, N. G.; MILLER, W. R.; ALJARRAH; A.; POPE, G. S.et al. Concentrations of parabens in human breast tumours. **Journal of Applied Toxicology: An International Journal**, v. 24, n. 1, p. 5-13, 2004.

DAUGHTON, C. G.; TERNES, T. A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. **Environmental health perspectives**, v. 107, n. suppl 6, p. 907-938, 1999.

DICLOFENACO SÓDICO. Responsável Técnico: Charles Ricardo Mafra - CRF-MG 10.883. [s.d.]. Pouso Alegre: CIMED INDÚSTRIA DE MEDICAMENTOS LTDA. Bula de remédio. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=18188592016&pIdAnexo=3525035>, Acesso em: 13 jun. 2017.

FACHIN, Z.; SILVA, D. M. Direito fundamental de acesso à água potável: uma proposta de constitucionalização. 2010. Disponível em: <http://www.lfg.com.br>. Acesso em: 15 março de 2015.

FOURIE, T.; CROMARTY, D.; DUNCAN, N.; WOLTER, K.;NAIDOO, V. The safety and pharmacokinetics of carprofen, flunixin and phenylbutazone in the Cape Vulture (Gyps coprotheres) following oral exposure. **PloS one,** v. 10, n. 10, 2015.

GARRISON, A. W. GC/MS analysis of organic compounds in domestic wastewaters. **Identification and analysis of organic pollutants in water**, 1976.

GHISELLI, Gislaine. **Avaliação da qualidade das aguas destinadas ao abastecimento publico na região de Campinas: ocorrencia e determinação dos interferentes endocrinos (IE) e produtos farmaceuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. 2006. 211p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Quimica, Campinas, SP. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/249644>. Acesso em: 7 ago. 2018.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química nova**, v.30, n.3, p. 695-706, 2007.

GRISNEAUX, E.; PIBAROT, P.; DUPUIS, J.; BLAIS, D. Comparison of ketoprofen and carprofen administered prior to orthopedic surgery for control of postoperative pain in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** v. 215: p. 1105-1110, 1999.

GUILOSKI, I. C.; RIBAS, J. L. C.; PEREIRA, L. S.; NEVES, A. P. P.; ASSIS, H. S. Effects of trophic exposure to dexamethasone and diclofenac in freshwater fish. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 114, p. 204-211, 2015.

GUILOSKI, I. C.; RIBAS, J. L. C.; PIANCINI, L. D. S.; DAGOSTIM, A. C.; CIRIO, S. M.; FÁVARO, L.F.; BOSCHEN, S. L.; CESTARI, M. M.; DA CUNHA, C.; SILVA DE ASSIS, H. C. Paracetamol causes endocrine disruption and hepatotoxicity in male fish Rhamdia quelen after subchronic exposure. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 53, p. 111-120, 2017.

HALLING-SØRENSEN, B.; NORS, N. S.; LANZKY, P. F.; INGERSLEY, F. HOLTEN L. H. C. JØRGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology letters**, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, 2002.

HERWIG, U.; KLUMPP, E.; NARRES, H. D.; SCHWUGER, M. J. Physicochemical interactions between atrazine and clay minerals. **Applied Clay Science**, v. 18, n. 5-6, p. 211-222, 2001.

HIGNITE, C.; AZARNOFF, D. L. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. **Life Sciences**, v. 20, n. 2, p. 337-341, 1977.

IDE, A. H.; CARDOSO, F. D.; SANTOS, M. M.; KRAMER, R. D.; AZEVEDO, J. C. R.; MIZUKAWA, A. Utilização da cafeína como indicador de contaminação por esgotos domésticos na Bacia do Alto Iguaçu. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 18, n. 2, p. 201-211, 2013.

IMS HEALTH DO BRASIL. Auditoria de Mercado Farmacêutico: Pharmaceutical Market Brazil (PMB), base de Ago'16, canal varejo/farmácias, total Brasil. QuintilesIMS. Publicação eletrônica [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <maykel@usp.br> em 27 nov. 2016

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA (IBGE). Departamento de população; indicadores sociais. **Pesquisa nacional de saneamento básico**: 2000. Brasília, 2002. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pnsb/pnsb.pdf >. Acesso em: 16 mar. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA (IBGE). Departamento de população; indicadores sociais. **Pesquisa nacional de saneamento básico**: 2008. Brasília, 2010. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pnsb2008/PNSB_2008.pdf >. Acesso em: 16 mar. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA (IBGE). Departamento de população; indicadores sociais. **Pesquisa nacional de saneamento básico**: 2017. Brasília, 2018. Disponível em: < https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101610.pdf >. Acesso em: 6 mai. 2019.

ISLAS-FLORES, H.; GÓMEZ-OLIVÁN L. M.; GALAR-MARTÍNEZ M.; COLÍN-CRUZ A.; NERI-CRUZ, N.; GARCÍA-MEDINA, S. Diclofenac-induced oxidative stress in brain, liver, gill and blood of common carp (Cyprinus carpio). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 92, p. 32-38, 2013.

JAMALI, F.; BROCKS, D. R. Clinical pharmacokinetics of ketoprofen and its enantiomers. **Clinical pharmacokinetics**, v. 19, n. 3, p. 197-217, 1990.

JONES-LEPP, T. L; ALVAREZ, D. A.; PETTY, A.D.; HUCKINS, J. N. Polar organic chemical integrative sampling (POCIS) and LC-ES/ITMS for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**, v. 47, n. 4, p. 427-439, 2004.

KEDE, M. P. V.; SABATOVICH, O. **Dermatologia Estética.** São Paulo: Editora Atheneu, 2004. 1320 p.

KNEPPER, T. P.; SACHER, F.; LANGE, F.T.; BRAUCH, H. J. Detection of polar organic substances relevant for drinking water. **Waste Management**, v. 19, n. 2, p. 77-99, 1999.

KRAMER, Rafael Duarte. **Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu: caracterização física e química e determinação de diclofenaco, ibuprofeno e paracetamol**. 2012. 121 f. Dissertação de Mestrado. (Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2012.

KÜMMERER, K. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use–present knowledge and future challenges. **Journal of environmental management**, v. 90, n. 8, p. 2354-2366, 2009.

KUSTER, M.; ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Estrogens and progestogens in wastewater, sludge, sediments, and soil. In: **Water Pollution**. Berlin: Springer, 2005. p. 1-24.

LANDONI, M. F.; CUNNINGHAM, F. M.; LEES, P. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ketoprofen in calves applying PK/PD modelling. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 18, n. 5, p. 315-324, 1995.

MALINOVSKY, J. M.; LE NORMAND, L.; LEPAGE, J. Y.; MALINGE, M.; COZIAN, A.; PINAUD, M.; BUZELIN, J. M. The urodynamic effects of intravenous opioids and ketoprofen in humans. **Anesthesia & Analgesia**, v. 87, n. 2, p. 456-461, 1998.

MEZZELANI, M.; GORBI, S.; FATTORINI, G.; D'ERRICO, G.; CONSOLANDI, G.; MILAN, M.; BARGELLONI, L.; REGOLI, F. Long-term exposure of Mytilus galloprovincialis to diclofenac, Ibuprofen and Ketoprofen: Insights into bioavailability, biomarkers and transcriptomic changes. **Chemosphere**, v. 198, p. 238-248, 2018.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). PubChem Database. **Acetaminophen**, CID=1983. Disponível em: < https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetaminophen> Acesso em 13 de ago. de 2019.

NAIDOO, V.; WOLTER, K.; CROMARTY, D.; DIEKMANN, M.; DUNCAN, N.; MEHARG, A. A.; TAGGART, M. A.; VENTER, L.; CUTHBERT R. Toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs to Gyps vultures: a new threat from ketoprofen. **Biology letters**, v. 6, n. 3, p. 339-341, 2010a.

NAIDOO, V.; VENTER, L.; WOLTER, K.; TAGGART, M.; CUTHBERT, R. The toxicokinetics of ketoprofen in Gyps coprotheres: toxicity due to zero-order metabolism. **Archives of toxicology**, v.84, n. 10, 761-766. 2010b.

NAVA-ÁLVAREZ, R.; RAZO-ESTRADA, A. C.; MEDINA, S. G.; GÓMEZ-OLIVÁN, L. M.; MARTÍNEZ, M. G. Oxidative Stress Induced by Mixture of Diclofenac and Acetaminophen on Common Carp (*Cyprinus carpio*). **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 225, n. 2, p. 1-9, 2014.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **Declaração universal dos direitos da água.** Rio de Janeiro, 1992. Disponível em: http://www.direitoshumanos.usp.br/index.php/Meio-Ambiente/declaracao-universal-dos-direitos-da-agua.html / >. Acesso em: 13 agosto de 2019.

PAPICH, M.G. **Saunders handbook of veterinary drugs**. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2007. 928 p.

PETERSON, M. E.; TALCOTT, P. A. **Small Animal Toxicology.** Saint Louis: Elsevier, 2013. 911 p.

PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Application of liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QqTOF-MS) in the environmental analysis. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 41, n. 10, p. 1259-1267, 2006.

PETROVIĆ, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 685-696, 2003.

PLUMB, Donald C. **Veterinary drug handbook**. Iowa: Iowa State Press, 2002. 1436 p.

PRÁŠKOVÁ, E.; ŠTĚPÁNOVÁ, S.; CHROMCOVÁ, L.; PLHALOVÁ, L.; VOSLÁŘOVÁ, E.; PIŠTĚKOVÁ, V.;PROKES, M.; SVOBODOVÁ, Z. The effects of subchronic exposure to ketoprofen on early developmental stages of common carp. **Acta Veterinaria Brno**, v. 82, n. 3, p. 343-347, 2013.

RAIMUNDO, Cassiana Carolina Montagner. **Contaminantes emergentes em água tratada e seus mananciais: sazonalidade, remoção e atividade estrogênica.** 2011. 172 f. Tese

(Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

RICHARDSON, S. D.; TERNES, T. A. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical chemistry**, v. 83, n. 12, p. 4614-4648, 2011.

ROBERTS, E.; NUNES V. D.; BUCKNER, S.; LATCHEM, S.; CONSTANTI, M.; MILLER, P.; DOHERTY, M.; ZHANG, W.; BIRRELL, F.; PORCHERET, M.; DZIEDZIC, K.; BERNSTEIN, I.;WISE, E.; CONAGHAN, P. G. Paracetamol: not as safe as we thought? A systematic literature review of observational studies. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 75, n. 3, p. 552-559, 2016.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; LOPEZ, M. P.; MUNIATEGUI, L. S.; PRADA, D. R. Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 14, p. 2958-2969, 2009.

SALDANHA, G. C.; BASTOS, W. R.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT in fishes and soils of lakes from Brazilian Amazon: case study of Puruzinho Lake (Amazon, Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 2, p. 306-311, 2010.

SAMPAIO, A. L. S. B.; MAMERI, A. C. A.; VARGAS, T. J. S.; SILVA, M. R.; NUNES, A. P.; CARNEIRO, S. C. S. Dermatite seborreica. **An. bras. dermatol**, v. 86, n. 6, p. 1061-1074, 2011.

SARAVANAN, M.; KARTHIKA, S.; RAMESH, M. Ecotoxicological impacts of clofibric acid and diclofenac in common carp (Cyprinus carpio) fingerlings: hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. **Journal of hazardous materials**, v. 195, p. 188-194, 2011.

SARZI-PUTTINI, P.; ATZENI, F.; LANATA, L.; BAGNASCO, M. Efficacy of ketoprofen vs. ibuprofen and diclofenac: a systematic review of the literature and meta-analysis. **Clin Exp Rheumatol**, v. 31, n. 5, p. 731-8, 2013.

SCHWARZENBACH, R. P.; ESCHER, B.I.; FENNER, K.; HOFSTETTER, T. B.; JOHNSON, C. A. VON GUNTEN, U.; WEHRLJ, B. The challenge of micropollutants in aquatic systems. **Science**, v. 313, n. 5790, p. 1072-1077, 2006.

SEBBEN, V. C. LUGOCH, R. W.; SCHLINKER, C. S.; ARBO, M. D.; VIANNA, R. L. Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica de paracetamol. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 2, p. 143-148, 2010.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: a sewage-to-tap issue. **Water, air, and soil pollution**, v. 206, n. 1-4, p. 57-67, 2010.

SANTOS, B. S. **A crítica da razão indolente:** contra o desperdício da experiência. São Paulo: Editora Cortez, 2000. 416 p.

SOUZA, J. S.; FERRÃO, M. F. Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I: Dosagem por regressão multivariada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 437-445, 2006.

STAN, H.J.; HEBERER, T.; LINKERHÄGNER, M. Occurrence of clofibric acid in the aquatic system-- is the use in human medical care the source of the contamination of surface, ground and drinking water? **Vom Wasser. Weinheim**, v. 83, p. 57-68, 1994.

STEPANOVA, S.; PRASKOVA, E.; CHROMCOVA, L.; PLHALOVA, L.; PROKES, M.; BLAHOVA, J.; SVOBODOVA, Z. The effects of diclofenac on early life stages of common carp (Cyprinus carpio). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 35, n. 3, p. 454-460, 2013.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em ecologia**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 592 p.

VIGNATI, D. A. L.; VALSECCHI, S.; POLESELLO, L.; DOMINIK, J. Pollutant partitioning for monitoring surface waters. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 2, p. 159-169, 2009.

VIVIANO, G. SALERNO, F.; MANFREDI, C. E.; POLESELLO, S.; VALSECCHI, S.; TARTARI, G. Surrogate measures for providing high frequency estimates of total phosphorus concentrations in urban watersheds. **Water Research**, v. 64, p. 265-277, 2014.

WALTER, R. B.; MILANO, F.; BRASKY, T. M.; WHITE, E. Long-term use of acetaminophen, aspirin, and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of hematologic malignancies: results from the prospective Vitamins and Lifestyle (VITAL) study. **Journal of clinical oncology**, v. 29, n. 17, p. 2424, 2011.

WEBER, D.; JONES, E.; BESKOW, G. T.; BARBOSA, M. M.; DEL AGUILA, J. S.; FACHINELLO, J. C. Ácido salicílico e refrigeração na conservação de maracujás. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 13, n. 2, p. 123-129, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Report on surveillance of antibiotic consumption:** 2016-2018. Early implementation. Genebra, 2018. 114 p. Disponível em: < https://www.who.int/medicines/areas/rational_use/who-amr-amc-report-20181109.pdf> Acesso em 28 ago. 2019.

# 2

# VALIDAÇÃO ANALÍTICA

## 2.1 INTRODUÇÃO

A presença dos contaminantes emergentes, em especial dos fármacos, nos recursos hídricos é uma realidade global. Observa-se (Tabela 2) que a ocorrência dos AINEs é variada, desde efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE) a águas subterrâneas.

Tabela 2 - Contaminantes emergentes e suas respectivas concentrações máximas em diferentes localidades

| Substância | Local do Estudo | | (ng $L^{-1}$) | Referência |
|---|---|---|---|---|
| **Cafeína** | Brasil | Rio Atibaia | $1{,}27.10^5$ | MONTAGNER; JARDIM, 2011 |
| | China | Qiujiang River | 8.571 | ZHOU et al., 2016 |
| | EUA | Missouri/EUA (Rios e reservatórios para abastecimento) | 224,8 | WANG et al., 2011 |
| **Ácido Salicílico** | Espanha | Águas subterrâneas | 620 | LÓPEZ-SERNA et al., 2013 |
| | EUA | Missouri/EUA (Rios e reservatórios para abastecimento) | 77,2 | WANG et al., 2011 |
| **Diclofenaco** | Costa Rica | Rio Java | 266 | SPONGBER et al., 2011 |
| | Brasil | Rio Atibaia | 96 | MONTAGNER; JARDIM, 2011 |
| **Cetoprofeno** | Espanha | (Entrada de ETE) | 2.080 | MARTÍN et al., 2012 |
| | Suíça | Lago Greifensee | 180 | TIXIER et al., 2003 |
| **Paracetamol** | Coréia do Sul | Rio Han | 260 | PARK; KIM; CHOI, 2007 |

Fonte: Autoria própria.

Outro ponto importante, além da presença em diferentes localidades, são as grandes variações nas concentrações encontradas ao redor do mundo, como por exemplo, a cafeína, com uma diferença de aproximadamente 10 vezes entre o máximo e o mínimo detectados.

Segundo Petrovic et al. (2003), a falta de métodos capazes de quantificar compostos em baixas concentrações era um dos principais fatores limitantes da análise dos contaminantes emergentes. O avanço no desenvolvimento da instrumentação analítica nos últimos anos, proporcionou o surgimento de técnicas de preparação de amostra, capazes de extrair e concentrar os compostos de interesse a partir de matrizes complexas e também melhorou a sensibilidade e a especificidade dos sistemas de detecção.

No entanto, apesar do crescente número de métodos de análise desenvolvidos nos últimos anos, segundo Vidal et al. (2006), existem muitos fatores que podem influenciar o resultado da análise. Assim, ainda existe a necessidade de se desenvolverem métodos confiáveis, sensíveis, rápidos, seguros e de ampla aplicação (multirresíduos).

Um novo método analítico deve passar por uma avaliação chamada de validação para assegurar a credibilidade dos dados gerados. De acordo com a Anvisa, estudos experimentais devem ser realizados no intuito de se assegurar que o método atenda às expectativas analíticas para as quais se propõe, garantindo a confiabilidade dos resultados obtidos (VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2013; RIBANI et al., 2004; WALSH, 1999; BRASIL, 2003).

Existem diversas diretrizes recomendadas por diferentes agências reguladoras nacionais e internacionais que descrevem os procedimentos e estabelecem os parâmetros que devem ser avaliados durante a validação. Mas de acordo com Krull e Swartz (2001) tais recomendações são propositalmente vagas para permitir que o analista faça as adaptações necessárias de acordo com o método utilizado. De maneira geral, uma boa validação fornece às agências reguladoras informações claras e precisas de que a metodologia utilizada é adequada para o uso desejado (VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2013; RIBANI et al., 2004; BRASIL, 2003; WALSH, 1999; SWARTZ; KRULL, 2001).

### 2.1.1 Seletividade e o Efeito de Matriz

A seletividade analítica é a capacidade de se produzir respostas inequívocas das substâncias analisadas, ainda que na presença de uma amostra complexa, ou seja, assegurar que cada analito apresente um único e exclusivo sinal (resposta) ( PHARMACOPEIA, 1999; VESSMAN, et al., 2001).

Uma das maneiras de se avaliar a seletividade é comparar as respostas obtidas em análises da "matriz branca" (isenta das substâncias de interesse) com aquelas da matriz branca fortificada (spiked) com os analitos de interesse. Para que o método seja considerado seletivo, as substâncias de interesse devem ser separadas entre si e dos demais componentes e apresentarem tempos de retenção únicos, característicos e distintos de quaisquer outras substâncias presentes na amostra (RIBANI et al., 2004; JOINT et al., 1995; VALENTINI SHABIR, 2003; SOMMER; MATIOLI, 2013).

A análise de amostras complexas pode ser um grande desafio para o analista devido à variedade de substâncias presentes, impurezas, compostos com propriedades físico-químicas semelhantes e possíveis produtos de degradação que possam coeluir e interferir na análise dos analitos. Fenômenos como a diminuição ou amplificação da resposta podem ser causados por substâncias que compõem a matriz amostral. O efeito matriz é um estudo de seletividade que objetiva averiguar possíveis interferências e aplicar as correções necessárias. De acordo com o MAPA, a avaliação do paralelismo entre as curvas referentes ao analito em solvente e a amostra foriticada com o analito é um possível critério utilizado na avaliação desse parâmetro. (MAPA, 2011; BRASIL, 2003).

### 2.1.2 Limite de detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Estabelecidas as condições experimentais, entende-se por limite de detecção a menor quantidade detectável, mas não necessariamente quantificável, do analito presente em uma amostra. Já o limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão (BRASIL, 2003).

O método mais utilizado para a determinação desses limites em procedimentos analíticos que mostram o ruído da linha de base é o da relação sinal-ruído. Nesse método são comparados os valores dos sinais da amostra em baixas concentrações pré-estabelecidas do analito de interesse na matriz com um branco da amostra. De acordo com a ANVISA, para a relação sinal-ruído são aceitáveis valores iguais ou superiores à razão 3:1 para o LD e 10:1 para o LQ (BRASIL, 2003).

### 2.1.3 Linearidade

Dentro de um intervalo de aplicação, linearidade é a capacidade do procedimento analítico de apresentar correlação diretamente proporcional entre a resposta e a massa ou concentração da substância presente em uma amostra (BRASIL, 2003; PHARMACOPEIA, 1999). Diversos métodos como padronização externa, interna, superposição de matriz e adição-padrão podem ser utilizados para o estudo da linearidade. A escolha do método dependerá de diversos fatores relacionados às características dos analitos, das matrizes e dos equipamentos de análise.

No método de adição-padrão, antes do preparo da amostra são adicionadas quantidades conhecidas do analito de interesse a quantidades conhecidas de amostra. Já o método de padronização externa consiste em constuir uma curva analítica a partir de soluções de concentrações conhecidas preparadas a partir de um padrão e comparar com a área obtida da análise da substância de interesse na amostra. No método de padronização interna são preparadas soluções-padrão de concentrações conhecidas do analito de interesse e adicionadas quantidades iguais de um composto chamado padrão interno. Por fim, no método de superposição de matriz, é utilizada uma matriz similar à da amostra real, isenta do composto a ser analisado. São preparadas soluções em diversas concentrações que são utilizadas para a construção da curva de calibração que servirá de referência para comparar com a área obtida da análise da substância de interesse na amostra. Apesar de similar à padronização externa, o método de superposição de matriz compensa possíveis interferências e efeitos de matriz que possam interferir no preparo da amostra e na detecção do analito de interesse, fornecendo melhor correlação com a composição da amostra (RIBANI et al., 2004; SOMMER; MATIOLI, 2013; SWARTZ; KRULL, 2001).

