Universidade de São Paulo

Instituto de Química de São Carlos

Leydy Katherine Ardila Pinto

Estudo da Degradação do Diclofenaco em Meio Aquoso: Fotólise vs. Fotocatálise
Heterogênea (TiO_2 /UV).

São Carlos – SP

2013

Leydy Katherine Ardila Pinto

Estudo da Degradação do Diclofenaco em Meio Aquoso: Fotólise vs. Fotocatálise
Heterogênea (TiO₂/UV).

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de mestre em ciências

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

São Carlos – SP

2013

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter-me dado esta oportunidade, pela fortaleza e coragem para afrontar esta etapa da minha vida e por ter colocado em meu caminho pessoas que me apoiaram e ajudaram durante este processo.

Aos meus pais Gerardo e Elizabeth e a minha irmã Mônica, pelo amor, confiança, apoio e estímulo que me brindaram apesar da distância e que me permitiu seguir em frente.

Ao Jeffer que me deu seu amor, confiança, amizade e apoio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo, pela oportunidade, paciência, compreensão, dedicação e incentivo.

A Profa. Dra. Eny Maria Vieira.

A Saidy, Hernan e Leonardo pela ajuda, companhia, apoio e amizade.

Aos meus amigos de laboratório Ana, Rodrigo, Ulisses, Ricardo, Mônica, Thiago e Natalia, que sempre estiveram prontos para me ajudar e que me ofereceram sua amizade e apoio.

RESUMO

PINTO, L. K. P. **Estudo da Degradação do Diclofenaco em Meio Aquoso: Fotólise vs. Fotocatálise Heterogênea (TiO₂/UV)**. 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

Os produtos farmacêuticos têm sido considerados como um problema ambiental devido à sua entrada contínua e persistência no ecossistema aquático, mesmo em baixas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}). Muitos fármacos têm sido frequentemente determinados em Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), águas superficiais, subterrâneas e de abastecimento, devido à baixa eficiência dos sistemas convencionais de tratamento na eliminação destes compostos. O diclofenaco (DCF), é um Anti-Inflamatório Não Esteróide (AINE) comumente utilizado como analgésico, antiartrítico e antirreumático. Possui uma baixa biodegradabilidade e tem a capacidade de bioacumulação nos tecidos de seres vivos, podendo apresentar efeitos ecotóxicos. Como o DCF pode não ser eficientemente removido pelos tratamentos convencionais de água e esgoto, novos processos têm sido pesquisados para a sua remoção, entre eles os processos oxidativos avançados (POAs). O objetivo deste trabalho foi tratar o DCF sódico aquoso por fotocátálise heterogênea (TiO₂/UV). Para isso foi realizado um planejamento fatorial 2^5 com a finalidade de se determinar os efeitos dos parâmetros reacionais — dosagem e tipo de fotocatalisador, concentração inicial do fármaco, tipo de acceptor de elétrons e pH — sobre o desempenho do tratamento. A variável-resposta observada foi a redução da área sob o espectro de absorção no UV. A condição ótima de tratamento foi: pH = 5; dosagem de TiO₂ = $0,5 \text{ g L}^{-1}$; concentração inicial de DCF = 20 mg L^{-1} ; acceptor de elétrons = oxigênio; e tipo de catalisador = P25 (Evonik). No estudo da cinética, a degradação do fármaco foi acompanhada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Para a amostra tratada por fotocátálise heterogênea, a concentração de DCF foi reduzida a aproximadamente $40 \mu\text{g L}^{-1}$ em 30 min de irradiação e a degradação seguiu o modelo cinético de Langmuir-Hinshelwood ($R^2 = 0,95$) com constante de velocidade $k = (2,3 \pm 0,070) \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ e uma constante de adsorção $K = (2,1 \pm 0,17) \times 10^{-4} \text{ L } \mu\text{g}^{-1}$. No ensaio de fotólise a concentração foi reduzida a aproximadamente $70 \mu\text{g L}^{-1}$ em 12,5 min de tratamento e observou-se uma cinética de ordem zero ($R^2 = 0,96$) com $k = (2,7 \pm 0,070) \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Foram identificados alguns intermediários de oxidação por cromatografia líquida acoplada a espectroscopia de massas (LC/MS-MS) e foram realizados ensaios ecotoxicológicos (*Daphnia similis* e *Lactuca sativa*) das amostras tratadas. Nenhum dos tratamentos (fotocatálise e fotólise) estudados gerou ecotoxicidade nos organismos-teste. Indica-se a fotólise, nas condições deste trabalho, como mais eficiente para a degradação do diclofenaco.