Os dados obtidos das respostas medidas para diferentes massas ou concentrações conhecidas do analito são tratados através da regressão linear e o resultado pode ser expresso como uma equação de reta (BARROS NETO; PIMENTEL; ARAÚJO, 2002). A significância estatística da equação de regressão linear deve ser avaliada através de testes como o de ajuste do modelo linear para que a validade da regressão seja comprovada. O coeficiente de correlação (R) pode ser utilizado como diretriz para se avaliar o ajuste dos dados à linha de regressão (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010). Diferentes valores de R são aceitos como válidos pelas diretrizes normativas. De acordo com a ANVISA, esse deve ser igual ou superior a 0,99; já de acordo com o INMETRO, o valor deve ser igual ou acima de 0,90 (BRASIL, 2003; INMETRO, 2016). Além disso, o intervalo de aplicação da curva analítica deve atender a requisitos de precisão e exatidão e conter a concentração correspondente ao LQ (SWARTZ; KRULL, 2001).

### 2.1.4 Precisão e Exatidão

Dentro de um intervalo de aplicação e condições definidas, a precisão representa a dispersão dos resultados de ensaios independentes repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões. Já a exatidão representa o nível de concordância entre os resultados individuais obtidos de um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (BRASIL, 2003; SWARTZ; KRULL, 2001).

## 2.2 OBJETIVOS

O objetivo dessa etapa do trabalho foi desenvolver e validar um método analítico multirresíduo para a determinação de cafeína, ácido salicílico, diclofenaco, cetoprofeno e paracetamol em águas superficiais de rios.

## 2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.3.1 Reagentes

Ácido salicilico (ASA, CAS 50-08-2), paracetamol (PAR, CAS 103-0-2), diclofenaco de sódio (DCF, CAS 15307-79-6), cetoprofeno (KETO, CAS 22071-15-4), e cafeína (CAF, CAS 58-08-2) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (pureza de 99%). As soluções com a mistura dos fármacos foram preparadas dissolvendo-se uma quantidade pré-determinada de cada composto em água ultra pura e em metanol. O ácido oxálico dihidratado foi adquirido da Synth (pureza 99%). Nitrato de ferro(III) nonahidratado (CAS 2018-0, pureza 98,4%), metanol e acetonitrila (grau HPLC) foram obtidos da J. T. Baker. Peróxido de hidrogênio (50%), ácido fórmico (85%), ácido clorídrico (37%) e ácido nítrico (65%) da Merck.

### 2.3.2 Soluções padrões de diluições

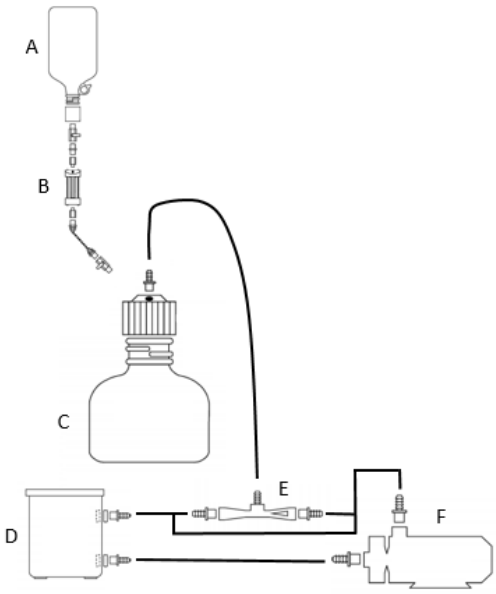
Foram preparadas soluções-estoque (em água e em metanol) individuais dos fármacos na concentração de 1.000 µg $L^{-1}$, bem como soluções-estoque da mistura dos cinco fármacos também na concentração de 1.000 µg $L^{-1}$ de cada fármaco. As soluções utilizadas para a construção das curvas analíticas e fortificação de matrizes e amostras foram feitas através de diluições das soluções-estoque iniciais. Todas as soluções (estoque e diluições) foram guardadas refrigeradas pelo prazo máximo de 15 dias. Durante esse período não foram verificadas alterações nas amostras.

### 2.3.3 Extração em fase sólida (SPE)

Os fármacos foram extraídos via SPE, utilizando-se um sistema a vácuo adaptado de Sodré et al. (2010), com apresentação esquemática na Figura 6, semelhante ao adotado pela *American Society for Testing and Materials Standards*, que permite o processamento *in line* de grandes volumes de amostras. O sistema é constituido por conexões de latão, aço inox e peças

de politetrafluoretileno (PTFE, Teflon®) a fim de se eliminar riscos de contaminação (SODRÉ, 2010; ASTM, 2006).

Figura 6 - Representação esquemática simplificada do sistema a vácuo: A – reservatório de vidro contendo a amostra; B – conjunto de extração contendo cartucho SPE; C – Bombona de plástico reforçado; D - reservatório com água; E – Injetor Venturi; F – Bomba centrifuga.




Fonte: Adaptado de SODRÉ et al., 2010.

Os cartuchos de extração foram afixados nas conexões das peças de PTFE. O vácuo foi criado por uma bomba centrífuga de ½ CV em um sistema de trompa de vácuo que possibilita o ajuste do fluxo da passagem da amostra pelo cartucho de extração.

As extrações foram realizadas a uma vazão de 10 mL $min^{-1}$, a vácuo, por meio da passagem da 1 L da amostra pelos cartuchos Strata–X Reversed Phase da Phenomenex contendo 200 mg de fase sólida extratora. Os cartuchos foram previamente condicionados com 6 mL de metanol, 6 mL de água ultrapura e 6 mL de água ultrapura a pH 3 (acidificada com HCl 5 mol $L^{-1}$). A escolha do cartucho foi devido à característica de sua fase à base de sílica que possibilita a retenção de analitos orgânicos hidrofóbicos e polares, a partir de matrizes aquosas.

As eluições dos analitos foram realizadas utilizando-se um *manifold* a vácuo de 12 portas por meio da adição de 6 mL de metanol a uma vazão de 10 mL $min^{-1}$. O volume eluido foi coletado em tubos de ensaio, secos sob fluxo brando de $N_2$ (White Martins) e o volume final

foi ajustado para 500 µL por meio da adição de metanol. Esse procedimento permitiu concentrar 2.000 vezes os analitos nos extratos. Os extratos foram acondicionados em geladeira e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) dentro de 24 h.

### 2.3.4 Análise cromatográfica

Os analitos foram identificados e quantificados usando-se CLAE em um cromatógrafo com amostrador automático (Agilent 1200, Agilent Technologies, Inc., EUA) equipado com um detector de arranjo de diodo (DAD). A separação foi realizada em uma coluna Poroshell 120 EC-C18, 2.7 µm, 4.6 mm × 50 mm fase reversa (Agilent, Inc., EUA) mantida a 40 °C. Para as injecções das amostras, utilizou-se um amostrador automático com 3 µL de looping e o eluente da coluna foi monitorado a: 241 nm (PAR e ASA), 255 nm (KETO) e 275 nm (CAF e DCF). A fase móvel foi composta por: 0,1% de ácido fórmico em água (solvente A), metanol (solvente B) a 0,6 mL $min^{-1}$ de vazão. O gradiente empregado é mostrado na Tabela 3. O tempo total de análise foi 16 min.

Tabela 3 - Gradiente de eluição: A – 0.1% ácido fórmico em água; B – metanol

| Tempo (min) | Solventes | |
|---|---|---|
| | A | B |
| 0 | 70 | 30 |
| 7 | 30 | 70 |
| 14 | 30 | 70 |
| 16 | 70 | 30 |

### 2.3.5 Validação do método Analítico

A fim de garantir a confiabilidade do método analítico e a qualidade dos dados obtidos utilizou-se como base para o procedimento de validação as diretrizes da ANVISA, INMETRO, MAPA e da U.S. PHARMACOPEIA. (PHARMACOPEIA, 1999; BRASIL, 2003; INMETRO, 2016; MAPA, 2011).

### 2.3.6 Seletividade

A capacidade de identificar os analitos de interesse, na possível presença de componentes como impurezas e componentes da matriz no mesmo tempo de retenção cromatográfica dos analitos de interesse indica o quão seletivo é o método. A seletividade do método analítico foi avaliada através das análises de amostras não fortificadas (branco).

### 2.3.7 Linearidade

Para o estudo da linearidade do método as soluções-padrão utilizadas na construção das curvas analíticas foram preparadas em amostras de água superficial de nascente de um dos afluentes do corrégo do Rio Monjolinho (S 22º00’32,1”, O 47º51’38,8”), e submetidas ao processo de extração.

### 2.3.8 Limite de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com a relação sinal-ruído. Considerou-se a relação sinal-ruído 3:1 para o limite de detecção; para o limite de quantificação, o ponto inferior da curva analítica, a relação 10:1, de acordo com o proposto pela ANVISA (BRASIL, 2003).

### 2.3.9 Precisão e exatidão

A precisão foi avaliada pelo estudo da dispersão dos resultados obtidos pelo cálculo do desvio-padrão relativo (DPR) em uma série de medidas pela Equação 1, onde $\overline{x}$ é a média aritimética da série, $x_i$ o dado da série e $N$ o tamanho da população. Já a exatidão do método analítico foi calculada através da Equação 2, que relaciona a concentração experimental (resultados individuais) com a concentração teórica (valor de referência).

$$\text{DPR} = \left( \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N}(x_1 - \bar{x})}{N-1}}}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (2)$$

Para o estudo da precisão e da exatidão foram avaliados três níveis de concentração em tripilcata de acordo com a Tabela 4. A precisão interdias foi avaliada em dois dias diferentes dentro da mesma semana (BRASIL, 2003).

Tabela 4 - Níveis de concentração para cada fármaco analisado

| Fármaco | Concetrações de avaliação (ng $L^{-1}$) | | |
|---|---|---|---|
| PAR | 200 | 280 | 360 |
| CAF | 120 | 200 | 280 |
| ASA | 160 | 240 | 320 |
| KETO | 120 | 200 | 280 |
| DCF | 120 | 200 | 280 |

Observa-se que existem diferenças entre os valores das faixas de trabalho referente a cada composto. Essas diferenças são devidas às variações das respostas analícias obtidas, sendo um fator limitante e determinante para a concentração de trabalho.

### 2.3.10 Recuperação e efeito de matriz

O efeito matriz (EM), a recuperação (RE) e a eficiência (EF) foram determinados segundo o proposto por Matuszewski et al. (2003), através da comparação entre os coeficientes angulares (A) das curvas de calibração construídas com os analitos em solvente, (B) da amostra fortificada com os analitos após a SPE (extrato pós-fortificado) e (C) da amostra fortificada com os analitos antes da SPE, de acordo com as Equações 3, 4 e 5, respectivamente. As curvas foram estabelecidas para os mesmos níveis de concentração (MATUSZEWSKI et al., 2003).

$$\mathrm{EM}(\%) = \frac{\mathrm{B}}{\mathrm{A}} \times 100 \quad (3)$$

$$\mathrm{RE}(\%) = \frac{\mathrm{C}}{\mathrm{B}} \times 100 \quad (4)$$

$$\mathrm{EF}(\%) = \frac{\mathrm{C}}{\mathrm{A}} \times 100 \quad (5)$$

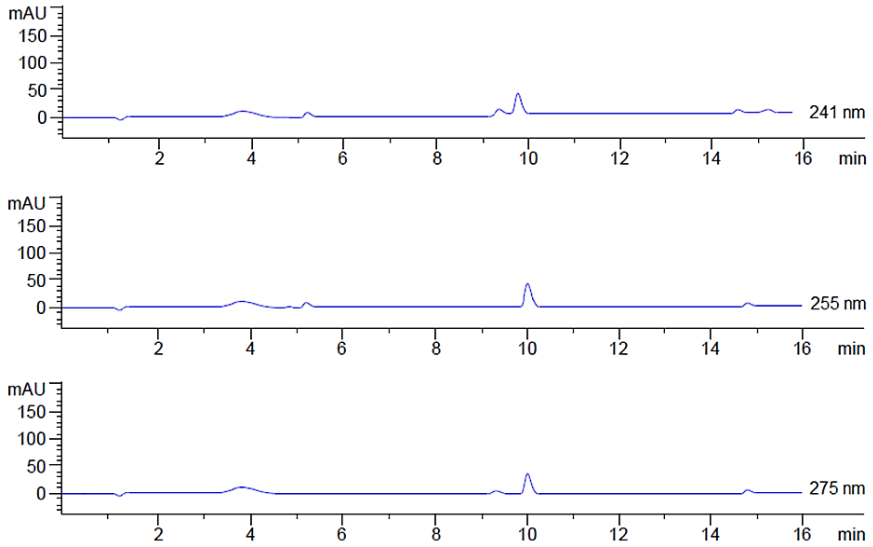
## 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.4.1 Seletividade

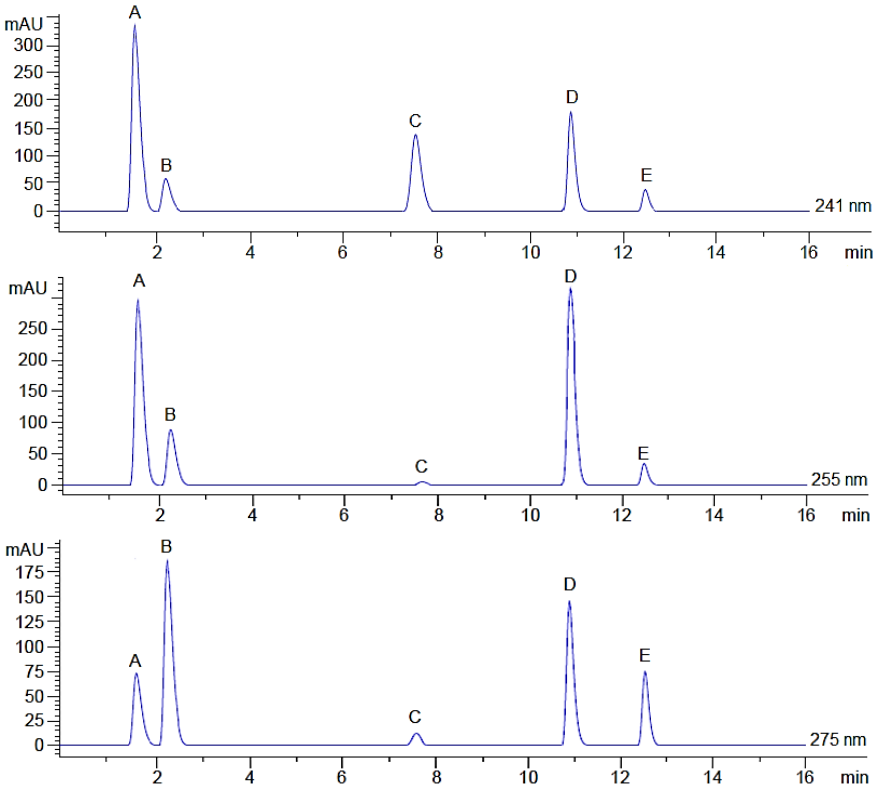
Devido às diferentes características apresentadas pelos fármacos estudados e da diversidade de fatores que podem interferir no método analítico, a análise multiresíduo torna-se um desafio para o analista. Nesse contexto, pode-se destacar a adequação dos parâmetros para realização da SPE e dos parâmetros cromatográficos da análise. A escolha adequada da fase móvel, da coluna cromatográfica, do detector e da vazão da fase móvel, por exemplo, são importantes fatores para o bom desenvolvimento e avaliação do método.

Visto que não houve interferência de componentes da matriz que produzissem picos nos tempos de retenção cromatográfica dos analitos de interesse e o método proposto nesse trabalho foi capaz de identificar os analitos inequivocamente (Figura 7), ele pôde ser considerado seletivo.

Figura 7 - Cromatogramas: (a) água de nascente e (b) água de nascente fortificada (A – Paracetamol, B – Cafeína, C – ácido salicílico, D – cetoprofeno e E – Diclofenaco).




(a)




(b)

### 2.4.2 Linearidade

Para demonstrar a capacidade de serem obtidas respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração dos analito nas amostras, foram preparadas, em triplicatas, soluções dos analitos com cinco níveis de concentração nominal que variaram de 120 a 360 ng $L^{-1}$ dependendo do fármaco analisado. A Tabela 5 apresenta os intervalos lineares bem como os cinco níveis analisados para cada composto.

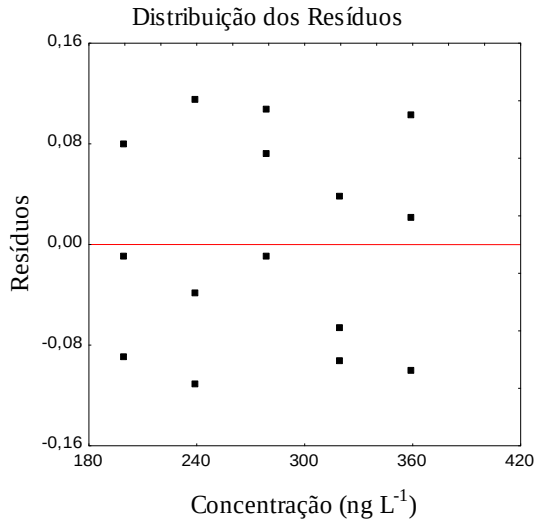
Tabela 5 - Níveis de concentração da avaliação da linearidade

| Fármaco | Concetrações de avaliação (ng $L^{-1}$) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| PAR | 200 | 240 | 280 | 320 | 360 |
| CAF | 120 | 160 | 200 | 200 | 280 |
| ASA | 160 | 200 | 240 | 280 | 320 |
| KETO | 120 | 160 | 200 | 200 | 280 |
| DCF | 120 | 160 | 200 | 200 | 280 |

A capacidade do modelo de regressão linear explicar a variabilidade dos dados coletados foi avaliada através do coeficiente de correlação (R). Entretanto, como esse coeficiente não leva em consideração a falta de ajuste do modelo, ainda que os valores obtidos estivessem de acordo com as diretrizes seguidas no processo de validação, foi avaliada a homocedasticidade dos dados para se verificar a existência de uma relação linear entre as variáveis explicativas e a variável-resposta e também foi realizado o teste de significância da regressão (Teste F) presente na Análise de Variância (ANOVA). Os resultados obtidos estão apresentados nas Figura 8 a 12.

Figura 8 - Análise estatística dos dados de linearidade do paracetamol.

| ANOVA **(PAR)** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Fonte da variação** | **SQ** | **gl** | **MQ** | **F** | **Valor-p** | **F crítico** |
| Entre grupos | $3{,}308 \times 10^{-5}$ | 1 | $3{,}31 \times 10^{-5}$ | $4{,}16 \times 10^{-5}$ | 0,995 | 4,196 |
| Dentro dos grupos | 22,284 | 28 | 0,796 | | | |



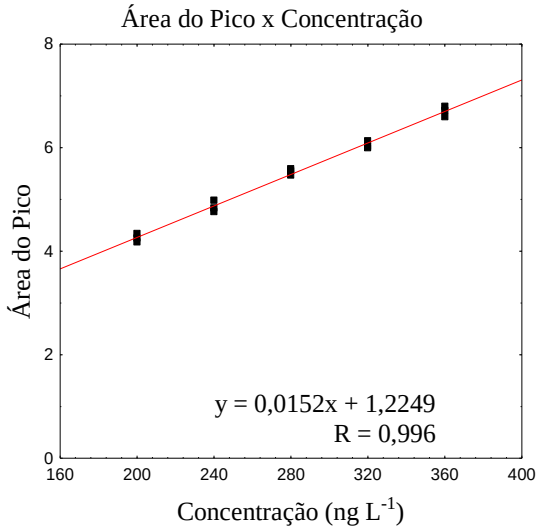
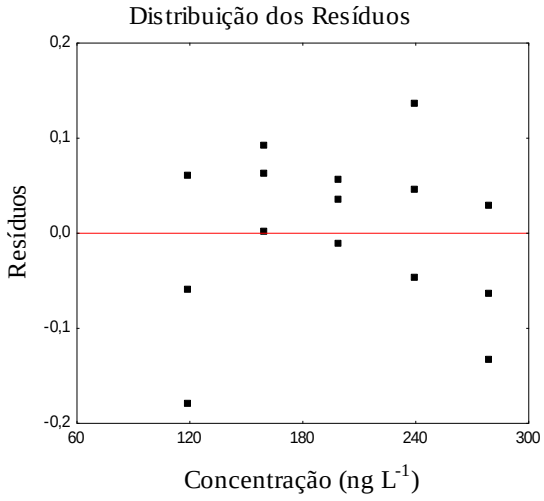




Figura 9 - Análise estatística dos dados de linearidade da cafeína.

| ANOVA **(CAF)** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Fonte da variação** | **SQ** | **gl** | **MQ** | **F** | **Valor-p** | **F crítico** |
| Entre grupos | $2{,}613 \times 10^{-5}$ | 1 | $2{,}61 \times 10^{-5}$ | $3{,}28 \times 10^{-5}$ | 0,995 | 4,196 |
| Dentro dos grupos | 22,295 | 28 | 0,796 | | | |



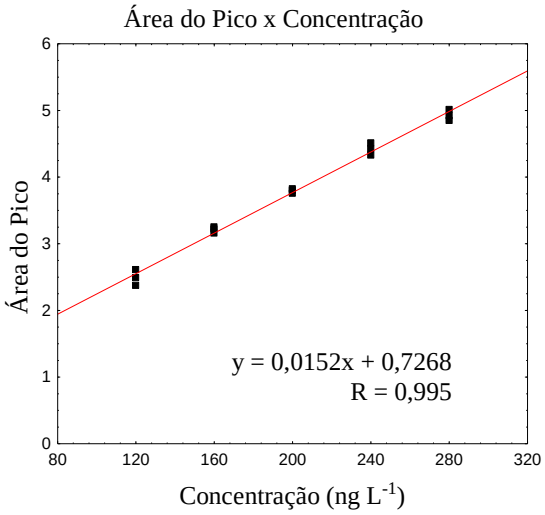
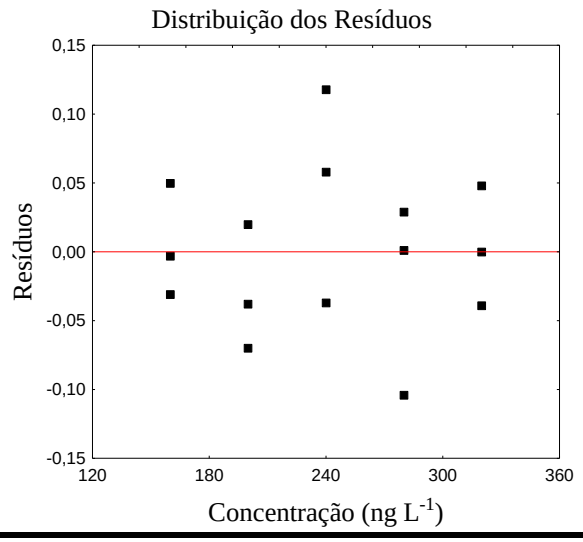



Figura 10 - Análise estatística dos dados de linearidade do ácido salicílico.

| ANOVA **(ASA)** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Fonte da variação** | **SQ** | **gl** | **MQ** | **F** | **Valor-p** | **F crítico** |
| Entre grupos | $2{,}731 \times 10^{-4}$ | 1 | $2{,}73 \times 10^{-4}$ | $8{,}07 \times 10^{-4}$ | 0,978 | 4,196 |
| Dentro dos grupos | 9,477 | 28 | 0,338 | | | |



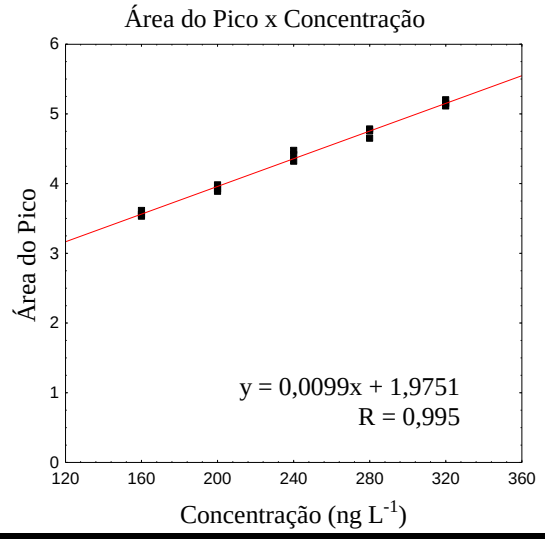
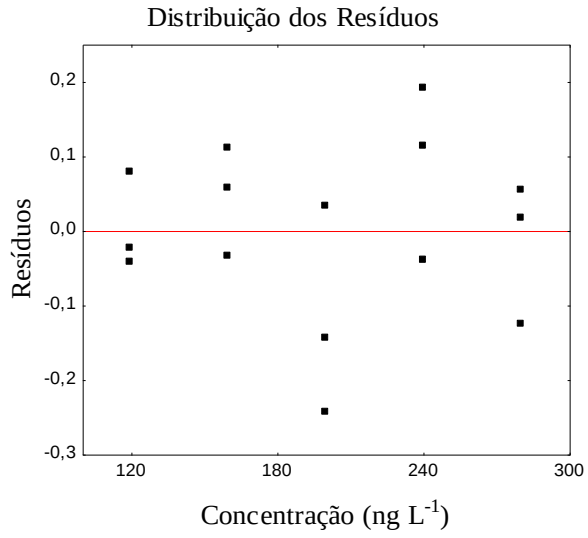




Figura 11 - Análise estatística dos dados de linearidade do cetoprofeno.

| ANOVA **(KETO)** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Fonte da variação** | **SQ** | **gl** | **MQ** | **F** | **Valor-p** | **F crítico** |
| Entre grupos | $3{,}367 \times 10^{-4}$ | 1 | $3{,}37 \times 10^{-4}$ | $2{,}38 \times 10^{-4}$ | 0,988 | 4,196 |
| Dentro dos grupos | 39,672 | 28 | 1,417 | | | |



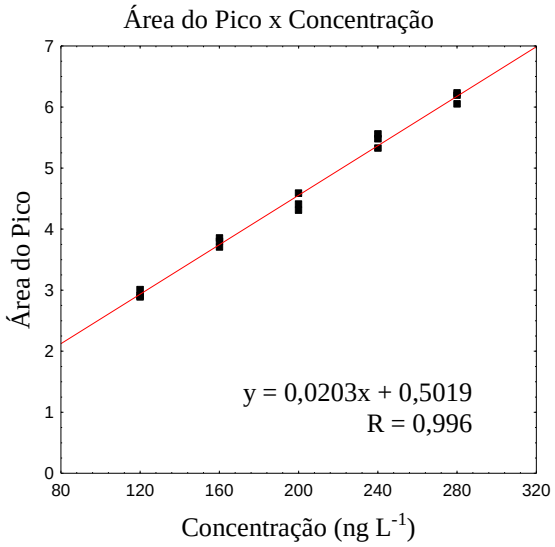
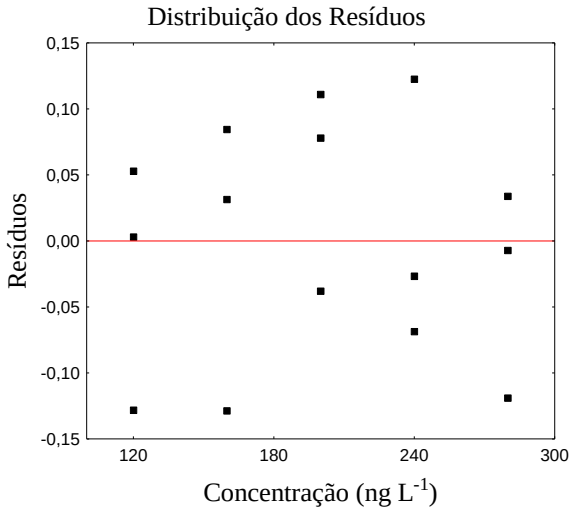
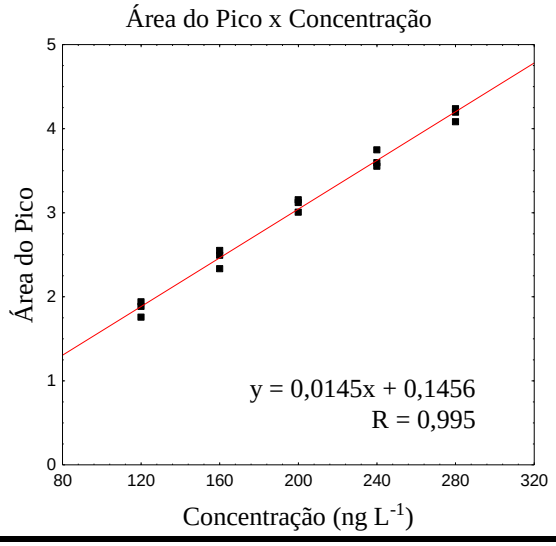



Figura 12 - Análise estatística dos dados de linearidade do diclofenaco.

| ANOVA **(DCF)** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Fonte da variação** | **SQ** | **gl** | **MQ** | **F** | **Valor-p** | **F crítico** |
| Entre grupos | 0,1239 | 1 | 0,1239 | 0,1713 | 0,682 | 4,196 |
| Dentro dos grupos | 20,266 | 28 | 0,7238 | | | |




Os resultados presentes nas Figuras 8 a 12 mostram que para todos os compostos analisados os valores de R obtidos estão de acordo com as diretrizes seguidas. Observa-se que ocorreu distribuição estocástica e independente da concentração (variância constante dos erros aleatórios), demostrando a homocedasticidade dos dados obitidos. Além disso, $F_{experimental} < F_{tabelado}$ indicando que os modelos propostos são estatisticamente lineares nos intervalos de concentração propostos.

### 2.4.3 Limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão.

Os dados obtidos referentes aos estudos para determinação de LD, LQ, exatidão e precisão inter e intradia estão apresentados na Tabela 6. Os dados apresentados na Tabela 6 demonstram que o método proposto apresentou resultados de DPR menores que 10% para todos os fármacos estudados tanto para a precisão interdia quanto para intradia. Apesar de algumas diretrizes como, por exemplo, as propostas pela ANVISA não estipularem um valor de referência para esses fatores, estudos apontam que para métodos de análise de traços ou impurezas são aceitos DPR de até 20% dependendo da complexidade da amostra (BRASIL, 2003; HUBER, 1998).

Tabela 6 - Resultados de exatidão, precisão, LQ e LD

| Composto | Níveis | Exatidão (%) | Precisão (%) | | LQ | LD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Intradia | Interdia | ng $L^{-1}$ | |
| PAR | Baixo | 99,85 | 2,00 | 5,90 | 200 | 60 |
| | Médio | 101,05 | 1,08 | 3,69 | | |
| | Alto | 100,14 | 1,52 | 2,29 | | |
| CAF | Baixo | 97,64 | 4,78 | 7,25 | 120 | 36 |
| | Médio | 100,72 | 0,91 | 2,31 | | |
| | Alto | 98,89 | 1,65 | 6,37 | | |
| ASA | Baixo | 100,26 | 1,15 | 7,55 | 160 | 48 |
| | Médio | 101,20 | 1,77 | 1,51 | | |
| | Alto | 100,21 | 0,85 | 3,05 | | |
| CETO | Baixo | 99,99 | 2,22 | 4,76 | 120 | 36 |
| | Médio | 97,26 | 3,17 | 2,66 | | |
| | Alto | 99,55 | 1,52 | 8,92 | | |
| DCF | Baixo | 106,59 | 5,03 | 5,99 | 120 | 36 |
| | Médio | 106,67 | 2,53 | 7,76 | | |
| | Alto | 102,74 | 1,90 | 1,92 | | |

Os menores limites de detecção e quantificação foram obtidos para CAF, KETO e DCF. No que diz respeito à exatidão, os resultados obtidos estão de acordo com as diretrizes seguidas como guias para o presente trabalho mencionadas no item 2.4.3, que preconizam que o valor da exatidão deve estar entre 80 e 120% (BRASIL, 2003).

### 2.4.4 Efeito de Matriz, Recuperação e eficiência

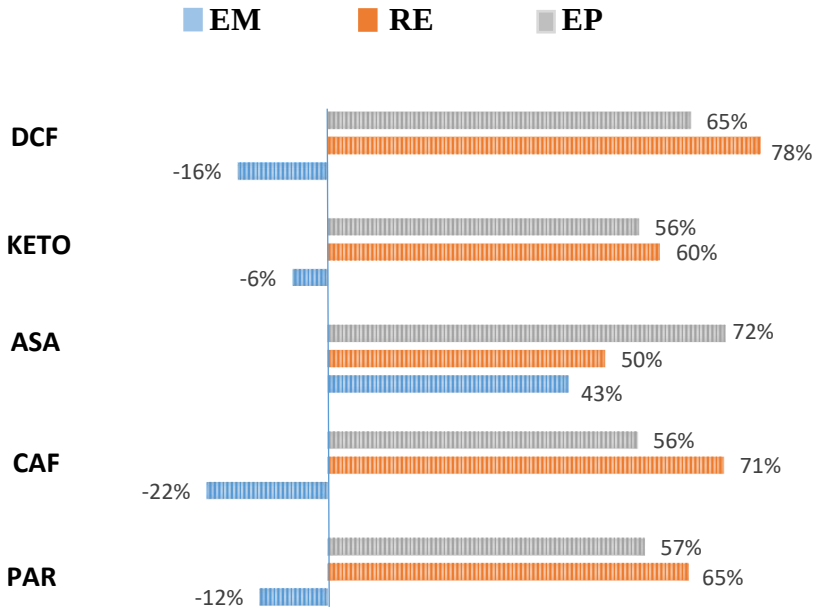
Os efeitos de matriz podem ser observados como uma perda (supressão analítica) ou como um aumento do sinal-resposta (intensificação analítica) e, embora a origem e os mecanismos do efeito de matriz não sejam totalmente conhcecidos é provável que surjam devido a competição entre o analito e os componentes da matriz co-eluidos (GOSETTI, 2010; JARDIM, 2010; MATUSZEWSKI et al., 2003, KING et al., 2000).

Observa-se (Figura 13) que os efeitos de matriz mais acentuados ocorreram para a CAF (–22%) e para o ASA (43%). Gaffney et al. (2014) obtiveram -25% para a CAF, -19% para o PAR, 42% para o KETO e -35% para o DCF e Oliveira (2017) apresentou 95% para o PAR e de 58% para DCF.

Métodos multiresíduos acrescentam desafios na obtenção de valores elevados de eficiência uma vez que o número de fatores que influenciam no processo aumenta consideravelmente. Além disso, efeitos de matriz como a supressão e a baixa recuperação dos analitos também podem influenciar na eficiência do processo de extração, uma vez que de acordo com a metodologia proposta por Matuszewski et al. (2003) esses fatores estão relacionados.

Trabalhos como o de Marques et al. (2007) avaliam a eficiência do processo de extração por meio do estudo da recuperação e não apresentam valores nominais para a eficiência. Outros como Queiroz e Lanças (2005), apesar de avaliarem a eficiência do processo de extração, não apresentam os resultados o que torna o processo de comparação difícil. Já os trabalhos que apresentam resultados, como o de Oliveira (2017) que obteve, respectivamente, eficiências de 47 e 31% para o PAR e o DCF, apresentam resultados diferentes dos obtidos no processo de extração do presente trabalho.

Figura 13 - Resultados de Efeito de Matriz, Recuperação e Eficiência



Diversos fatores podem influenciar na recuperação do processo de extração por SPE. A escolha da fase extratora, do solvente, a presença de interferentes que interajam com a fase extratora, o eluente, o pH, o volume e a vazão da amostra que passam pela fase são fatores, que devem ser ajustados dependendo das características dos analitos de interesse para se obter a máxima recuperação e eficiência de extração (JARDIM, 2010; GAFFNEYA et al., 2014).

Gaffney et al. (2014) apresentaram 51% de recuperação para a CAF, 8% para o PAR, 100 % para o KETO e 45% para o DCF. Rigobelo, Paceres e Vieira (2011) obtiveram resultados de recuperação entre 97 e 102% para o DCF enquanto Oliveira (2019) apresentou aproximadamente 150% para o PAR e 110% para o DCF. Já Oliveira (2017) apresentou recuperação de 49% para o PAR e de 53% para DCF.

Embora os resultados obtidos no presente trabalho para a recuperação terem variado entre 50 e 78%, de acordo com a ANVISA, desde que o método apresente exatidão e precisão, valores menores de recuperação podem ser aceitos (BRASIL, 2003).

## 2.5 CONCLUSÃO

A metodologia analítica desenvolvida, de acordo com o processo de validação realizado, atende aos padrões estabalecidos pela ANVISA. Ademais, mostra-se útil para avaliar a presença dos analitos estudados (que não apresentam protocolos de análise estabelecidos por agências reguladoras brasileiras), pois os limites de quantificação obtidos, na faixa de 36 a 200 ng $L^{-1}$ compreendem os valores de concentrações encontrados nas águas superficiais de várias localidades do mundo, segundo a literatura.

# REFERÊNCIAS


American Society for testing and Materials (ASTM) Method WK 1521: **New Standard Rest Method for Determination of Nonylphenol and Nonylphenol Ethoxylates in Environmental Waters**. 2006.

BARROS NETO, Benício de; PIMENTEL, Maria Fernanda; ARAÚJO, Mário César Ugulino. Recomendações para calibração em química analítica: parte I. Fundamentos e calibração com um componente (calibração univariada). **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 856-865, 2002.

BRASIL, Resolução RE. nº 899, de 29 de maio de 2003. A diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, 2003. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/ leisref/public/showAct.php?id=15132&word> Acesso em: 20 de agosto de 2019.

GAFFNEY, V. J.; CARDOSO, V. V.; RODRIGUESB, A.; FERREIRAB, E.; BENOLIELB, M. J.; ALMEIDAA, C. M. Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS. **Quimica Nova**, v. 37, 2011.

GOSETTI, Fabio et al. Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 25, p. 3929-3937, 2010.

HUBER, L. Validation of analytical methods: Review and strategy LC/GC international. **Lab compliance**, v. 96, 1998.

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos, 2016. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf> Acesso em: 20 de agosto de 2019.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 13-25, 2010.

JOINT, F. A. O. et al. Criteria for evaluating acceptable methods of analysis for Codex purposes: methods of analysis or method criteria.(Report prepared by the delegation of the United Kingdom and of Canada). In: **Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome (Italy). Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling. Sess. 21. Budapest (Hungary). 2-6 Oct 1995.** 1995.

KING, R.; BONFIGLIO, R.; FERNANDEZ-METZLER, C.; MILLER-STEIN, C.; OLAH, T. Mechanistic investigation of ionization suppression in electrospray ionization. Journal of the **American Society for Mass Spectrometry**, v. 11, p. 942-950, 2000.

MARQUES, M. N.; COTRIM, M. B.; PIRES, M. A. F.; BELTRAME FILHO, O. Avaliação do impacto da agricultura em áreas de proteção ambiental, pertencentes à bacia hidrográfica do Rio Ribeira de Iguape, São Paulo. **Química Nova**, v. 30, 1171-1178, 2007.

MATUSZEWSKI, B. K.; CONSTANZER, M. L.; CHAVEZ-ENG, C. M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC−MS/MS. **Analytical chemistry**, v. 75, n. 13, p. 3019-3030, 2003.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); **Guia de Validação e Controle da Qualidade Analítica. Fármacos em Produtos para Alimentação Animal e Medicamentos Veterinários**. Secretaria de Defesa Agropecuária. MAPA/ACS. Brasília, 2011.

NETO, Benício Barros; SCARMINIO, Ieda Spacino; BRUNS, Roy Edward. **Como Fazer Experimentos-: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. Bookman Editora, 2010.

OLIVEIRA, Thiessa Maramaldo de Almeida. **Análise de fármacos e metilparabeno em amostras de água do Rio Itapecuru (MA), do Rio Mogi Guaçu (SP) e do Rio Monjolinho e seus tributários (SP)**. 2017. 138 f. Tese (Doutorado em Química Analítica). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

OLIVEIRA, Julia Antunes. **Determinação simultânea multiclasse de fármacos em água de consumo humano empregando extração em fase sólida e UHPLC-MS/MS.** 2019. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2019.

PETROVIĆ, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 685-696, 2003.

PHARMACOPEIA, U. S. 24, Validation of compendial methods, section 1225. In: **United States Pharmacopeal Convention, Rockville, MD**. 1999.

QUEIROZ, M. E. C.; LANÇAS, F. M. Análise de fármacos em material biológico: acoplamento microextração em fase sólida" no tubo" e cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 28, p. 880-886, 2005.

RIBANI, Marcelo et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, 2004.

RIGOBELLO, E. S.; PACCES, V. H. P.; VIEIRA, E. M. (2011). Desenvolvimento e validação de método por SPE-HPLC-DAD para a quantificação de diclofenaco sódico nas etapas de tratamento de água. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 34., 2011, Florianópolis. **Livro de Resumos.** Disponível em: <http://sec.sbq.org.br/cdrom/34ra/resumos/T1770-1.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2020.

SHABIR, G. A. Validation of HPLC methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopoeia and the International Conference on Harmonization. **J Chromatogr A**, v. 987, p. 57-66, 2003.

SODRÉ, Fernando F. et al. Sistema limpo em linha para extração em fase sólida de contaminantes emergentes em águas naturais. **Química Nova**, 2010.

SWARTZ, Michael E.; KRULL, Ira S. **Analytical method development and validation**. CRC Press, 2018. VESSMAN, J. et al. IUPAC Recommendations 2001. **International Union of Pure and Applied Chemistry**, v. 73, p. 1381-1386, 2001.

VALENTINI, Sóstenes Rosa; SOMMER, Willy Arno; MATIOLI, Graciette. Validação de métodos analíticos. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 2, p. 26-31, 2013.

VIDAL, J. M. LIÉBANAS, F. A.; RODRIGUEZ, M. G.; FRENICH, A. G.; MORENO, J. F. Validation of a gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry based method for the ; of pesticides in food commodities. **Rapid communications in mass spectrometry**, v.20 n. 3, p. 365-375, 2006.

WALSH, Máire C. Moving from official to traceable methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 9-10, p. 616-623, 1999.

# 3

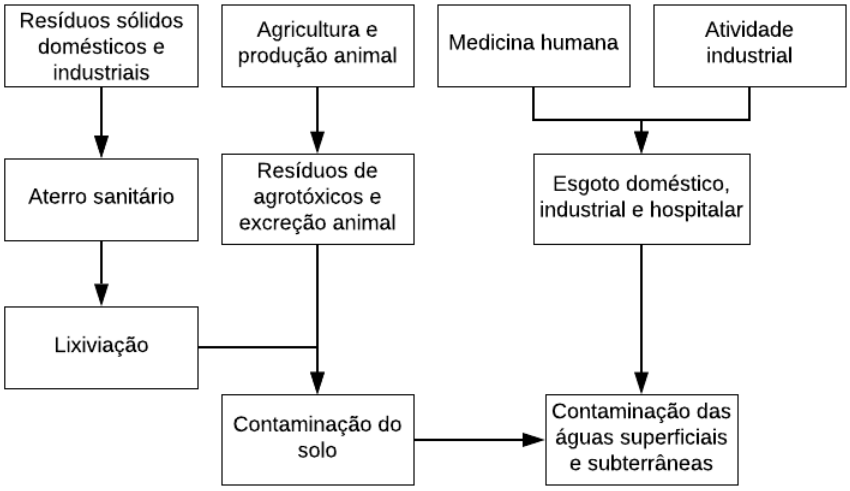
# MONITORAMENTO DE FÁRMACOS NAS ÁGUAS DESTINADAS AO ABASTECIMENTO PÚBLICO DO MUNICÍPIO SÃO CARLOS / SP

## 3.1 INTRODUÇÃO

Apesar do crescente número de estudos, a literatura ainda é pouco conclusiva sobre o comportamento dessas substâncias no ambiente aquático, ou seja, quais os efeitos provocados nos organismos a elas expostos e quais as suas extensões. O tempo de exposição é outro fator inconclusivo. Acredita-se que mesmo em baixas concentrações, diversos contaminantes emergentes são potencialmente nocivos à biota e possivelmente aos seres humanos. Devido à elevada produção e ao alto grau de consumo, e como consequência a contínua introdução dos mesmos no ambiente, é provável que estes compostos não precisem ser persistentes para ocasionarem efeitos adversos (PETROVIC; GONZALEZ; BARCELÓ, 2003).