Palavras-chave: POA; Fotocatálise; Fotólise; Diclofenaco; Intermediário; Ecotoxicidade

ABSTRACT

PINTO, L. K. P. **Study on the Degradation of Aqueous Diclofenac: Photolysis vs. Heterogeneous Photocatalysis (TiO₂/UV)**. 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

Pharmaceuticals are considered an environmental problem due to their continuous input and persistence in aquatic ecosystems, even at low concentrations ($\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}). Many drugs are often detected in Sewage Treatment Plants (STPs), surface water, groundwater and drinking water due to the low efficiency of conventional treatment systems in removing those compounds. Diclofenac (DCF) is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) commonly used as an analgesic, antiarthritic and antirheumatic. It has low biodegradability and can bioaccumulate in the tissues of organisms, and may have ecotoxicological effects. Since DCF cannot be efficiently removed by conventional water and sewage treatments, new processes have been studied for its removal, including the advanced oxidation processes (AOPs). The aim of this study was to treat aqueous diclofenac by heterogeneous photocatalysis (TiO₂/UV). For this purpose, a factorial design 2^5 was performed in order to determine the effects of the reaction parameters — dosage and type of photocatalyst, initial concentration of the drug, type of electron acceptor and pH — on the treatment performance. The response variable observed was the reduction in the area under the UV absorption spectrum. The optimal treatment condition was: pH = 5; TiO₂ dosage = $0,5 \text{ g L}^{-1}$; DCF initial concentration = 20 mg L^{-1} ; electron acceptor = oxygen; and type of catalyst = P25 (Evonik). In the kinetic study, the drug degradation was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). For the sample treated by heterogeneous photocatalysis, DCF initial concentration was reduced to approximately $40 \mu\text{g L}^{-1}$ in 30 min of irradiation, and the degradation followed the Langmuir-Hinshelwood kinetic model ($R^2 = 0,95$) with rate constant $k = (2,3 \pm 0,070) \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ and adsorption constant $K = (2,1 \pm 0,17) \times 10^{-4} \text{ L } \mu\text{g}^{-1}$. During photolysis, DCF initial concentration was reduced to approximately $70 \mu\text{g L}^{-1}$ in 12,5 min of treatment and followed a zero-order kinetics ($R^2 = 0,96$) with $k = (2,7 \pm 0,070) \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Some oxidation intermediates were identified by liquid chromatography coupled to mass spectroscopy (LC/MS-MS) and ecotoxicological tests performed (*Daphnia similis* and *Lactuca sativa*) for the treated samples. None of the studied treatments (photocatalysis and photolysis) produced ecotoxicity to the test-organisms. Photolysis is preferable, within the present studied conditions, to degrade aqueous diclofenac.