Existem diversas possíveis fontes e rotas dos fármacos residuais e seus metabólitos no meio ambiente (Figura 14). As fontes poluidoras podem ser divididas em pontuais (p. ex., esgotos domésticos e industriais) e difusas (p. ex., escoamento superficial das atividades agrícolas e agropecuárias) (MNIF et al., 2011; BIRKETT; LESTER, 2003; HEBERER, 2002).

Figura 14 - Possíveis rotas dos contaminantes no meio ambiente e de contaminação de águas de abastecimento.




Fonte: Adaptado de HEBERER, T., 2002.

Os fármacos utilizados na produção bovina, de aves, de porcos e na aquicultura podem contaminar os recursos naturais ao serem eliminados parcialmente pela urina. A utilização de esterco bovino, bem como do lodo digerido de ETEs como fertilizantes, pode levar à contaminação do solo, córregos, mananciais e águas subterrâneas. Outro fator de risco é a disposição de resíduos industriais em aterros sanitários (BILA; DEZOTTI, 2003).

### 3.1.1 Área de Estudo

O município de São Carlos é localizado no centro geográfico do Estado de São Paulo com limites de coordenadas de 47º30´ e 48º30´ de Longitude e 21º30´ e 22º30´ de Latitude e faz divisa com os municípios de Ibaté, Itirapina, Rincão, Santa Lúcia, Analândia, Luís Antônio, Araraquara, Descalvado, Brotas, Américo Brasiliense e Ribeirão Bonito (SÃO CARLOS, 2019).

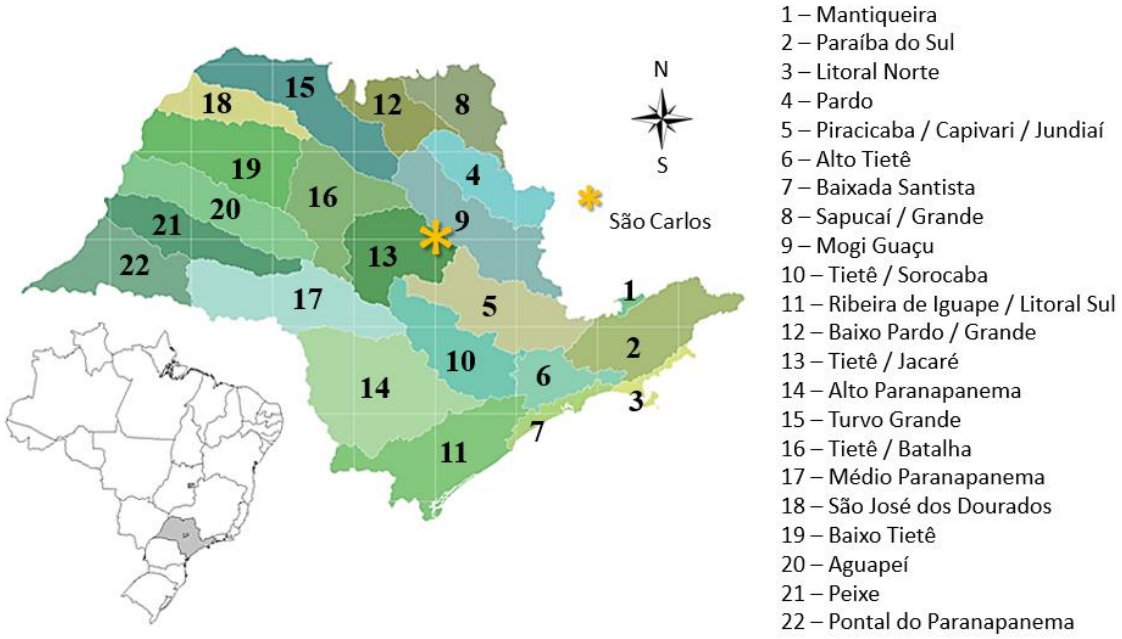
De acordo com os dados oficiais publicados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estima-se que em 2018, o município de São Carlos possuía aproximadamente 250 mil habitantes. Sua unidade territorial é de aproximadamente um milhão e duzentos

mil quilômetros quadrados com atividades econômicas industriais variadas como do setor automotivo, eletrodomésticos, refrigeração, papel, cosméticos e de materiais escolares (IBGE, 2019).

Segundo o Sistema Integrado de Gerenciamento de Recursos Hídricos do Estado de São Paulo (SIGRH), o município de São Carlos (Figura 15) apresenta parte de sua área territorial na Bacia Mogi-Guaçu (UGRHI-9) e parte na Bacia Tiete/Jacaré (UGRHI-13) (SIGRH, 2019).

A bacia hidrográfica do Tietê-Jacaré, engloba três principais rios, o Tietê, o Jacaré-Guaçu e o Jacaré-Pepira. O rio Jacaré-Guaçu é formado pelos ribeirões do Lobo e do Feijão, que nascem nas Serras do Itaqueri e do Cuscuzeiro, respectivamente. Ambos os ribeirões estão localizados na Área de Proteção Ambiental (APA) de Corumbataí. Após sua formação, o rio Jacaré-Guaçu recebe as águas do rio Monjolinho, após este ter atravessado a cidade de São Carlos no sentido nordeste-sudoeste (TUNDISI et al., 2007).

Figura 15 - Posicionamento de São Carlos em relação às Bacias hidrográficas (UGRHI).

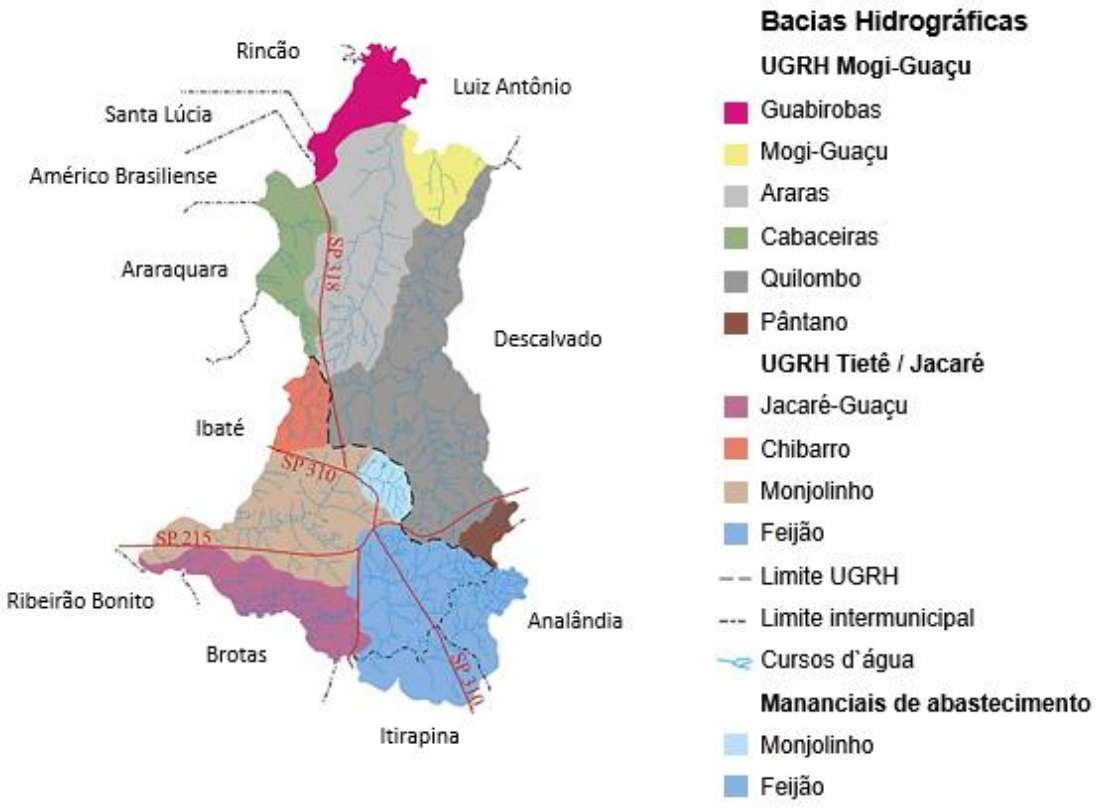



Fonte: Adaptação de DAEE, 2013.

Conforme dados publicados pelo Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) de São Carlos, o abastecimento público do município é realizado através de 2 captações de mananciais superficiais localizadas na bacia do Tietê-Jacaré (Figura 16), representando 50% do volume total da água tratada, e 22 poços artesianos profundos distribuídos pela cidade (SAAE, 2019).

As águas captadas do Ribeirão Feijão (22°09'07.9"S, 47°53'08.7"O) e Espraiado (21°59'12.8"S, 47°52'32.3"O) são bombeadas através de adutoras até a Estação de Tratamento de Água (ETA) do tipo clássico que, atualmente, é capaz de tratar um volume de aproximadamente 1.150.000 L mês$^{-1}$ (SAAE, 2019).

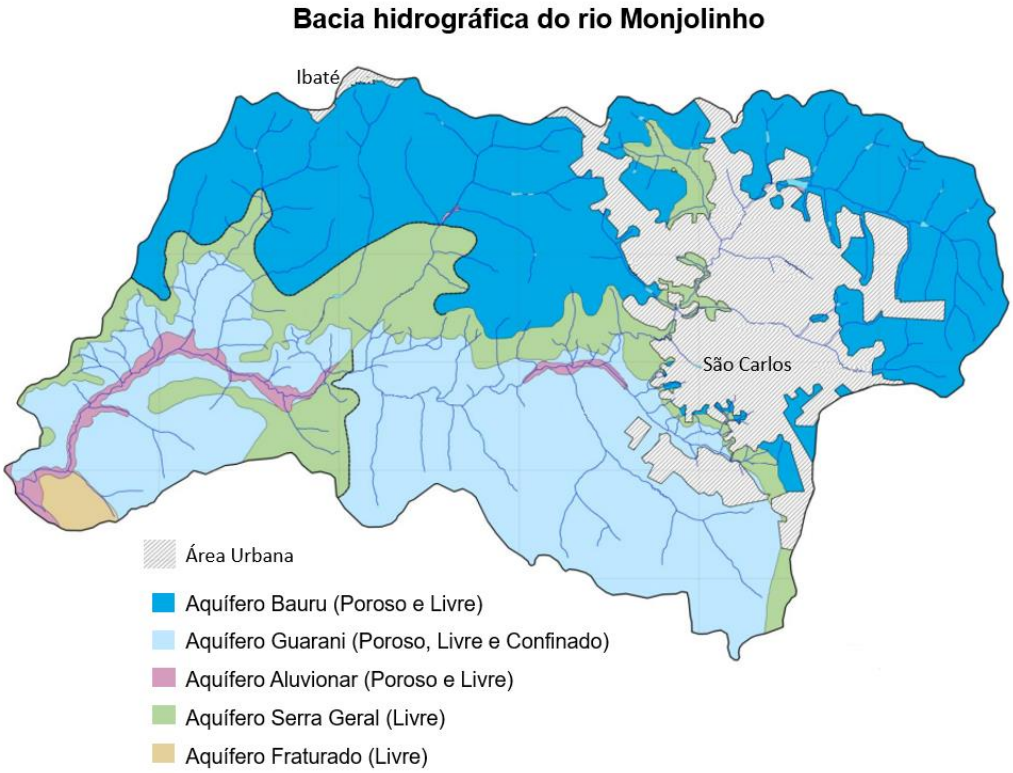
Figura 16 - Localização das sub-bacias hidrográficas da bacia Mogi-Guaçu e Tietê-Jacaré e mananciais de abastecimento público do município de São Carlos.




Fonte: Adaptação de TUNDISI et al., 2007.

Os recursos hídricos subterrâneos ocorrem em um sistema formado por quatro aquíferos: o Cenozoico, o Bauru, o Serra Geral e o Guarani. Observa-se, na Figura 17, que o perímetro urbano do munícipio de São Carlos está localizado sobre os aquíferos Bauru, Guarani e Serra Geral (CAMPANELLI, 2012).

Figura 17 - Aquíferos sob a área urbana do município de São Carlos.




Fonte: Adaptação de CAMPANELLI, 2012.

As águas subterrâneas e das bacias superficiais das regiões Nordeste, Sul e Sudeste brasileiras apresentam alto índice eutrófico e baixo índice de qualidade, como resultado das atividades antrópicas. Estudos apontam que a região em questão apresenta apenas 11,31% de vegetação nativa com características de cerrados e florestas ripárias (TUNDISI; SCHUEUENSTUHL, 2012).

## 3.2 OBJETIVOS

Coletar as águas destinadas ao abastecimento público do município São Carlos durante 12 meses consecutivos e nelas avaliar a presença de cafeína, diclofenaco, paracetamol, cetoprofeno e ácido salicílico.

## 3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.3.1 Reagentes

Metanol e acetonitrila (grau HPLC) foram obtidos da J. T. Baker. Ácido fórmico (85%) e ácido clorídrico (37%) da Merck. Membranas de acetato de celulose da Sartorius (com porosidade de 0,45 µm e 47 mm de raio) e catuchos para extração SPE da Phenomenex (Strata X, 6 mL, 200 mg de fase).

### 3.3.2 Amostragem

Foram selecionados dois pontos de amostragem, ambos localizados na estação de tratamento de água (ETA) de São Carlos. O primeiro ponto correspondente à chegada da água bruta das captações do Espraiado e do Ribeirão Feijão. Neste ponto de coleta, as águas captadas se misturam na entrada da ETA. O segundo ponto amostral foi na saída da água tratada da ETA, destinada à rede de distribuição municipal.

Para a realização das coletas das amostras de água foram utilizados frascos de vidro âmbar (4L de capacidade nominal) previamente lavados com solução detergente Extran MA 02 neutro (Merck), enxaguados com água da torneira e novamente enxaguados com água destilada. Então, os frascos foram rinsados com etanol e acetona e, enxaguados novamente com água destilada em abundância. Após o procedimento de lavagem os frascos de vidro foram aquecidos a 400ºC por 4 h. Após retirados do aquecimento os recipientes foram tampados com papel alumínio e deixados sob a bancada até o resfriamento a temperatura ambiente. O trabalho de amostragem foi do tipo pontual, sendo coletados 4 L (frasco de vidro ambar) em cada ponto amostral. As amostras foram coletadas no período da manhã, acondicionadas, transportadas e armazenadas de acordo com o Guia Nacional de Coleta e preservação de Amostras proposto pela Agência Nacional de Águas e da Diretriz nacional do plano de amostragem da vigilância da qualidade da água para consumo humano (BRANDÃO, 2011; BRASIL, 2014).

As coletas das amostras de águas foram realizadas mensalmente durante o período de junho de 2018 a maio de 2019 e mantidas refrigeradas por no máximo 2 dias até o início das análises. Para a extração em fase sólida as amostras foram previamente filtradas em membranas de acetato de celulose (diâmetro de poro: 0.45 μm; Sartorius, Goetingen, Alemanha).

### 3.3.3 Extração em fase sólida (SPE)

Os procedimentos utilizados nessa etapa do trabalho foram apresentados no item 2.3.3.

### 3.3.4 Análise Cromatográfica

Os parâmetros utilizados nessa etapa do trabalho foram apresentados no item 2.3.4.

## 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram que as concentrações dos fármacos estudados (CAF, PAR, ASA, KETO e DCF) tanto para a água bruta quanto para a tratada estiveram abaixo dos limites de detecção do método (36 a 60 ng $L^{-1}$) em todas as análises realizadas durante o período da campanha amostral.

## 3.5 CONCLUSÃO

Apesar da crescente urbanização e intensificação de atividades antrôpicas nas proximidades da captação do Espraiado (atualmente dentro da malha urbana do município de São Carlos) bem como o avanço de atividades agrícolas ao longo do curso do ribeirão Feijão, os resultados do estudo de monitoramento durante o período amostral de 12 meses revelou que as concentrações estão abaixo dos limites de detecção (36 a 60 ng $L^{-1}$).

# REFERÊNCIAS


AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Method WK 1521:** New Standard Rest Method for Determination of Nonylphenol and Nommylphenol Ethoxylates in Environmental Waters. 2006. Disponível em: < https://www.astm.org/> Acesso em: 06 set. 2019

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v.26, n.4, p. 523-530, 2003. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/qn/v26n4/16435.pdf >. Acesso em: 14 mar. 2015.

BIRKETT, J. W.; LESTER, J. N.**Endocrine Disruptors in Wastewater and Sludge Treatment Processes**. 1st ed. USA: IWA Publishing, Lewis Publishers CRC Press LLC, 2003. 312 p.

BRANDÃO, C. J.; BOTELHO, M. J. C.; SATO, M. I. Z.; LAPARELLI, M. C. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras:** água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. São Paulo: CETESB, 2011. Disponível em: <http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/GuiaNacionalDeColeta.pdf>. Acesso em: 20 ago 2019.

BRASIL. **Diretriz nacional do plano de amostragem da vigilância da qualidade da água para consumo humano**. 2014.

CAMPANELLI, Leandro. **Zoneamento (geo)ambiental analítico da bacia hidrográfica do rio monjolinho – São Carlos/Sp.** Dissertação de Mestrado. Engenharia urbana. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012, 136 f.

DEPARTAMENTO DE ÁGUAS E ENERGIA ELÉTRICA (DAEE). **Águas subterrâneas no Estado de São Paulo. Diretrizes de Utilização e Proteção**. 2013 Disponível em: <http://www.daee.sp.gov.br/acervoepesquisa/Atlas%20-%20%C3%81guas%20Subterr%C3%A2neas%20(DAEE-LEBAC).pdf>, Acesso em: nov. 2015.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology letters**, v. 131, n. 1, p. 5-17, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **A cidade de São Carlos**. 2019. Disponível em: < http://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/saocarlos >. Acesso em: 10 ago. 2019.

LÓPEZ-SERNA, R.; JURADO, A.; VÁZQUEZ-SUÑÉ, E.; CARRERA, J. PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain. **Environmental Pollution**, v. 174, p. 305-315, 2013.

MARTÍN, J.; CAMACHO-MUNOZ, D.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. **Journal of Hazardous Materials**, 239–240: 40–47, 2012.

MNIF W.; HASSINE A. I. H.; BOUAZIZ A.; BATEGI A.; THOMAS O.; ROIG B. Effect of endocrine disruptor pesticides: A review. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 8, p. 2265, 2011.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

PARK, J.; KIM, M. H.; CHOI, K. Environmental risk assessment of pharmaceuticals: model application for estimating pharmaceutical exposures in the Han River Basin. **Korea Environment Institute. (KEI 2007 RE-06)**, 2007. Disponível em: < http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.464.3620&rep=rep1&type=pdf> Acesso em: 06 set. 2019.

PETROVIC, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D.Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water**. Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 685, 2003.

SÃO CARLOS (SP). **Prefeitura**. 2019. Disponível em: <http://www.saocarlos.sp.gov.br>. Acesso em: ago. 2019.

SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO (SAAE) DE SÃO CARLOS. 2019. Disponível em: < http://www.saaesaocarlos.com.br/index.php/eta>. Acesso em ago. 2019.

SISTEMA INTEGRADO DE GERENCIAMENTO DE RECURSOS HIDRICOS (SIGRH). Comitê de bacias hidrográficas.2019. Disponível em: < http://www.sigrh.sp.gov.br>. Acesso em: ago. 2019.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Sistema limpo em linha para extração em fase sólida de contaminantes emergentes em águas naturais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 216 - 219, 2010.

SPONGBER, A. L.; WITTER, J. D.; ACUÑA, J.; VARGAS, J.; MURILLO, M.; UMAÑA, G.; GÓMEZ, E.; PEREZ, G. Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters.**Water Res**., v. 45, 6709-6717, 2011.

TIXIER, C.; SINGER, H. P.; OELLERS, S.; MÜLLER, S. R. Occurrence and Fate of Carbamazepine, Clofibric Acid, Diclofenac, Ibuprofen, Ketoprofen, and Naproxen in Surface Waters ***Environ. Sci. Technol***.,v. 37, p. 1061-1068, 2003.

TUNDISI, J. G.; SCHEUENSTUHL, M. C.; La Politica Hídrica en Brasil .In: JIMÉNEZ CISNEROS, B. y TUNDISI, J. G. (orgs.). Diagnostico del Água en las Americas. IANAS, **Water Programme**, 2012.p. 97-109.

TUNDISI, J.G.; TUNDISI, M.T.; DUPAS, F.A.; SOUZA, A.T.S.; SHIBATTA, O.A. **Uso atual e potencial do solo no município de São Carlos, SP - base do planejamento urbano e rural.** São Carlos, 2007. (Relatório técnico)

WANG, C.; SHI, H.; ADAMS, C. D.; GAMAGEDARA, S.; STAYTON, I.; TIMMONS, T.; MA, Y. Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Water Research,** v. 45, p. 1818-1828, 2011.

ZHOU, H.; YING, T.; WANG, X.; LIU, J. Occurrence and preliminarily environmental risk assessment of selected pharmaceuticals in the urban rivers, China. **Scientific reports**, v. 6, p. 34928, 2016.

# 4

# DEGRADAÇÃO

## 4.1 INTRODUÇÃO

Estudos demonstraram que fármacos estão presentes e são amplamente distribuídos em águas e águas residuárias. Nos últimos anos, foram detectados compostos farmacêuticos e seus metabólitos em diferentes amostras ambientais em todo o mundo, incluindo água subterrânea e água potável (ESLAMI et al., 2015; GAFFNEY et al., 2015; SHARMA et al., 2019; MONTAGNER; JARDIM, 2011; SIMAZAKI et al., 2015; BIRCH et al., 2015; BENOTTI et al., 2008; HEBERER, 2002).

De acordo com o relatório UNICEF/WHO (2015) aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas em todo o mundo não têm acesso a nenhum serviço de saneamento e, para agravar a situação, devido às suas propriedades físico-químicas, muitos fármacos são recalcitrantes. Isso significa que são capazes de resistir aos tratamentos convencionais existentes nas estações de tratamento de água (aeração, ajuste de pH, coagulação, floculação, sedimentação ou flotação, filtração, cloração e fluoretação) e de esgoto (processos biológicos), tornando-os um potencial risco ao meio ambiente e à saúde humana (GAO et al., 2012; LUO et al., 2014; SANTOS et al., 2010; PAÍGA et al., 2013; IBGE, 2010; TCHOBANOGLOUS; BURTON; STENSEL, 2002; VON SPERLING, 1996). Portanto, a identificação e a degradação desses contaminantes emergentes em meio aquoso é um assunto de suma importância para as autoridades ambientais (WHO, 2012).

Durante as últimas décadas, muitos processos oxidativos avançados (POAs) foram desenvolvidos e aplicados à degradação de compostos farmacêuticos. Esse tipo de processo de tratamento usa espécies oxidantes, principalmente o radical hidroxila ($HO^{\bullet}$), visando degradar compostos orgânicos, até mesmo transformá-los em água e dióxido de carbono (LITTER, 2005; VOGNA et al., 2004).

Dentre os diferentes POAs existentes pode-se destacar os processos Fenton que promovem a geração de radicais hidroxila a partir da decomposição do peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) catalisado por íons ferrosos ($Fe^{2+}$) (TANG et al., 2019).

### 4.1.1 Processo Fenton

Em linhas gerais o processo Fenton ocorre por meio da reação de decomposição do peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) catalisada pelo íon metálico $Fe^{2+}$ gerando o radical hidroxila ($HO^{\bullet}$), de acordo com a Equação 6 (PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006; ANDREOZZI et al., 1999; ZWIENER; FRIMMEL, 2000).

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + HO^{\bullet} \quad (6)$$

Os radicais hidroxila gerados podem rapidamente atacar substratos orgânicos (RH) por basicamente três mecanismos: abstração de hidrogênio (Equação 7), adição eletrofílica a insaturações (Equação 8) e transferência eletrônica (Equação 9) (ANDREOZZI et al., 1999).

$$RH + HO^{\bullet} \rightarrow R^{\bullet} + H_2O \quad (7)$$

$$RH + HO^{\bullet} \rightarrow HORH^{\bullet} \quad (8)$$

$$RX + HO^{\bullet} \rightarrow RX^{+\bullet} + OH^- \quad (9)$$

O mecanismo de reação dependerá principalmente da estrutura do contaminante orgânico. A oxidação de substratos via abstração de hidrogênio ocorre geralmente com hidrocarbonetos alifáticos. A adição eletrofílica a insaturações ocorre em compostos orgânicos que contêm ligações π. Vale ressaltar que em ambos os casos anteriores ocorre a formação de radicais orgânicos. Já a transferência eletrônica é favorecida pela presença de um halogênio na molécula do substrato orgânico (ANDREOZZI et al., 1999; BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014; GHISELLI et al., 2004; GOGATE; PANDIT, 2004).

Caso haja excesso de $H_2O_2$ no meio reacional, ocorrerá a reação entre os íons férricos e o peróxido de hidrogênio para formar novamente o íon ferroso além de radicais hidroperoxila ($HO_2^{\bullet}$) (Eq. 10). Embora os radicais $HO_2^{\bullet}$ possam atacar os contaminantes orgânicos, eles são menos oxidantes que os radicais hidroxila.

$$Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{2+} + HO_2^{\bullet} + H^+ \quad (10)$$

O sistema Fenton é uma interessante alternativa para o tratamento de efluentes, pois utiliza reagentes de fácil manipulação, de custo relativamente baixo e ambientalmente seguros (ANDREOZZI et al., 1999; PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006; BABUPONNUSAMI; MUTHUKUMAR, 2014). Embora o processo Fenton apresente aplicação relativamente simples, ocorrendo à temperatura e pressão ambientes, alguns compostos não são completamente mineralizados pelo processo tradicional.

### 4.1.2 Processo foto-Fenton

A utilização da radiação UV é uma importante alternativa, capaz de melhorar o processo Fenton e promover a degradação efetiva dos poluentes (ANDREOZZI et al., 1999). Estudos apontam que as taxas das reações do processo Fenton são sensíveis à radiação UV-Visível (UV-Vis) e são consideravelmente maiores quando comparadas com a mesma tecnologia na ausência de luz (ZWIENER; FRIMMEL, 2000; GHISELLI et al., 2004). Diversos fatores tais como a matriz aquosa, o espectro de absorção do fármaco e o rendimento quântico de fotólise são capazes de influenciar a eficiência da degradação foto-assistida (GOGATE; PANDIT, 2004).

De acordo com Langford e Carey (1975), em solução aquosa, íons férricos estão presentes como aquo-complexos cuja proporção está diretamente relacionada ao pH da solução. Em pH 0 a principal espécie presente é o $Fe(H_2O)_6{}^{3+}$e com o aumento do pH espécies hidroxiladas são formadas, como por exemplo aquela mostrada na Equação 11 (águas de hidratação omitidas).

$$Fe^{3+} + H_2O \rightarrow Fe(OH)^{2+} + H^+ \quad (11)$$

No decorrer do processo foto-Fenton, com a irradiação dos íons $Fe^{3+}$, ocorre a transferência de carga ligante-metal, reduzindo os íons férricos, oxidando o ligante e originando radicais hidroxila (Equação 12) (LANGFORD; CAREY, 1975).

$$Fe(OH)^{2+} \xrightarrow{h\nu} Fe^{2+} + HO^{\bullet} \quad (12)$$

Sequencialmente, os íons ferrosos ($Fe^{2+}$) formados (Equação 12), reagem com o peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) presente no meio reacional regenerando os íons $Fe^{3+}$ e produzindo mais radicais hidroxila (Equação 6, reação de Fenton). Assim é estabelecido um ciclo catalítico (LANGFORD; CAREY, 1975; SAFARZADEH-AMIRI; BOLTON; CATER, 1997; KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009).

Uma das grandes limitações dos processos Fenton e foto-Fenton é a estreita faixa de pH em que a máxima eficiência é observada. Estudos apontam que os melhores rendimentos dos processos foto-Fenton são verificadas em pH 2,5-3,0, pois os oxi-hidróxidos de $Fe^{3+}$ apresentam maior solubilidade e a espécie mais fotoativa, $Fe(OH)^{2+}$, predomina (GHISELI et al., 2004; NOGUEIRA; GUIMARÃES, 2000). Acima dessa faixa são formados oxi-hidróxidos de ferro praticamente inativos e precipitados de $Fe(OH)_3$. Em pH < 2,5, pode ocorrer o sequestro dos radicais hidroxila por íons hidrônio e também a diminuição da concentração de $Fe(OH)^{2+}$ reduzindo a eficiência do processo (NOGUEIRA et al., 2007).

### 4.1.3 Processo foto-Fenton com ferrioxalato

A utilização de ligantes orgânicos para a complexação dos íons férricos nos processos foto-Fenton é um importante aprimoramento do processo que permite a operação do processo em meios com pH próximos à neutralidade e absorção de luz visível (NOGUEIRA et al., 2007; SAFARZADEH-AMIRI; BOLTON; CATER, 1997; KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009).

Dentre os possíveis complexos orgânicos, o ferrioxalato, $Fe(C_2O_4)_3{}^{3-}$, é o mais conhecido e utilizado. O oxalato forma um complexo estável com os íons $Fe^{3+}$ capaz de aumentar a atividade fotocatalítica do sistema foto-Fenton. Outros complexantes — ácidos (poli)carboxílicos — apresentam menores rendimentos quânticos quando comparados ao ferrioxalato. Além disso, uma grande vantagem do oxalato é que, ao ser degradado durante o processo, não gera subprodutos orgânicos, sendo oxidado diretamente a $CO_2$ e $H_2O$

(BALZANI; CARASSITI, 1970; SAFARZADEH-AMIRI; BOLTON; CATER, 1997; BALMER; SULZBERGER, 1999; CHENG; HUANG; LEE, 2011).

Enquanto a espécie $Fe(OH)^{2+}$ apresenta máximo de absorção entre 300 e 400 nm, policarboxilatos de ferro, como o ferrioxalato, absorvem a radiação UV-Vis na faixa de 250 a 580 nm, possibilitando melhorias no rendimento quantico dos processos foto-Fenton (SAFARZADEH-AMIRI; BOLTON; CATER, 1997; KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009 BALMER; SULZBERGER, 1999; CHENG; HUANG; LEE, 2011; SOUZA et al., 2014).

Outro ponto importante a ser observado é que durante o processo foto-Fenton envolvendo complexos ferrioxalato ocorre a regeneração do peróxido de hidrogênio e de $Fe^{2+}$, possibilitando que o sistema Fenton produza mais radicais hidroxila (Equações 13–17,6). (SAFARZADEH-AMIRI; BOLTON; CATER, 1997; KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009; BALMER; SULZBERGER, 1999; CHENG; HUANG; LEE, 2011; SOUZA et al., 2014; COPPER; DEGRAFF, 1972; SELVAM; MURUGANANDHAM; SWAMINATHAN, 2005).

$$[Fe(C_2O_4)_3]^{3-} \xrightarrow{h\nu} Fe^{2+} + 2\ C_2O_4{}^{2-} + C_2O_4{}^{\bullet-} \tag{13}$$

$$[Fe(C_2O_4)_3]^{3-} + C_2O_4{}^{\bullet-} \rightarrow Fe^{2+} + 2\ CO_2 + 3\ C_2O_4{}^{2-} \tag{14}$$

$$C_2O_4{}^{\bullet-} + O_2 \rightarrow 2CO_2{}^{\bullet-} + O_2{}^{\bullet-} \tag{15}$$

$$O_2{}^{\bullet-} + H^+ \rightarrow HO_2{}^{\bullet} \tag{16}$$

$$HO_2{}^{\bullet} + HO_2{}^{\bullet} \rightarrow H_2O_2 + O_2 \tag{17}$$

A razão molar ferro(III):oxalato é um fator muito importante. Os complexos com razão molar 1:3 (estequiométrica) são mais estáveis. O rendimento quântico da produção de íons $Fe^{2+}$ é diminuído para razões molares menores, já que a quantidade de oxalato é insuficiente para a formação do complexo. O excesso de oxalato também é capaz de prejudicar o sistema, podendo ele competir com os poluentes-alvo pelos radicais hidroxila e diminuir a eficiência do processo (MONTEAGUDO et al., 2010).

### 4.1.4 Planejamento e análise de experimentos

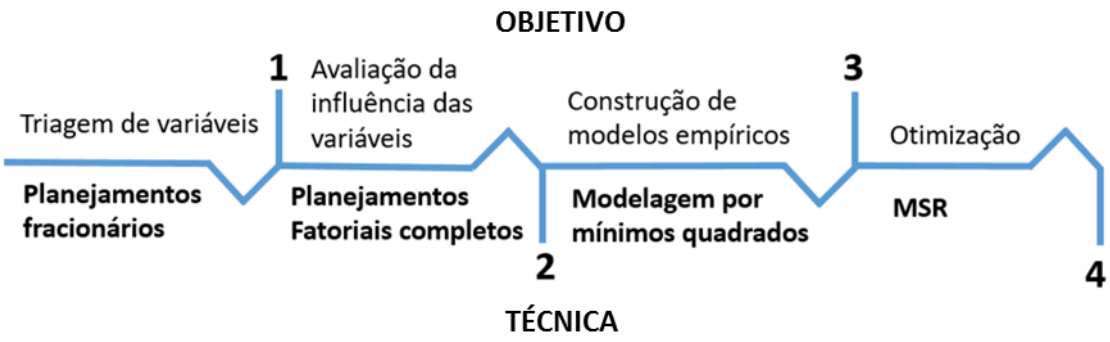
O planejamento experimental emprega conhecimentos estatisticos que ajudam os pesquisadores a extrair do sistema em estudo o máximo de informação útil com a realização de um número mínimo de experimentos, utilizando-se insumos de forma racional e diminuindo custos operacionais (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Um bom planejamento deve começar com a definição clara de onde se quer chegar e quais as questões importantes a serem respondidas. De acordo com Barros Neto, Scarminio e Bruns, (2010), um bom planejamento é projetado de maneira que consiga fornecer exatamente o tipo de informação procurada.

A evolução de um estudo empírico segue uma sequência (Figura 18) que parte de uma situação em que se tem pouca informação, até mesmo sobre quais são as variáveis de maior importância para o sistema em questão (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

O planejamento experimental utiliza modelos matemáticos e estatísticos no planejamento e otimização de experimentos, gerando dados que permitam uma análise eficaz e conclusões válidas. Para a sua utilização, é fundamental a correta seleção dos fatores que influenciam diretamente no processo e também da variável-resposta. Com o emprego dessa técnica é possível investigar simultâneamente as interações das variáveis de saídas em função das variáveis de entrada por meio de combinações preestabelecidas aleatoriamente e identificar a correlação entre elas, além de reduzir o número de experimentos (MONTGOMERY, 2017).

Figura 18 - Evolução da investigação experimental.




Fonte: Adaptado de BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, (2010).

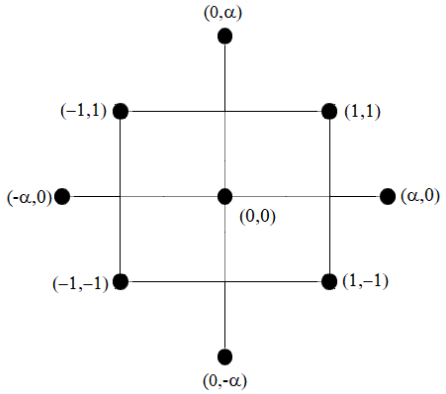
Geralmente, em fases iniciais do procedimento experimental, é grande o número de fatores estudados que podem influenciar na variável-resposta. Assim, nessa etapa, de acordo com Galdámez (2002), o planejamentos fatorial é aconsellhado para explorar e mensurar a extensão dos efeitos dos fatores sobre a variável-resposta.

No planejamento fatorial completo é realizada a combinação de *k* variáveis (fatores) em 2 diferentes valores (níveis): baixo (–1) e alto (+1), além do ponto central (0), gerando $2^k$ experimentos. A partir dos níveis estabelecidos para os fatores escolhidos (codificação dos fatores), obtém-se estimativas e comparações dos efeitos dos fatores e suas possíveis interações, bem como estimativas da variância (MONTGOMERY, 2017; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Os planejamentos compostos centrais (CCD) são os mais utilizados quando se trata de planejamentos de superfície de resposta. Nesse tipo de planejamento, são executados experimentos (com réplicas) no ponto central e os pontos quadráticos são determinados pelos pontos axiais. O CCD pode ser utilizado principalmente quando o planejamento necessitar de experimentações adicionais, para determinar o ponto ótimo. Também permite avaliar possíveis erros do planejamento, uma vez que possibilita estimar a falta de ajuste do modelo de regressão pela análise da normalidade, independência e homocedasticiade da variância dos resíduos (MONTGOMERY, 2017; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

A Figura 19 exemplifica a distribuição dos experimentos em um planejamento composto central com dois fatores. Observa-se que além do ponto central e dos fatoriais, também estão presentes quatro pontos axiais, localizados nos centros de cada uma das quatro arestas da região experimental, a uma distância α do ponto central (geralmente, $\alpha = \sqrt[4]{2^k}$ ).

Figura 19 - Disposição dos experimentos CCD para experimentos com k = 2.



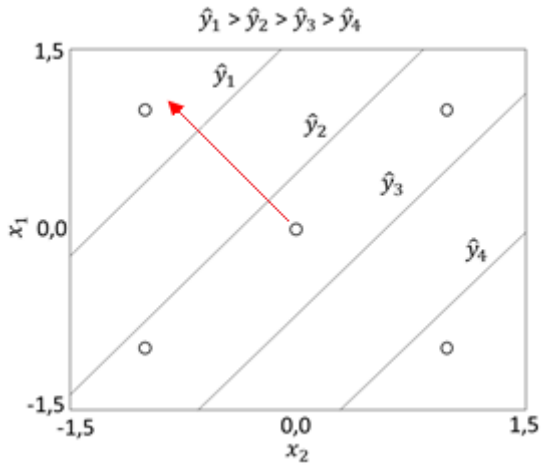

Fonte: Autoria própria

A etapa de modelagem busca descrever o processo estudado na região experimental investigada através de modelos matemáticos simples (como por exemplo o modelo quadrático, cuja expressão geral para duas variáveis está representada pela Equação 18, onde $\hat{y}(x)$ é a resposta desejada, $b_0$, $b_1$ e $b_2$ são estimadores dos parâmetros do modelo e $x_1$ e $x_2$ representam os fatores codificados, levando-se em conta os resultados experimentais obtidos no planejamento fatorial (MONTGOMERY, 2017; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

$$\hat{y}(x) = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (18)$$

Caso ainda não tenha sido atingida a região ótima dentro dos intervalos considerados é necessário extrapolar para outros níveis na direção da região de interesse (Figura 20).

Figura 20 - Representação esquemática das curvas de nível da superfície de resposta e da trajetória do caminho de máxima inclinação (seta vermelha).




Fonte: Adaptado de BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, (2010).

Já a metodologia de superfícies de resposta (MSR) é uma ferramenta que permite determinar condições ótimas de operação e a sensibilidade da variável-resposta em relação às mudanças dos níveis dos fatores estudados. Basicamente, a MSR é constituída de três etapas: experimentação, modelagem e deslocamento, as quais devem ser repetidas inúmeras vezes quanto forem necessárias até se atingir a região de ótimo (MONTGOMERY, 2017; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

## 4.2 OBJETIVOS

Otimizar a degradação pelo planejamento experimental utilizando a metodologia da superfície de resposta (MSR).

Determinar a cinética da reação no ponto ótimo para cada fármaco individualmente.

Determinar o percentual de mineralização (total oxidação da matéria orgânica, gerando como únicos produtos $CO_2$ e $H_2O$) da mistura dos fármacos no ponto ótimo da degradação.

## 4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nessa etapa do trabalho foram apresentados no item 2.3.1.

### 4.3.2 Análises

Os analítos foram quantificados utilizando-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência com injetor automático (HPLC, Agilent 1200, Agilent Technologies, Inc.,USA) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD). A separação foi realizada em uma coluna Poroshell 120 EC-C18, 2.7 µm, 4.6 mm × 50 mm fase reversa (Agilent, Inc., EUA) mantida a 40°C. Para as injecções das amostras, utilizou-se um amostrador automático com 3 µL de looping da amostra e o eluente da coluna foi monitorado a: 241 nm (PAR e ASA), 255 nm (CAF e DCF) e 275 nm (CETO). Utilizou-se o gradiente de eluição mostrado na Tabela 7 e uma vazão de 0,6 mL $min^{-1}$. O tempo total de análise foi de 16 min.

Tabela 7 - Gradiente de eluição: A – Água acidificada (0.1% de ácido fórmico) e B – metanol

| Time (min) | Solvents | |
|---|---|---|
| | A | B |
| 0 | 70 | 30 |
| 7 | 30 | 70 |
| 14 | 30 | 70 |
| 16 | 70 | 30 |

As medidas de pH foram realizadas com um pHmetro MARCONI modelo 200 PA. As medidas de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) foram realizadas com um analisador de carbono GE Analytical Instruments™ Boulder, USA. Para as análises e determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) foi utilizado o método de refluxo fechado (5220 D) do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998).

O número médio de oxidação do carbono (NOC) foi determinado utilizando-se os dados das medidas de COD e DQO de acordo com a Equação 19. (VOGEL, et al., 2000).

$$\mathrm{MOC} = 4 - 1.5\frac{\mathrm{DQO}}{\mathrm{COD}} \tag{19}$$

O erro-padrão (*SE*) foi calculado de acordo com a Equação 20, na qual $n_i$ é número de réplicas de cada ensaio, $m$ é o número de ensaios diferentes e $v_i = n_i - 1$ é o número de graus de liberdade de ${s_i}^2$ (estimativa da variância do *i*-ésimo ensaio) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

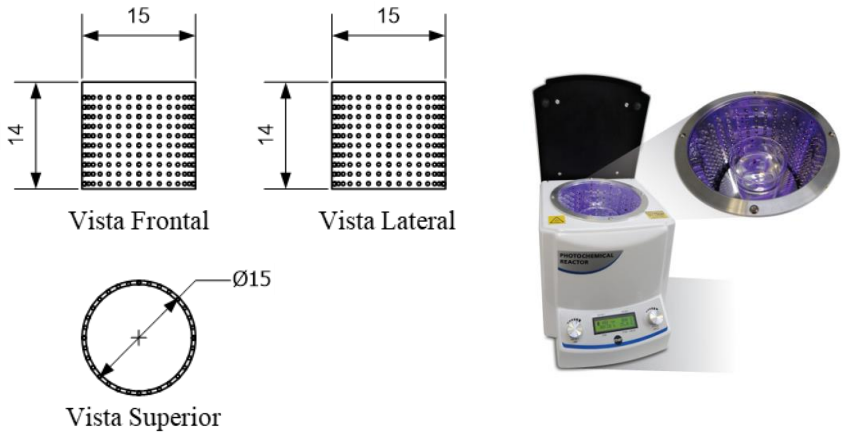
$$SE = \sqrt{\frac{v_1{s_1}^2 + v_1{s_1}^2 + \cdots + v_m{s_m}^2}{v_1 + v_2 + \cdots + v_m}} \tag{20}$$

### 4.3.3 Aparato experimental

Os experimentos foram realizados no modo batelada em um fotorreator LED da Delpho Instruments, modelo Multi-Fotons 320RA (Figura 21), equipado com agitador magnético. A

câmara de reação do reator é composta por um corpo cilíndrico de alumínio polido contendo 320 LEDs. Os LED estão dispostos em 8 grupos de 40 LEDs (4 fileiras com 10 LEDs cada). Os primeiros 7 grupos contêm LEDs monocromáticos (365, 400, 470, 515, 568, 624 e 650 nm) e o restante LEDs brancos (espectro de emissão contínua no visível). A potência elétrica nominal máxima de cada LED é 68 mW. Os parâmetros operacionais necessários foram ajustados de acordo com as necessidades por meio de um painel de controle disposto na parte frontal do reator.

Figura 21 - Fotorreator da Delpho Instruments, modelo Multi-Fótons 320RA: (a) vistas ortográficas (medidas em cm) e (b) foto.