Keywords: AOP; Photocatalysis; Photolysis; Diclofenac; Intermediate; Ecotoxicity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente	16
Figura 2 – Estrutura molecular do DCF sódico.	19
Figura 3 – Esquema da fotoativação de uma partícula semicondutora.	23
Figura 4 – Isoterma de adsorção de Langmuir.....	30
Figura 5 – Fotografia da Daphnia similis.	35
Figura 6 – Morfologia da semente e da plântula de alface (Lactuca sativa).	36
Figura 7 – Rota proposta de degradação do DCF via UV/H ₂ O ₂ e ozonização.....	41
Figura 8 – Rota proposta de degradação do DCF pelo processo foto-Fenton.....	41
Figura 9 – Rota proposta de fototransformação para o DCF sob luz solar.....	42
Figura 10 – Rota proposta de degradação do DCF por fotocatalise.	42
Figura 11 – Rota proposta de degradação do DCF por decomposição catalítica do H ₂ O ₂	43
Figura 12 – Alguns produtos de degradação do DCF via fotólise.....	43
Figura 13 – Rota proposta de degradação do DCF por sonólise.	44
Figura 14 – Rota proposta de degradação do DCF via ozonização.	45
Figura 15 – Unidade reacional utilizada.....	50
Figura 16 – Espectro de emissão da lâmpada utilizada.	51
Figura 17 – Espectro de absorção do DCF em água (20 mg L ⁻¹) na região do UV (200 – 400 nm).....	58
Figura 18 – Espectro de absorção da amostra inicial de DCF e da amostra após o tratamento fotocatalítico de 200 a 350 nm (Ensaio número 3).....	60
Figura 18 –Cromatograma do DCF (20 mg L ⁻¹) com t _R de 7,5 min.....	62
Figura 19 – Curva analítica de 50 a 10.000 µg DCF L ⁻¹	62
Figura 20 – Cinética de degradação do DCF via fotocatalise heterogênea.	63
Figura 21 – Cromatogramas do DCF para diferentes tempos de irradiação por fotocatalise: (a) DCF e (b) intermediários formados.	64
Figura 22 – Degradação do DCF via fotólise.	65
Figura 23 – Sobreposição do espectro de emissão da lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão ao espectro de absorção do DCF aquoso (200-400 nm).	

Figura 24 – Cromatogramas do DCF para diferentes tempos de fotólise: (a) DCF e (b) intermediários formados.	66
Figura 25 – Análise cromatográfica da água empregada no preparo das soluções de DCF (branco): (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).....	69
Figura 26 – Análise cromatográfica da solução inicial de DCF: (a) TIC (cromatograma de íons totais), (b) espectro de massas da banda em 9,6 minutos e (c) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).....	70
Figura 27 – Espectro de íons fragmentos do DCF (m/z 294).	70
Figura 28 – Mecanismo de fragmentação proposto para o DCF.	71
Figura 29 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 2,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais); (b) XIC (cromatograma de íon extraído) de m/z 310; (c) espectro de massas da banda em 3,85 min; e (d) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).	72
Figura 30 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 2,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) espectro de fragmentação da molécula de m/z 310.	73
Figura 31 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 310.	73
Figura 32 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).	74
Figura 33 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) XIC (cromatograma de íon extraído) de m/z 258 e (b) espectro de massas do composto de m/z 258.	75
Figura 34 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) espectro de fragmentação da molécula de m/z 258; (c) TIC e (d) espectro de fragmentação da molécula de m/z 326.	75
Figura 35 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 326.	76
Figura 36 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 7,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) espectro de fragmentação do composto de m/z 276.	77
Figura 37 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 276.	77
Figura 38 – Variação da área dos picos cromatográficos referentes às substâncias de massas moleculares 295, 311, 277 e 327 Da, em função do tempo de irradiação.	78
Figura 39 – Mecanismo (inicial) proposto de degradação do DCF via fotocatalise heterogênea.	79
Figura 40 – Análise cromatográfica da água empregada no preparo das soluções de DCF (branco): (a) TIC (cromatograma de íons totais), (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).....	81