(a) (b)

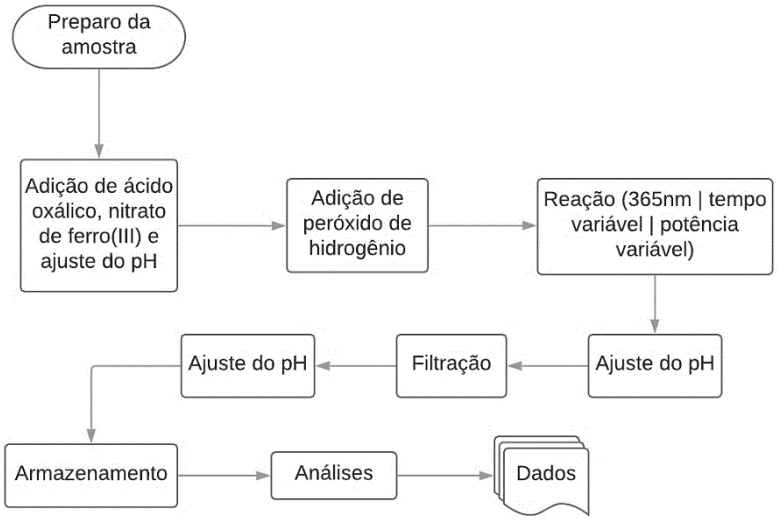
Fonte: Autoria própria.

### 4.3.4 Procedimento experimental

Todos os experimentos foram realizados em batelada utilizando-se um béquer de borossilicato de 200 mL (sem graduação) posicionado no centro da câmara do reator. Durante a reação manteve-se a agitação constante para assegurar a homogeneidade da solução. Para cada experimento foi utilizada uma solução contento uma mistura de todos os cinco fármacos (10 mg $L^{-1}$ cada) e o pH inicial foi ajustado para 6.5 ± 0.1 com soluções de hidróxido de sódio e ácido nítrico. Os experimentos foram planejados e executados utilizando-se a técnica de planejamento fatorial de experimentos e a otimização foi realizada utilizando-se a metodologia de superficie de resposta (MSR) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

A razão molar ferro/oxalato utilizada foi de 1:3. As reações foram realizadas a temperatura ambiente com os LEDs programados para 365 nm de comprimento de onda e a potência foi variada de acordo com os parâmetros fornecidos pelo planejamento experimental. Após o tempo de reação (variável, determinado de acordo com o planejamento), o reator era desligado e o pH da amostra ajustado para 10.0 ± 0.1, para interromper a reação. A solução foi filtrada a vácuo em membranas de acetato de celulose (diâmetro de poro: 0.45 μm). Após a filtração o pH das soluções foi novamente ajustado para 6.5 ± 0.1 e então as amostras foram submetidas as análises necessárias (Figura 22).

Figura 22 - Fluxograma do procedimento de degradação




### 4.3.5 Planejamento e otimização experimental

As melhores condições operacionais foram estimadas de maneira multivariada, utilizando-se a abordagem MSR. Essa metodologia englobou três etapas. Na primeira, realizou-se um planejamento fatorial completo $2^k$ ($k$ fatores, 2 níveis) com três repetições no ponto central para se determinar: (a) o erro experimental (erro-padrão, Equação 20), (b) a significância estatística dos fatores testados e (c) a direção da região ótima. O tempo de reação durante a etapa preliminar foi de 15 min.

Na segunda etapa, uma série de experimentos foi realizada seguindo-se a direção do caminho de mámixa inclinação. Os pontos experimentais foram determinados deslocando-se o fator de maior efeito de uma unidade, sendo os demais fatores calculados pela razão entre os respectivos coeficientes e o coeficiente de maior módulo. Os experimentos foram realizados partindo-se do ponto central e seguindo-se ao longo de uma trajetória perpendicular às curvas de nível do caminho de máxima inclinação (CMI) da superfície ajustada ao modelo matemático proposto (MONTGOMERY, 2017; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Finalmente, atingido o ponto de máximo (maior degradação) foi utilizado como o ponto central de um planejamento composto central. Uma vez obtido o polinômio que melhor explicava as respostas observadas, a condição ótima foi estimada.

Inicialmente, três fatores (independentes) foram estudados: a potência luminosa dos LEDs (em percentagem da potência nominal) e as concentrações de peróxido de hidrogênio e de ferro(III). A Tabela 8 apresenta os níveis de cada fator (e suas respectivas codificações). Como várias respostas precisaram ser otimizadas simultaneamente (a degradação dos cinco fármacos), uma variável-resposta conjunta foi definida na forma de uma função desejabilidade ((MONTGOMERY, 2017; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Tabela 8 - Fatores e níveis (e suas codificações) do planejamento fatorial completo 23

| **Fatores** | **Níveis**** | |
|---|---|---|
| | **(–1)** | **(+1)** |
| $x_1$: potência dos LEDs (%)* | 35 | 65 |
| $x_2$: $C_{H_2O_2}$ (mg $L^{-1}$) | 15 | 60 |
| $x_3$: $C_{Fe^{3+}}$ (mg $L^{-1}$) | 5,0 | 10 |

*Porcentagem da potência nominal.
**Equações de codificação: $x_1 = \frac{Potência\ dos\ LEDs - 50}{15}$; $x_2 = \frac{C_{H_2O_2} - 37{,}5}{22{,}5}$; $x_3 = \frac{C_{Fe^{3+}} - 7.5}{2{,}5}$

Uma função desejabilidade foi elaborada baseada nos estudos de Derringer e Suich (1980). O objetivo principal dessa função é encontrar as melhores condições operacionais quando várias respostas devem ser consideradas. Como a degradação dos cinco fármacos devia ser maximizada, foi utilizada a Equação 21, na qual: $d_i(\hat{y}_i)$ é a função desejabilidade para cada variável-resposta $\hat{y}_i$; $L_i$ é o menor valor aceitável para a resposta; $U_i$ é o valor mais alto para

a resposta; e *s* é o peso atribuído. Por fim, calculou-se a média geométrica das desejabilidades individuais: a desejabilidade global (*D*).

$$d_i(\hat{y}_i(x)) = \begin{cases} 0 & se\ \hat{y}_i(x) < L_i \\ \left(\dfrac{\hat{y}_i(x) - L_i}{U_i - L_i}\right)^s & se\ L_i \leq \hat{y}_i(x) \leq U_i \\ 1 & se\ \hat{y}_i(x) > U_i \end{cases} \quad (21)$$

Como durante a realização dos quatro experimentos seguindo-se a direção do caminho de mámixa inclinação (Tabela 9) atingiu-se o limite legal de descarga de efluentes brasileiros para o ferro total ($Fe^{2+}$ + $Fe^{3+}$) (BRASIL, 2011), a concentração de ferro inicial ($C_{Fe^{3+}}$ ) foi fixada em 15 mg $L^{-1}$ para a continuidade dos experimentos.

Tabela 9 - Caminho de máxima inclinação

| **Ensaio** | **Potência dos LEDs (%)** | $C_{Fe^{3+}}$ **(mg $L^{-1}$)** | $C_{H_2O_2}$ **(mg $L^{-1}$)** |
|---|---|---|---|
| 1 | 50 | 7,50 | 37,5 |
| 2 | 54 | 10,0 | 41,0 |
| 3 | 59 | 12,5 | 44,5 |
| 4 | 63 | 15,0 | 48,0 |

Em seguida, utilizando-se o ponto extremo do caminho de máxima inclinação (ponto no qual $C_{Fe^{3+}}$ = 15 mg $L^{-1}$) como ponto central (em triplicata) foi realizado um planejamento composto central (CCD) com os outros dois fatores. A Tabela 10 apresenta os novos níveis e suas respectivas codificações, já a Figura 23 apresenta as etapas do planejamento e otimização experimental.

Tabela 10 - Fatores e níveis do planejamento composto central ($C_{Fe^{3+}}$ = 15 mg $L^{-1}$)

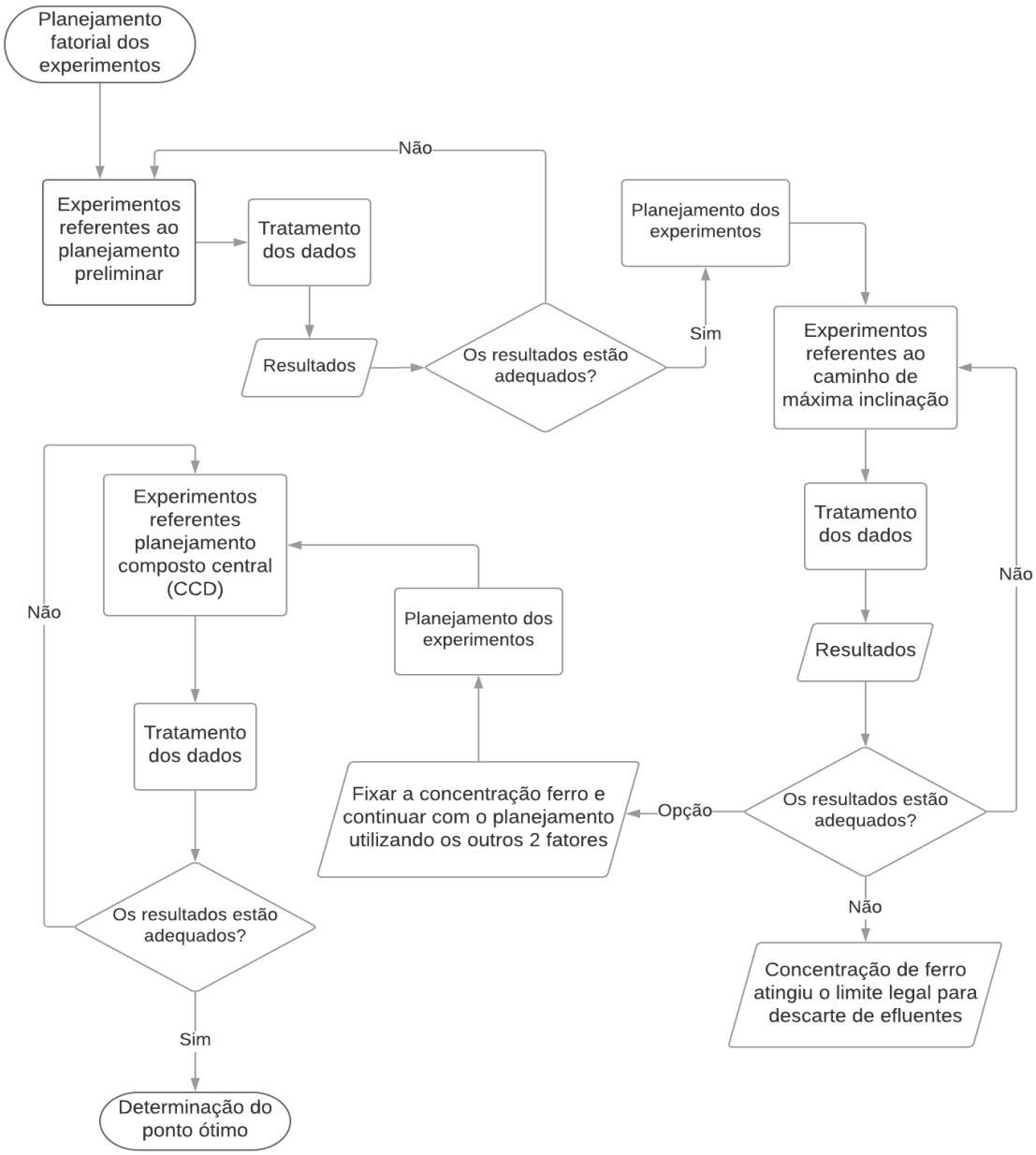
| **Fatores** | **Níveis**** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **(–1.414)** | **(–1)** | **(0)** | **(+1)** | **(+1,414)** |
| $x_1$: potência dos LEDs (%)* | 57 | 59 | 63 | 67 | 69 |
| $x_2$: $C_{H_2O_2}$ (mg $L^{-1}$) | 42,9 | 44,4 | 47,8 | 51,2 | 52,6 |

*Porcentagem da potência nominal.

**Equações de codificação: $x_1 = \frac{Potência\ dos\ LEDs - 63}{4}$; $x_2 = \frac{C_{H_2O_2} - 47,8}{3,4}$

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software Statistica®, versão 10. As constantes cinéticas de degradação de todos os fármacos foram estimadas nas condições otimizadas de degradação.

Figura 23 - Fluxograma das etapas do planejamento e otimização



### 4.3.6 Estudo cinético

As reações para o estudo cinético da degradação dos compostos farmacêuticos foram realizadas adotando-se as condições otimizadas do processo foto-Fenton mediado pelo ferri-oxalato. As concentrações das substâncias foram avaliadas por meio de HPLC antes e após cada degradação.

A taxa de degradação dos fármacos foi calculada de acordo com a Equação 22, onde $C_f$ representa a concentração do fármaco, $k'$ é a constante da taxa de degradação e $C_{HO\bullet}$ a concentração dos radicais hidroxila.

$$\frac{dC_f}{d_t} = -k' C_f C_{HO\bullet} \qquad (22)$$

## 4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.4.1 Otimização

A partir dos resultados do planejamento fatorial completo $2^3$ (Tabela 11), foram obtidas três informações:

(a) O erro experimental estimado foi de 0,76%, um valor baixo o suficiente para prosseguir com a rotina de otimização.

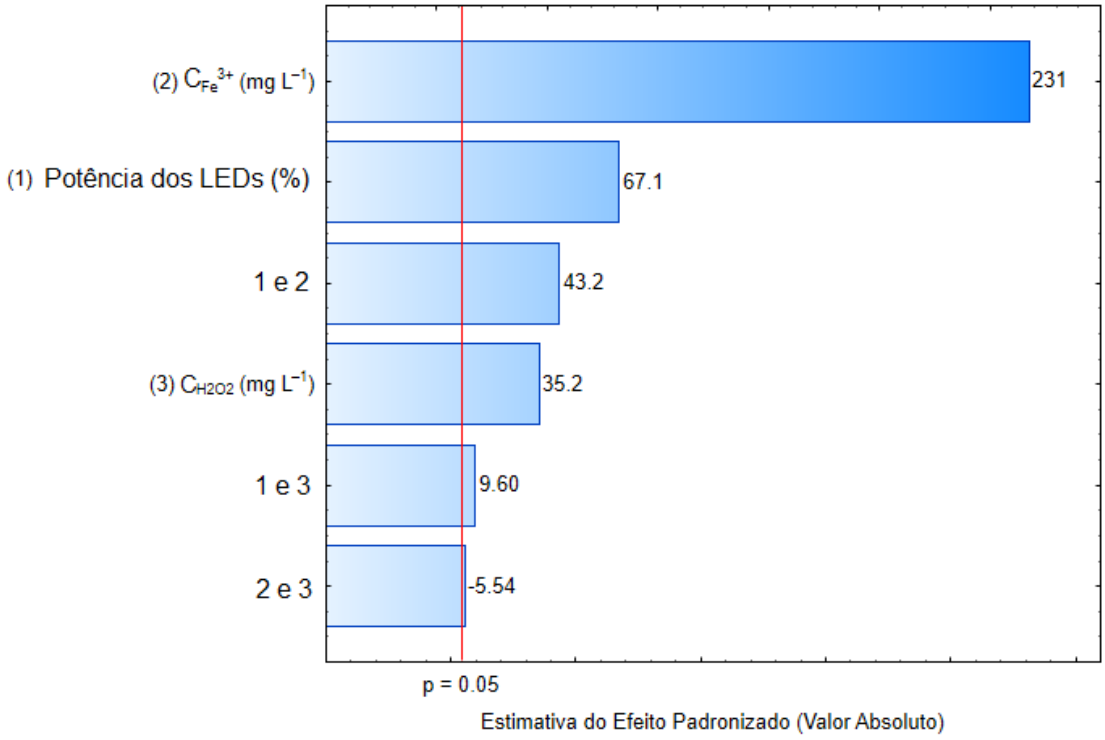
(b) As variáveis estudadas (dentro dos níveis testados) e suas interações de primeira ordem foram todas estatisticamente significativas (intervalo de confiança de 95%), conforme o gráfico de Pareto (Figura 24). Nesse gráfico, as barras que cruzam a linha vermelha de referência são estatisticamente significativas.

(c) A direção de máxima inclinação foi aquela na qual os três fatores aumentavam.

Tabela 11 - Condições e resultados do planejamento fatorial completo $2^3$

| Ensaio | Potência dos LEDs (%) | $C_{Fe^{3+}}$ (mg L$^{-1}$) | $C_{H_2O_2}$ (mg L$^{-1}$) | Desejabilidade |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0,73 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0,73 |
| 3 | –1 | –1 | –1 | 0,03 |
| 4 | +1 | +1 | +1 | 0,91 |
| 5 | –1 | +1 | –1 | 0,54 |
| 6 | +1 | –1 | –1 | 0,06 |
| 7 | –1 | –1 | +1 | 0,10 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0,72 |
| 9 | +1 | +1 | –1 | 0,82 |
| 10 | +1 | –1 | +1 | 0,20 |
| 11 | –1 | +1 | +1 | 0,60 |

Figura 24 - Gráfico de Parto referente ao planejamento fatorial preliminar




Observa-se no gráfico de Pareto que, dentro dos níveis testados, todos os fatores e suas respectiva interações de primeira ordem foram significativos apesar das interações envolvendo a $C_{H_2O_2}$ terem se mostrado pouco significativas. Além disso, entre os fatores, a $C_{H_2O_2}$ teve a menor importância, a qual aumentou na ordem: $C_{H_2O_2}$ < potência dos LEDs < $C_{Fe^{3+}}$.

Esse comportamento é um pouco inesperado, uma vez que o peróxido de hidrogênio é um reagente fundamental para a ocorrência da reação de Fenton (Equação 6). Esse resultado, provavelmente, deve-se ao fato de que o intervalo inicial de $C_{H_2O_2}$ testado já estava na vizinhança do valor ideal, onde a variação do valor da variável-resposta é pequena. Dessa forma, a importância do fator $C_{H_2O_2}$ pode ter sido subestimado.

De acordo com os resultados obtidos a $C_{Fe^{3+}}$ é o fator mais importante. Essa observação confirma o papel primordial do par $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ no processo (Equações 10-12). A potência dos LEDs é o segundo fator mais importante, já que o processo necessita de fótons (Equação 12). Como esses três fatores tiveram efeitos positivos, pode-se dizer que aumentá-los do nível –1 ao +1 aumenta a resposta (nesse caso, a função desejabilidade). Portanto, de fato, era de ser esperar tal comportamento.

Como a degradação no ensaio 4 (Tabela 10) foi de aproximadamente 90% em 15 min, para a continuidade do processo de otimização, o tempo de reação foi reduzido para 5 min. Quatro experimentos foram realizados ao longo do caminho de máxima inclinação. A Tabela 12 apresenta os respectivos resultados.

Tabela 12 - Fatores e resultados da função desejabilidade ao longo do caminho de máxima inclinação

| **Ensaio** | **Potência dos LEDs (%)** | $C_{Fe^{3+}}$ **(mg L$^{-1}$)** | $C_{H_2O_2}$ **(mg L$^{-1}$)** | **Desejabilidade** |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 50 | 7,50 | 37,5 | 0,04 |
| 2 | 54 | 10,0 | 41,0 | 0,21 |
| 3 | 59 | 12,5 | 44,5 | 0,46 |
| 4 | 63 | 15,0 | 48,0 | 0,49 |

De acordo com a Tabela 12, a maior degradação foi obtida nas condições do ensaio número 4 que corresponde às maiores concentrações testadas de íons $Fe^{3+}$ (15,0 mg L$^{-1}$) e de peróxido de hidrogênio (48,0 mg L$^{-1}$) durante o caminho de máxima inclinação. Esse comportamento também foi observado nos estudos de degradação de compostos farmacêuticos (via foto-Fenton mediado por ferrioxalato) realizados por Real et al. (2009).

Seguindo-se o processo de otimização, foi realizado um CCD usando-se as condições do ensaio 4 como ponto central. Entretanto, para a sequência dos experimentos, a concentração

de ferro foi fixada em 15,0 mg $L^{-1}$ já que atingiu a máxima concentração permitida legalmente para descarte de efluentes (BRASIL, 2011). A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 13 - Condições e resultados do planejamento composto central (CCD)

| **Ensaio** | **Portência dos LEDs (%)** | $C_{H_2O_2}$ **(mg $L^{-1}$)** | **Desejabilidade** |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 0 | 0,45 |
| 2 | –1 | –1 | 0,36 |
| 3 | +1 | +1 | 0,35 |
| 4 | 0 | 0 | 0,44 |
| 5 | +1,414 | 0 | 0,40 |
| 6 | –1,414 | 0 | 0,24 |
| 7 | 0 | +1.414 | 0,29 |
| 8 | –1 | +1 | 0,40 |
| 9 | 0 | 0 | 0,44 |
| 10 | 0 | –1.414 | 0,36 |
| 11 | +1 | –1 | 0,30 |

Utilizando-se o método dos mínimos quadrados, ajustou-se uma função polinomial (Equação 23) aos resultados apresentados na Tabela 13, onde $x_1$ e $x_2$ são, respectivamente, os fatores potência dos LEDs (%) e $C_{H_2O_2}$ (mg $L^{-1}$) codificados e $\hat{y}$ é a função desejabilidade.

A Tabela 14 apresenta os resultados da ANOVA (análise de variância). Os resultados apresentados mostraram que a regressão foi estatisticamente significativa (limite de confiança de 95%), com $MQ_R/MQ_r > F_{6,4}$ e $R^2 = 0,959$, para uma variação máxima explicável ($R^2$) de 0,999 (BRUNS; SCARMINIO; NETO, 2006).

$$\hat{y}(x) = 0,444 + 0,057x_1 - 0,025x_2 - 0,054x_1^2 - 0,052x_2^2 + 0,048x_1^2x_2 - 0,083x_1x_2^2 \quad (23)$$

Tabela 14 - ANOVA para os resultados do CCD

| **Fonte de variação** | **Soma dos quadrados** | **Graus de liberdade** | **Média quadrática** |
|---|---|---|---|
| Regressão | 0,045 | 6 | 0,007 |
| Erro residual | 0,002 | 4 | 0,0005 |
| Falta de ajuste | 0,002 | 2 | 0,0009 |
| Erro puro | 0,00007 | 2 | 0,00003 |
| Total | 0,047 | 10 | |

Finalmente, calculando-se o máximo da Equação 23, foram obtidas as condições ótimas de degradação codificadas:

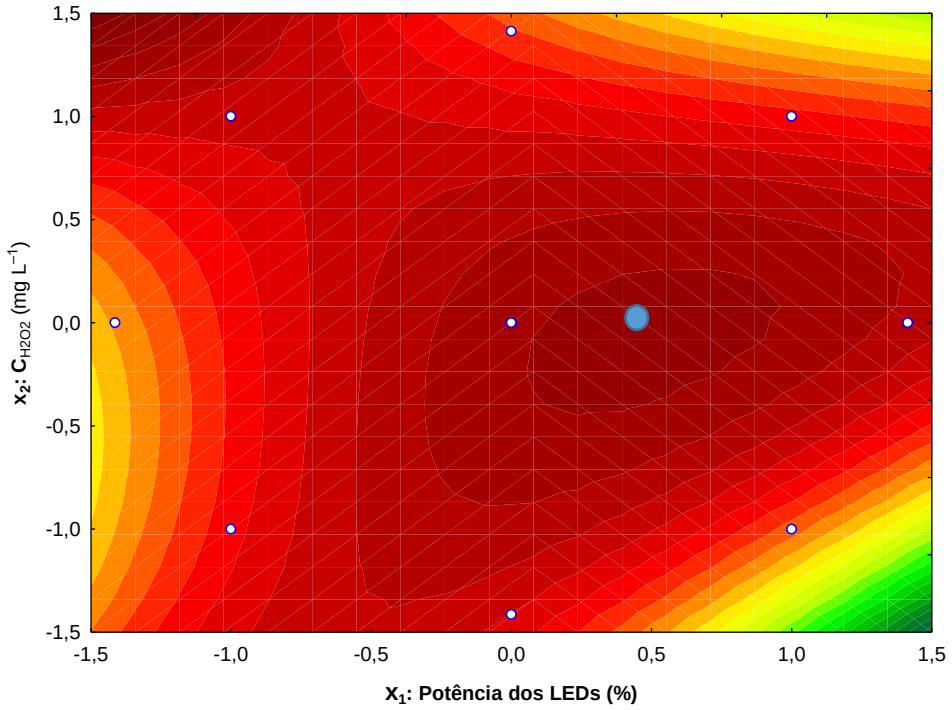
① Potência dos LEDs: + 0,49 (65%, ou seja, 0,65 × 40 LEDs × 68 mW = 1,768 W).

② $C_{H_2O_2}$: – 0,07 (47,6 mg $L^{-1}$).

③ $C_{Fe^{3+}}$: 15,0 mg $L^{-1}$ (previamente fixado).

As condições otimizadas (ponto ótimo) da Equação 18 são apresentadas na Figura 25.

Figura 25 - Superfície de resposta para o CCD ($\hat{y}$ = função desejabilidade; •, ponto ótimo).




Ao final do procedimento de otimização, observou-se que a concentração ótima de peróxido de hidrogênio estava de fato dentro do intervalo inicial testado (15-60 mg $L^{-1}$), corroborando a hipótese da subestimação do efeito $C_{H_2O_2}$. Além disso, a escolha cuidadosa das condições iniciais para a realização do planejamento fatorial completo $2^3$, juntamente com a utilização da MSR, guiou bem os experimentos para a otimização do sistema de degradação.

### 4.4.2 Experimentos nas condições ótimas

Os radicais hidroxila ($HO^{\bullet}$) gerados durante o processo foto-Fenton são pouco específicos, sendo os principais agentes oxidantes que atuam na degradação dos fármacos durante o estudo. A Equação 22 indica que a taxa de degradação do processo estudado é de segunda ordem. Entretanto, como a concentração dos fármacos ($C_f$) no meio reacional é significativamente maior que a concentração de radicais hidroxila ($C_{HO\bullet}$), a Equação 22 pode ser simplificada para uma equação de taxa de pseudo primeira ordem (Equação 24), na qual $k = k'C_f$.

$$\frac{dC_f}{d_t} = -kC_f \qquad (24)$$

Assim sendo, pode-se dizer que a cinética da oxidação dos fármacos pelo processo foto-Fenton é representada pela Equação 24, onde $C_f$ é a concentração do fármaco (mg $L^{-1}$), $t$ é o tempo de reação (min) e $k$ é a constante cinética de pseudo-primeira ordem ($min^{-1}$). Estudos apontam que essa simplificação é uma alternativa de interpretação para os processos foto-Fenton (TROVÓ et al., 2013; ALALM et al., 2015; REAL et al., 2009). As cinéticas de degradação estão apresentadas na Figura 22.

De maneira geral, os processos oxidativos avançados apresentam a característica de promoverem a rápida degradação do poluente-alvo. Outro ponto importante que possivelmente promoveu a rápida degradação dos fármacos foi a utilização da radiação luminosa (foto-Fenton) e do ferrioxalato, o qual possivelmente melhorou o rendimento quântico da reação. Os valores estimados das constantes de taxa, bem como dos coeficientes de determinação ($R^2$) para cada fármaco, estão apresentados na Tabela 15.

Figura 26 - Comportamento cinético durante a degradação dos fármacos estudados ( $C_{H_2O_2}$= 47,6 mg L$^{-1}$; $C_{Fe^{3+}}$= 15,0 mg L$^{-1}$; 1,768 W): (a) Ácido Salicílico, (b) Cetoprofeno, (c) Diclofenaco, (d) Paracetamol e (e) Cafeína.

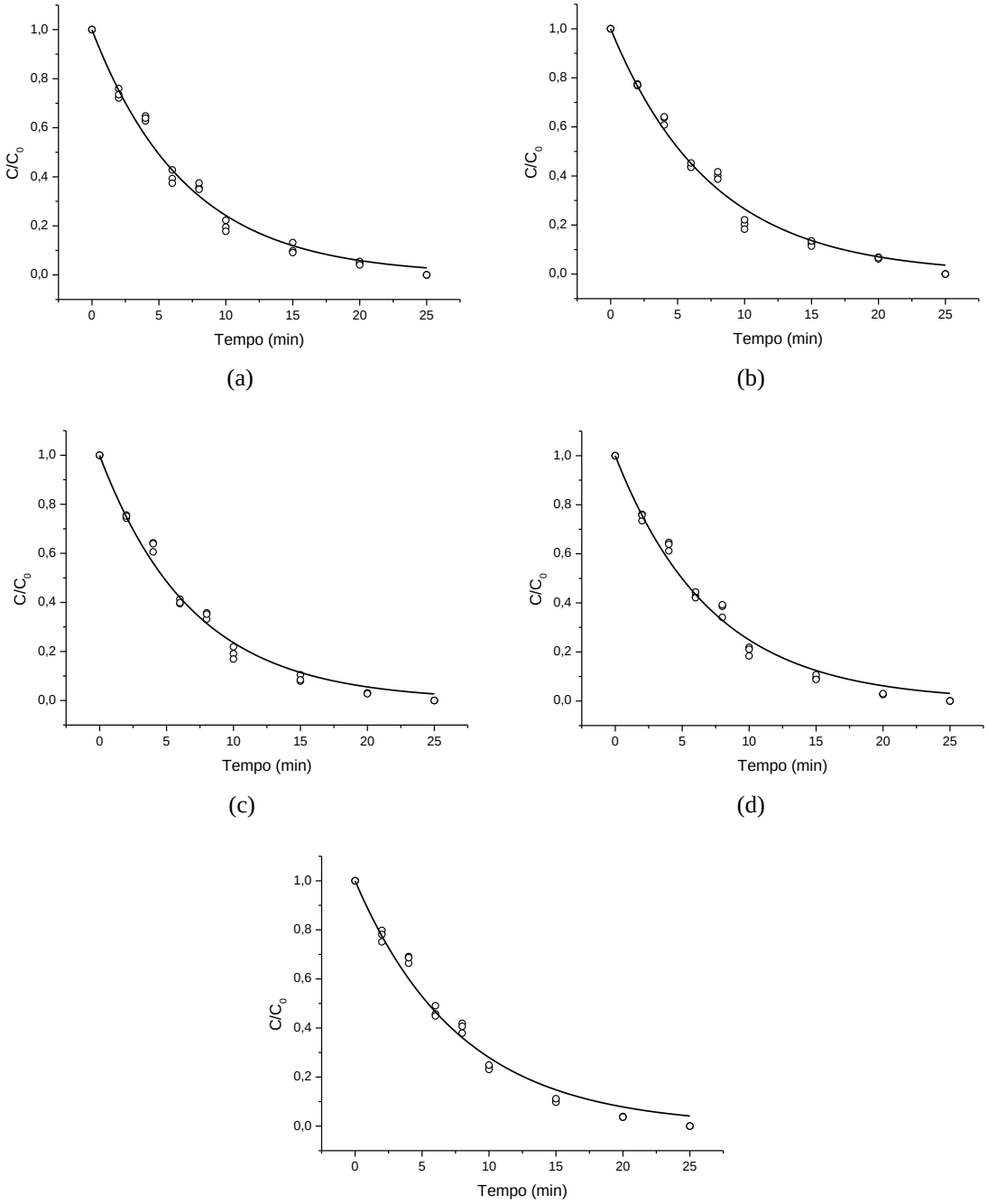


Tabela 15 - Constantes (pseudo-primeira ordem) da taxa de degradação dos fármacos estudados (com os respectivos coeficientes de determinação)

| **Fármaco** | $k \times 10^{-1}$ **(min$^{-1}$)** | **$R^2$** |
|---|---|---|
| Ácido Salicílico | 1,4 ± 0,0037* | 0,991 |
| Cetoprofeno | 1,3 ± 0,0032* | 0,990 |
| Diclofenaco | 1,4 ± 0,0036* | 0,988 |
| Paracetamol | 1,4 ± 0,0035* | 0,983 |
| Cafeína | 1,3 ± 0,0037* | 0,982 |

* Erros da regressão.

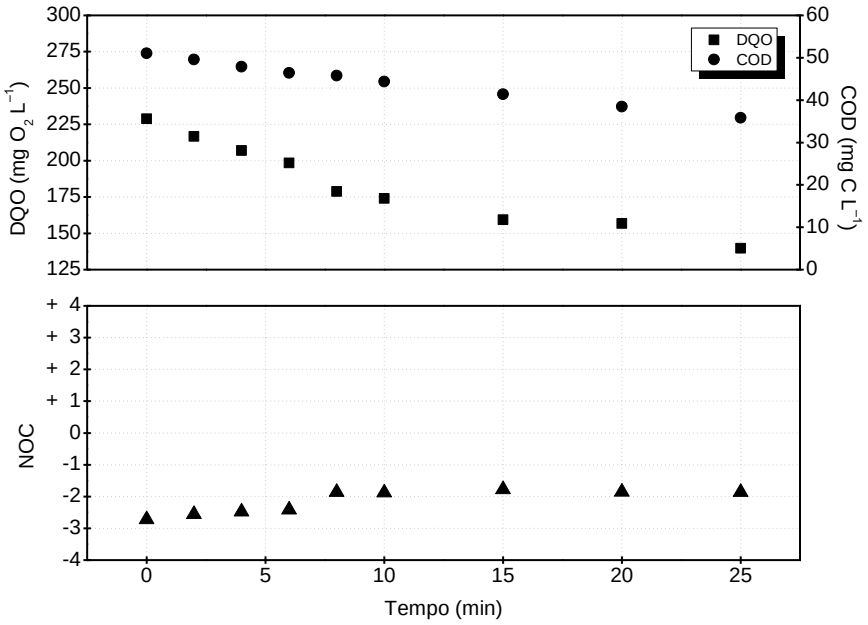
Observando-se a Figura 26 e a Tabela 15, verifica-se que os fármacos estudados apresentaram comportamentos cinéticos semelhantes, com rápida degradação (aproximadamente 80% nos 10 min iniciais) e constantes de taxa com valores próximos.

Trovó, Melo e Nogueira (2008) investigaram a fotodegradação de fármacos, incluindo o paracetamol (15 mg $L^{-1}$), em soluções aquosas via processo foto-Fenton solar (0,36 W) utilizando-se o ferrioxalato de potássio como fonte de ferro e os resultados obtidos também mostraram rápida degradação (98% após 5 min de irradiação).

Em contrapartida, a taxa de mineralização foi bem menor que a de degradação dos fármacos. Nos mesmos 25 min, as remoções de DQO e de COD foram 40 e 30%, respectivamente (Figura 23). Isso indica que, durante a degradação dos cinco fármacos, houve a formação de concentrações relativamente grandes de produtos de degradação. Então, muito provavelmente, os produtos de degradação formados eram mais resistentes ao ataque dos radicais hidroxila.

Comportamento parecido também foi observado por Souza et al. (2014) que realizaram estudos de degradação de soluções aquosas contendo 20 mg $L^{-1}$ de diclofenaco por meio do processo foto-Fenton solar (37,9 W) com ferrioxalato em pH 5,0, utilizando-se uma relação molar ferro/oxalato de 1:3. Os resultados mostraram que após 90 min a remoção de COD foi de aproximadamente 55%.

Figura 27 - Remoção (•) COD e (■) DQO e oxidação (▲) NOC de matéria orgânica.




De acordo com Vogel et al. (2000), durante os processos de degradação podem ocorrer efeitos de adsorção (nas paredes do reator, catalisador, biomassa), remoção de orgânicos voláteis, sedimentação, complexação, precipitação ou evaporação da água do meio reacional. Esses fatores podem afetar diretamente a concentração das substâncias presentes na amostra. Assim, apenas com os resultados das análises de COD e/ou DQO não se pode concluir que houve uma degradação química.

Ainda de acordo com Vogel et al. (2000), é possível se obter informações importantes sobre o comportamento das reações durante os processos oxidativos com a combinação dos valores das medidas de TOC (ou COD) e DQO. O NOC pode ajudar a prever o fim da reação e é uma forma alternativa de monitorar a conversão de espécies de carbono nocivas ao meio ambiente em outras menos problemáticas. Por meio do número de oxidação médio do carbono orgânico (NOC) foi possível acompanhar a evolução da oxidação através do aumento do estado médio de oxidação do carbono (Fig. 27).

O NOC inicial foi – 2,7. Após 25 min de tratamento, o NOC aumentou para – 1,9 (Equação 19). Isso indica que: (a) de fato houve um processo de degradação oxidativo e (b) corrobora a baixa mineralização obtida, pois o NOC final era muito abaixo de + 4, número de oxidação referente à completa oxidação do carbono orgânico presente (levando-o a $CO_2$).

Ao se analisar a Figura 27, percebe-se que a remoção de carbono se ajustou melhor ao modelo cinético de ordem zero ($k$ = 6,3 × $10^{-1}$ mg C $L^{-1}$ $min^{-1}$, $R^2$ = 0,992). Caso tal comportamento continuasse após os 25 min, poder-se-ia estimar que a mineralização do compostos ocorreria após 80 min de reação, aproximadamente.

Pérez-Estrada et al. (2005) utilizaram o processo foto-Fenton solar (92,4 W), sem a presença do ferrioxalato, e relataram que sob as condições aplicadas (adição de peróxido constante, mantendo-se a concentração entre 200 e 400 mg $L^{-1}$; $[Fe^{2+}]_0$ = 0,05 mmol $L^{-1}$; $[DCF]_0$ = 50 mg $L^{-1}$; pH próximo à neutralidade) a degradação completa do diclofenaco ocorreu após 60 min e a total mineralização após 100 min.

Já Trovó et al. (2013) realizaram estudos de degradação de soluções contendo cafeína ($[H_2O_2]_0$ = 42,0 mg $L^{-1}$; $[Fe^{2+}]_0$ = 10,0 mg $L^{-1}$; $[CAF]_0$ = 52,0 mg $L^{-1}$; pH entre 6 e 8) via foto-Fenton (lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão, 400 W). Os resultados obtidos mostraram rápida degradação inicial (98,5% nos 20 min iniciais) e mineralização após 120 min de reação. Já a constante de taxa foi de 0,014 $min^{-1}$.

## 4.5 CONCLUSÃO

No ponto ótimo ( $C_{H_2O_2}$= 47,6 mg $L^{-1}$; $C_{Fe^{3+}}$= 15,0 mg $L^{-1}$; 1,768 W), a cinética de degradação seguiu um modelo de primeira ordem para todos os compostos farmacêuticos estudados e após 25 min de reação promoveu 30% de mineralização e as concentrações de cada um dos cinco fármacos foram abaixo do limite de detecção do método. Os resultados mostram a viabilidade da degradação do DCF, PAR, ASA, KETO e CAF utilizando-se o processo foto-Fenton irradiado com LED e mediado por ferrioxalato, sob as condições aplicadas. A utilização do complexo ferrioxalato permitiu a degradação dos compostos-alvo em condições de pH próximas à neutralidade. Como o processo foto-Fenton depende de diversas variáveis, como a concentração de peróxido de hidrogênio e de Fe(III) e a intensidade luminosa, a utilização do planejamento experimental e da MSR foi de fundamental importância para a otimização da degradação.

# REFERÊNCIAS


ALALM, M. G.; TAWFIK, A.; OOKAWARA, S. Degradation of four pharmaceuticals by solar photo-Fenton process: kinetics and costs estimation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, n. 1, p. 46-51, 2015.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** Washington: Amer Public Health Assn, 1998. 1325 p.

ANDREOZZI, R., CAPRIO, V., INSOLA, A., MAROTTA, R., Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, v.53, n. 1, p. 51-59, 1999.

BABUPONNUSAMI, A.; MUTHUKUMAR, K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 557-572, 2014.

BALMER, M. E.; SULZBERGER, B. Atrazine degradation in irradiated iron/oxalate systems: effects of pH and oxalate. **Environmental Science & Technology**, v. 33, n. 14, p. 2418-2424, 1999.

BALZANI, V.; CARASSITI, V. **Photochemistry of Coordination Compounds.** London: Academic Press, 1970. 432p.

BENOTTI, M. J.; TRENHOLM, R. A.; VANDERFORD, B. J.; HOLADY, J. C.; STANFORD, B. D.; SNYDER, S. A. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in US drinking water. **Environmental science & technology**, v. 43, n. 3, p. 597-603, 2008.

BIRCH, G. F.; DRAGE, D. S.; THOMPSON, K.; EAGLESHAM, G.; MUELLER, J. F. Emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, a food additive and pesticides) in waters of Sydney estuary, Australia. **Marine pollution bulletin**, v. 97, n. 1-2, p. 56-66, 2015.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. **Diário Oficial da União** , Brasília, DF, 16 maio 2011.

BRUNS, R.E.; SCARMINIO, I.S.; NETO, B. B. Statistical design - chemometrics. Amsterdam: Elsevier, 2006. 412p

CHENG, H.; HUANG, Y.; LEE, C. Decolorization of reactive dye using a photo-ferrioxalate system with brick grain-supported iron oxide. **Journal of hazardous materials**, v. 188, n. 1, p. 357-362, 2011.

COPPER, G. D.; DEGRAFF, B. A. Photochemistry of the monoxalatoiron (III) ion. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 76, n. 18, p. 2618-2625, 1972.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

ESLAMI, A.; AMINI, M. M.; YAZDANBAKHSH, A. R.; RASTKARI, N.; MOHSENI-BANDPEI, A.; NASSERI, S.; PIROTI, E.; ASADI, A. Occurrence of non-steroidal anti-inflammatory drugs in Tehran source water, municipal and hospital wastewaters, and their ecotoxicological risk assessment. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, n. 12, p. 734, 2015.

GAFFNEY, V. J.; ALMEIDA, C. M .M.; RODRIGUES, A.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J.; CARDOSO, V. V. Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. **Water research**, v. 72, p. 199-208, 2015.

GALDÁMEZ, E.V.C. **Aplicação das técnicas de planejamento e análise de experimentos na melhoria da qualidade de um processo de fabricação de produtos plásticos**. 2002. 121 f. Dissertação (Mestrado da Escola de Engenharia de São Carlos) Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

GAO, P.; DING, Y.; LI, H.; XAGORARAKI. Occurrence of pharmaceuticals in a municipal wastewater treatment plant: mass balance and removal processes. **Chemosphere**, v. 88, n. 1, p. 17-24, 2012.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F.; LITTER, M. I.; MANSILLA, H. D. Destruction of EDTA using Fenton and photo-Fenton-like reactions under UV-A irradiation, **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 167, n.1, p. 59-67, 2004.
GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods. **Advances in Environmental Research**, v. 8, n. 3–4, p. 553-597, 2004.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology letters**, v. 131, n. 1, p. 5-17, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008**; Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão: Rio de Janeiro, RJ, 2010; p. 219.

KANG, Y. W.; HWANG, K. Effects of reaction conditions on the oxidation efficiency in the Fenton process. **Water research**, v. 34, n. 10, p. 2786-2790, 2000.

KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. **Environment International**, v. 35, n. 2, pp. 402-417, 2009.

LANGFORD, C. H.; CAREY, J. H. The Charge Transfer Photochemistry of the Hexaaquoiron (III) Ion, the Chloropentaaquoiron (III) Ion, and the μ-Dihydroxo Dimer Explored with tert-Butyl Alcohol Scavenging. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 53, n. 16, p. 2430-2435, 1975.

LITTER, M. I. Introduction to photochemical advanced oxidation processes for water treatment. In: **Environmental Photochemistry Part II**. Springer Berlin Heidelberg, 2005. p. 325-366.

LUO, Y.; GUO, W.; NGO, H. H.; NGHIEM, L. D.; HAI, F. I.; ZHANG, J.; LIANG, S.; WANG, X. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 473, p. 619-641, 2014.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

MONTEAGUDO, J. M; DURÁN, A.; AGUIRRE, M.; MARTÍN, I. S. Photodegradation of Reactive Blue 4 solutions under ferrioxalate-assisted UV/solar photo-Fenton system with continuous addition of $H_2O_2$ and air injection. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, n. 2, p. 702-709, 2010.

MONTGOMERY, Douglas C. **Design and analysis of experiments**. Hoboken, NJ: John wiley & sons, 2017. 730p.

NETO, Benício Barros; SCARMINIO, Ieda Spacino; BRUNS, Roy Edward. **Como Fazer Experimentos-: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. Bookman Editora, 2010.

NOGUEIRA, R. F. P.; GUIMARÃES, J. R. Photodegradation of dichlorocetic acid and 2,4-dchlorophenol by ferrioxlate/$H_2O_2$ system. **Watter Research**, v.34, p.895-901, 2000.

NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A. G.; SILVA, M. R. A.; VILLA, R. D. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. **Química nova**, p. 400-408, 2007.

PAÍGA, P., SANTOS, L. H. M. L.M.; AMORIM, C. G.; ARAÚJO, A. N.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C. Pilot monitoring study of ibuprofen in surface waters of north of Portugal. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 4, p. 2410-2420, 2013.

PÉREZ-ESTRADA, L. A.; MALATO, S.; GERNJAK, W.; AGUERA, A.; THURMAN, E. M.; FERRER, I.; ALBA, A. R. F. Photo-Fenton degradation of diclofenac: identification of main intermediates and degradation pathway. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 21, p. 8300-8306, 2005.

PIGNATELLO, J. J.; OLIVEROS, E.; MACKAY, A. Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 36, n. 1, p. 1-84, 2006.

REAL, F. J.; BENITEZ, F. J.; ACERO, J. L.; SAGASTI, J. J. P.; CASAS, F. Kinetics of the chemical oxidation of the pharmaceuticals primidone, ketoprofen, and diatrizoate in ultrapure and natural waters. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 7, p. 3380-3388, 2009.

SAFARZADEH-AMIRI, A.; BOLTON, J. R.; CATER, S. R. Ferrioxalate-mediated photodegradation of organic pollutants in contaminated water. **Water Research**, v. 31, n. 4, p. 787-798, 1997.

SANTOS, L. H. M. L.M.; ARAÚJO A. N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. B. S.M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of hazardous materials**, v. 175, n. 1-3, p. 45-95, 2010.

SHARMA, B. M.; BECANOVÁ, S.; SCHERINGER, M.; SHARMA, A.; BHARAT, G. K.; WHITEHEAD, P. G.; KLANOVÁ, J.; NIZZETO, L. Health and ecological risk assessment of emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, and artificial sweeteners) in surface and groundwater (drinking water) in the Ganges River Basin, India. **Science of The Total Environment**, v. 646, p. 1459-1467, 2019.

SIMAZAKI, D.; KUBOTA, R.; SUZUKI, T.; AKIBA, M.; NISHIMURA, T.; SHOICHI, K. Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. **Water research**, v. 76, p. 187-200, 2015.

SOUZA, B. M.; DEZOTTI, M. W.; BOAVENTURA, R. A.; VILAR, V. J. Intensification of a solar photo-Fenton reaction at near neutral pH with ferrioxalate complexes: a case study on diclofenac removal from aqueous solutions. **Chemical Engineering Journal**, v. 256, p. 448-457, 2014.

TANG, Z.; LIU, Y.; HE, M.; BU, W. Chemodynamic therapy: tumour microenvironment-mediated Fenton and Fenton-like reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 58, n. 4, p. 946-956, 2019.

TCHOBANOGLOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D. **Wastewater Engineering**: Treatment and reuse; McGraw-Hill: Bonston, 2002. p. 1819.

TROVÓ, A. G.; MELO, S. A. S.; NOGUEIRA, R. F. P. Photodegradation of the pharmaceuticals amoxicillin, bezafibrate and paracetamol by the photo-Fenton process—application to sewage treatment plant effluent. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 198, n. 2-3, p. 215-220, 2008.

TROVÓ, A. G.; SILVA, T. F. S.; JUNIOR, O. G.; MACHADO, A. E. H.; NETO, W. B.; JUNIOR, P. S. M.; DANIEL, D. Degradation of caffeine by photo-Fenton process: optimization of treatment conditions using experimental design. **Chemosphere**, v. 90, n. 2, p. 170-175, 2013.

VOGEL, F.; HARF, J.; HUG, A.; VON ROHR, P. R. The mean oxidation number of carbon (MOC)—a useful concept for describing oxidation processes. **Water Research**, v. 34, n. 10, p. 2689-2702, 2000.

VOGNA, D.; MAROTTA, R.; NAPOLITANO, A.; ANDREOZZI, R.; D´ISCHIA, M. Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H 2 O 2 and ozone. **Water Research**, v. 38, n. 2, p. 414-422, 2004.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos de tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Editora UFMG, 1996. p. 211.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Pharmaceuticals in drinking-water**. 2012. (Relatório). Disponível em: < https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44630/9789241502085_eng.pdf> Acesso em: 06 set. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; UNICEF. **Progress on sanitation and drinking water–2015 update and MDG assessment**. World Health Organization, 2015. Disponível em: < https://www.unicef.org/publications/index_82419.html?p=printme> Acesso em: 06 set. 2019.

ZWIENER, C.; FRIMMEL, F. H. Oxidative treatment of pharmaceutical in water. **Water Research**. v. 34, p. 1881-1885, 2000.

# 5

# ECOTOXICIDADE

## 5.1 INTRODUÇÃO

Compostos com atividades farmacológicas são moléculas complexas com diferentes funcionalidades biológicas e aspectos físico-químicos que, quando submetidas a um processo de tratamento, como por exemplo um processo oxidativo avançado, podem não ser completamente mineralizadas e sofrerem degradações parciais. Os produtos de degradação formados podem apresentar diferenças em termos de ecotoxicidade, estabilidade e potencial de bioacumulação, quando comparados aos compostos iniciais (LUO et al., 2014; KÜMMERER, 2008).

Como a mineralização está diretamente relacionada às condições aplicadas e ao tempo de tratamento, muitas vezes ela não é alcançada. Nesse caso, as substâncias orgânicas presentes ainda podem apresentar ecotoxicidade. De fato, elas podem até ser mais ecotóxicas do que o poluente original (LUO et al., 2014).

Embora a utilização de processos oxidativos para a degradação de fármacos tenha aumentado, ainda pouco se sabe sobre os impactos ecotoxicológicos que podem ser gerados pelo descarte dos efluentes gerados no meio ambiente (CHENG et al., 2016; MACHADO et al., 2013; GRIEGER et al., 2010).

Portanto, a avaliação da ecotoxicidade dos efluentes gerados é muito importante, já que os ensaios de ecotoxicidade possibilitam estimar a extensão dos possíveis efeitos adversos causados à biota (OLIVEIRA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; MINGUEZ et al., 2014; RONCO et al., 2004).

Como as interações entre as substâncias podem alterar as atividades biológicas de cada uma delas, não é possível se estimar os efeitos causados à biota por um determinado efluente somente com a identificação e quantificação das substâncias presentes. Ou seja, tratando-

se de uma possível ecotoxicidade, não se pode afirmar que uma única substância presente em um determinado efluente é responsável por seu efeito ecotóxico. Assim, pode-se dizer que os testes de ecotoxicidade são complementares às análises químicas capazes de identificar e quantificar as substâncias presentes em uma amostra (RONCO et al., 2004; APHA, 2017; WHO 2004).

Os ensaios de ecotoxicidade possibilitam conhecer os efeitos causados nos organimos avaliados através da exposição dos mesmos a diversas concentrações de uma determinada substância ou efluente. São avaliados efeitos fisiológicos, mutagênicos, teratogênicos, distúrbios comportamentais e letais (OLIVEIRA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; MINGUEZ et al., 2014; RONCO et al., 2004).

Entende-se por fitotoxicidade a ação ecotóxica ou reação adversa provocada nas plantas. A utilização de organismos superiores como as sementes de *Lactuca sativa* tem se mostrado eficiente na avaliação da ecotoxicidade de efluentes, sendo um dos principais organismos-teste empregados na estimativa da fitotoxicidade, no qual são avaliados parâmetros macroscópicos como comprimento das raízes, taxa de germinação etc. (EPA, 1996; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; CZERNIAWSKA-KUSZA; KUSZA, 2011). Além da fácil manipulação, destacam-se positivamente o baixo custo e a rapidez na realização dos testes (ANDRADE; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, 2010).

## 5.2 OBJETIVOS

Avaliar a fitotoxicidade da mistura inicial (antes do tratamento) e tratada (após o tratamento) usando-se como organismos-teste sementes de *Latuca sativa*.

## 5.3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.3.1 Reagentes

Ácido salicilico (ASA, CAS 50-08-2), paracetamol (PAR, CAS 103-0-2), diclofenaco de sódio (DCF, CAS 15307-79-6), cetoprofeno (KETO, CAS 22071-15-4), e cafeína (CAF, CAS 58-08-2) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (pureza $\geq$ 99%). As soluções-estoque com a mistura dos fármacos (concentração nominal de 100 mg $L^{-1}$) foram preparadas dissolvendo-se uma quantidade, em massa, de cada composto em água ultra-pura. Quando necessário, as amostras foram armazenas resfriadas durante o prazo máximo de 15 dias.

### 5.3.2 Ensaios de Fitotoxicidade

Foram realizados testes de fitotoxicidade em quadruplicata nas soluções iniciais e tratadas via FFF após 25 min de reação utilizando-se sementes de alface (*Lactuca sativa*) como organismo-teste. As sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,1% por 20 minutos para a esterilização das mesmas. Em seguida, foram lavadas com 200 mL de água mineral, sob agitação, por 10 min. Este procedimento foi repetido 3 vezes.

Além das soluções inicial e tratada (FFF), foram preparadas quatro diluições de cada solução (70, 50, 30 e 10% em volume) e água mineral foi utilizada como controle. Para cada solução, 2 mL foram vertidos em um disco de papel filtro que cobria o fundo de uma placa de Petri de 10 cm. Dez sementes foram colocadas em cada placa. As placas foram então fechadas e incubadas no escuro, por 120 h a 24 ± 1ºC.

As sementes germinadas foram contadas ($G$) e os comprimenos dos respectivos hipocótilos ($L$) foram medidos (o hipocótilo é o caule de uma planta em germinação, encontrado abaixo dos cotilédones e acima da radícula) (EPA, 1996; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; CZERNIAWSKA-KUSZA; KUSZA, 2011, EPA, 2002). Os possíveis *outliers* foram removidos usando-se o princípio de Chauvenet (BRANET, 1983) e o índice de germinação ($GI$) foi calculado (Equação 25), onde $G_s$ é o número de sementes germinadas de

uma amostra e $L_s$ é o comprimento do hipocótilo desta amostra; $G_c$ e $L_c$ são os parâmetros correspondentes do controle (ORTEGA et al., 1996; ROSSI; BELTRAMI, 1998).

$$GI(\%) = \frac{G_s \times L_s}{G_c \times L_c} \times 100 \qquad (25)$$

Por fim, com o auxílio do método de Spearman-Karber ajustado, o *GI* foi calculado e estimou-se a concentração da amostra responsável pelo efeito em 50% dos organismos-teste ($CE_{50}$), referente à diluição em que o *GI* é reduzido em 50% (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

## 5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi avaliada a fitotoxicidade expondo-se sementes de *Lactuca sativa* ao efluente do tratamento realizado (foto-Fenton mediado pelo ferrioxalato). Após 25 min de tratamento, avaliou-se a fitoxicidade e os resultados obtidos indicaram que o efluente não apresentava ecotoxicidade. Esses resultados são similares aos obtidos para o controle e a solução inicial contendo a mistura dos fármacos. Esses resultados indicam que apesar de ter ocorrido a formação de produtos de degradação, nesse tempo de reação eles não apresentaram ecotoxicidade ao organismo- teste.

Resultados similares foram relatados por Napoleão et al. (2018). Eles utilizaram o processo foto-Fenton (UV) no estudo da degradação de misturas contendo ácido acetil salicíco, diclofenaco, dipirona e paracetamol (concentrações individuais ente 0,65 mg $L^{-1}$ e 4,04 mg $L^{-1}$). Após 150 min de reação (66,5% de mineralização), as substâncias formadas não apresentaram fitotoxicidade referente a germinação da *Lactuca sativa*.

Pino et al. (2016) apresentaram resultados relativos à utilização da *Lactuca sativa* como organismo-teste para a avaliação da fitotoxicidade de anti-inflamatórios não esterioidais (AINEs). Os pesquisadores realizaram testes de ecotoxicidade aguda (120 h) com sementes de *Lactuca sativa* e avaliaram os efeitos inibitórios na germinação e no alongamento da radícula e do hipocótilo das sementes. Os resultados obtidos mostraram que, apesar de detectados efeitos como a necrose das raízes e a inibição do crescimento destas, efeitos de inibição da germinação

das sementes não foram significativos, mesmo em concentrações de até 3.000 mg $L^{-1}$. O ácido salicílico, o mais ecotóxico do estudo, foi uma exceção, tendo inibido 45% de germinação a 1.500 mg $L^{-1}$. Além disso, os valores de $EC_{50}$ obtidos (188 a 4.558 mg $L^{-1}$) para o hipocótilo mostraram-se muito elevados para a utilização da *Lactuca sativa* como organismo-teste para amostras ambientais contaminadas com AINEs.

Schmidt e Redshaw (2015), realizaram estudos de fitoxicidade com diferentes AINEs em diferentes organismos-teste (*Raphanus sativus* e *Lactuca sativa*) e os resultados apontaram que, de maneira geral, os efeitos fitotoxicológicos ocasionados em plantas superiores dependem diretamente do composto e da espécie vegetal.

Assim como em Pino et al. (2016), nas condições testadas (concentração individual dos fármacos: 1 mg $L^{-1}$), não foi observado efeito ecotóxico na germinação das sementes de *Lactuca sativa*. Entretanto, a exposição aos AINEs afetou os sistemas vegetais e, diferentemente dos resultados observados no presente trabalho, prejudicou o desenvolvimento radicular.

Schmitt-Jansen et al. (2007) expuseram uma solução de diclofenaco (50 mg $L^{-1}$) à luz solar durante 53 h. Os resultados dos testes de fitotoxicidade (*Scenedesmus vacuolatus)* monstraram que houve um aumento da ecotoxicidade ao final da exposição, indicando que pode ocorrer um incremento de ecotoxicidade devido aos subprodutos da degradação do diclofenaco (e possivelmente de outras substâncias) quando presente no meio ambiente e exposto a luz solar.

## 5.5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos para o índice de germinação (que relaciona efeitos no alongamento hipocotílico e inibitórios da germinação de sementes do organismo-teste) não indicaram aumento da ecotoxidade após a realização da degradação.

# REFERÊNCIAS


**AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA).** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23 ed. WASHINGTON: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 2017. 1009p.**

ANDRADE, L. F.; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, L. S. The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of Lactuca sativa. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.73, p.626-31, 2010.

BARNETT, V. Principles and methods for handling outliers in data sets. In: **Statistical Methods and the Improvement of Data Quality**. Academic Press, 1983. p. 131-166.

CHENG, M.; ZENG, G.; HUANG, D.; LAI, C.; XU, P.; ZHANG, C.; LIU, Y. Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils contaminated with organic compounds: a review. **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p. 582 – 598, 2016.

CZERNIAWSKA-KUSZA, I.; KUSZA, G. The potential of the phytotoxkit microbiotest for hazard evaluation of sediments in eutrophic freshwater ecosystems. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.179, p.113-121, 2011.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Ecological Effects Test Guidelines: seed germination/root elongation toxicity test**. Washington, 1996. Disponível em: < https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/P100RF5I.PDF?Dockey=P100RF5I.PDF> Acesso em: 02 nov. 2019.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. Washington, 2002. Disponível em: <https://www.wbdg.org/ffc/epa/criteria/epa-821-r-02-012> Acesso em: 02 nov. 2019.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidizated cells of Allium cepa exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.88, p.252-259, 2007.

GRIEGER, K. D.; FJORDBØGE, A.; HARTMANN, N. B.; ERIKSSON, E.; BJERG, P. L.; BAUN, A. Environmental benefits and risks of zero-valent iron nanoparticles (nZVI) for in situ remediation: risk mitigation or trade-off?. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 118, n. 3-4, p. 165-183, 2010.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, v. 11, n. 7, p. 714-719, 1977.

KÜMMERER, K. **Pharmaceuticals in the environment:** sources, fate, effects and risks. Springer Science & Business Media, 2008. 521 p.

LUO, Y.; GUO, W.; NGO, H. H.; NGHIEM, L. D.; HAI, F. I.; ZHANG, J.; LIANG, S.; WANG, X.C. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 473, p. 619-641, 2014.

MACHADO, S.; STAWIŃSKI, W.; SLONINA, P.; PINTO, A. R.; GROSSO, J. P.; NOUWS, H. P. A.; ALBERGARIA, J. T.; MATOS, C. D. et al. Application of green zero-valent iron nanoparticles to the remediation of soils contaminated with ibuprofen. **Science of the Total Environment**, v. 461, p. 323-329, 2013.

MINGUEZ, L.; FARCY, E.; BALLANDONNE, C.; LEPAILLEUR, A.; SERPENTINI, A.; LEBEL, J.; BUREAU, R.; HALM-LEMEILLE, M. Acute toxicity of 8 antidepressants: what are their modes of action? **Chemosphere**, v. 108, p. 314-319, 2014.

NAPOLEÃO, D. C.; ZAIDAN, L. E. M. C.; RODRÍGUEZ-DÍAZ, J. M.; SANTANA, R. M. R.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; BENACHOUR, A. N. A. M.; SILVA, V. L. Use of the photo-Fenton process to discover the degradation of drugs present in water from the Wastewater Treatment Plants of the pharmaceutical industry. **Afinidad**, v. 75, n. 581, 2018.

OLIVEIRA, L. L. D.; ANTUNES, S. C.; GONÇALVES, F.; ROCHA, O.; NUNES, B. Acute and chronic ecotoxicological effects of four pharmaceuticals drugs on cladoceran Daphnia magna. **Drug and chemical toxicology**, v. 39, n. 1, p. 13-21, 2016.

OLIVEIRA, L. L. D.; ANTUNES, S. C.; GONÇALVES, F.; ROCHA, O.; NUNES, B. Evaluation of ecotoxicological effects of drugs on Daphnia magna using different enzymatic biomarkers. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 119, p. 123-131, 2015.

ORTEGA, M. C.; MORENO, M. T.; ORDOVAS, J.; AGUADO, M. T. Behavior of different horticultural species in phytotoxicity bioassays of bark substrates. **Scientia Horticulturae**, v. 66, n. 1-2, p. 125-132, 1996.

PINO, M. R.; MUNIZ, S.; VAL, J. NAVARRO, E. Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of Lactuca sativa and photosynthesis of Chlamydomonas reinhardtii. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 22, p. 22530-22541, 2016.

RONCO, A.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P. **Em Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas:** Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones Ottawa: IMTA - IDRC, 2004, 202 p.

ROSSI, D.; BELTRAMI, M. Sediment ecological risk assessment: In situ and laboratory toxicity testing of Lake Orta sediments. **Chemosphere**, v. 37, n. 14-15, p. 2885-2894, 1998.

SCHMIDT, W.; REDSHAW, C.H. Evaluation of biological endpoints in crop plants after exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Implications for phytotoxicological assessment of novel contaminants. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 112, p. 212-222, 2015.

SCHMITT-JANSEN, M.; BARTELS, P.; ADLER, N.; ALTENBURGER, R. Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1389-1396, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for drinking-water quality**. Genebra, 2004. Disponível em: < https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWQ2004web.pdf> Acesso em: 02 nov. 2019.

# 6

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um metodo analítico para a quantificação de ácido salicílico, cafeína, diclofenaco, cetoprofeno e pararcetamol em águas superficiais foi desenvolvido e validado de acordo com os parâmetros técnicos estabelecidos pela ANVISA. Os limites de quantificação obtidos, na faixa de 36 a 200 ng $L^{-1}$, compreendem os valores de concentrações encontrados nas águas superficiais de várias localidades do mundo, segundo a literatura. Tratando-se de contaminantes emergentes, a falta de uma legislação que estabeleça concentrações limites nas águas de distribuição do abastecimento público e um método padrão de análise, é um fator importante que deve ser considerado. Assim, optou-se por desenvolver e validar um método multirresíduos pela possibilidade de determinação simultânea dos cinco fármacos estudados de maneira simples e rápida.

Na etapa de monitoramento, foram realizadas amostragens mensais das águas bruta e tratada (destinada ao abastecimento público) na estação de tratamento de água (ETA-Vila Pureza) de São Carlos/SP, pelo período de 12 meses. Os resultados obtidos mostraram que as concentrações dos fármacos estudados estiveram abaixo dos limites de detecção do método (36 a 60 ng $L^{-1}$) durante o período de estudo.

Como o processo foto-Fenton depende de diversas variáveis, como a concentração de peróxido de hidrogênio e de Fe(III) e a intensidade luminosa, a utilização do planejamento experimental e da MSR foi de fundamental importância para a otimização da degradação. O emprego de LEDs-UV no processo foto-Fenton é relativamente novo e apenas nos últimos anos começaram a ser utilizadas como alternativa às lâmpadas de mercúrio e à radiação solar. Os LEDs apresentam vantagens sobre as lâmpadas convencionais, tais como menor consumo de energia, maior vida útil e a possibilidade de compactação do sistema operacional.

Os resultados obtidos mostram que no ponto ótimo pequenas quantidades de energia luminosa são suficientes para conduzir o processo ( $C_{H_2O_2}$= 47,6 mg $L^{-1}$; $C_{Fe^{3+}}$= 15,0 mg $L^{-1}$; 1,768 W), e que a cinética de degradação seguiu um modelo de pseudo-primeira ordem para todos os compostos farmacêuticos estudados e promoveu, após 25 min de reação, 30% de mineralização, reduzindo as concentrações de todos os fármacos abaixo do limite de detecção do método.

Portanto, pode-se dizer que o uso de LEDs foi uma escolha adequada para se economizar recursos e que os resultados obtidos mostraram a viabilidade da degradação do diclofenaco, paracetamol, ácido salicílico, cetoprofeno e cafeína pelo processo foto-Fenton. A utilização do complexo ferrioxalato permitiu a degradação simultânea dos compostos-alvo em condições de pH próximas à neutralidade, permimtindo que o descarte ocorra sem a necessidade de ajustes de pH. Além disso, os resultados obtidos para o índice de germinação (que relaciona efeitos no alongamento do hipocótilo e inibitórios da germinação de sementes do organismo-teste) não indicaram aumento da ecotoxidade após a realização da degradação.