Figura 41 – Análise cromatográfica da solução inicial de DCF: (a) TIC (cromatograma de íons totais); (b) espectro de massas da banda em 7,21 min; e (c) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).....	82
Figura 42 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 2,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais); (b) espectro de massas da banda em 5,63 min; (c) espectro de massas da banda em 7,24 min; e (d) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).	83
Figura 43 – Espectro da fragmentação da banda de m/z 258.	83
Figura 44 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 258.....	84
Figura 45 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm). 85	
Figura 46 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) XIC (cromatograma de íon extraído) do composto de m/z 240; (b) espectro de massas do composto de m/z 240; (c) XIC do composto de m/z 160; (d) espectro de massas do composto de m/z 160; (e) XIC do composto de m/z 254; e (f) espectro de massas do composto de m/z 254.....	86
Figura 47 – Espectro de fragmentação dos compostos de m/z: (a) 160, (b) 254 e (c) 240.	87
Figura 48 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 254.....	88
Figura 49 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 240.....	89
Figura 50 – Variação da área dos picos cromatográficos referentes às substâncias de massas moleculares 295, 259, 241, 255 e 161 Da em função do tempo de irradiação.	90
Figura 51 – Mecanismo (inicial) de degradação do DCF proposto via fotólise.	91
Figura 52 – Mortalidade (%) do organismos-teste (D. similis) em função da concentração de DCF.	94
Figura 53 – Mortalidade (%) do organismos-teste (D. similis) em função da amostra estudada.	95
Figura 54 – Índice de germinação (%) nas diferentes amostras testadas.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistemas típicos de processos oxidativos avançados.....	21
Tabela 2 – Trabalhos prévios no estudo dos intermediários de degradação do DCF via diferentes processos.	40
Tabela 3 – Fatores e níveis para o planejamento fatorial 2 ⁵	48
Tabela 4 – Matriz do planejamento experimental realizado.	49
Tabela 5 – Condições cromatográficas adotadas para a análise do DCF.	52
Tabela 6 – Condições utilizadas no espectrofotômetro de massas por <i>electrospray</i>	54
Tabela 7 – Matriz e resultados do planejamento fatorial 2 ⁵ realizado para o processo de fotocatalise heterogênea (TiO ₂).	59
Tabela 8 – Fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança.....	60
Tabela 9 – Intermediários identificados na degradação do DCF via fotocatalise heterogênea.	79
Tabela 10 – Estrutura química dos intermediários identificados e respectivas referências bibliográficas.	80
Tabela 11 – Intermediários de degradação do DCF identificados via fotólise.....	90
Tabela 12 – Estrutura química dos intermediários identificados e respectivas referências bibliográficas.	92

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AINEs	Anti-Inflamatórios Não Esteróides
CE ₅₀	Concentração de Efeito a 50% dos organismos-teste (%)
CENO	Concentração de Efeito não Observado
CL ₅₀	Concentração Letal a 50% dos organismos-teste (%)
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COD	Carbono Orgânico Dissolvido (mg L ⁻¹)
COT	Carbono Orgânico Total (mg L ⁻¹)
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DCF	Diclofenaco
DQO	Demanda Química de Oxigênio (mg L ⁻¹)
EPH	Eletrodo Padrão de Hidrogênio
ESI	Electrospray ionization
ETEs	Estações de Tratamento de Esgotos
GC	Cromatografia Gasosa
GC/EI-MS	Cromatografia Gasosa com Espectroscopia de Massas com Impacto Eletrônico
GC/MS	Cromatografia Gasosa com espectroscopia de Massas
GC/PCI-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas com ionização química positiva
HOMO	Orbital Molecular Ocupado Mais Alto

IBP	Ibuprofeno
IG	Índice de Germinação (%)
LC	Cromatografia Líquida
LC/ESI-TOF-MS	Cromatografia líquida acoplada a espectroscopia de massas com analisador de tempo de voo e ionização por electrospray
LC/MS	Cromatografia Líquida com espectroscopia de Massas
LC/MS/MS	Cromatografia Líquida com Espectroscopia de Massas acoplada à Espetroscopia de Massas
LC/TOF-MS	Cromatografia Líquida com Espectroscopia de Massas com Analisador de Tempo de Voo.
LC-IT-MS	Cromatografia líquida com Espectroscopia de Massas com <i>Ion-Trap</i>
MS	Espectrometria de Massas
NPX	Naproxeno
POA	Processos Oxidativos Avançados
TIC	Cromatograma de Íons Totais
UV	Ultravioleta
XIC	Cromatograma de Íon Extraído

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Fármacos no meio ambiente.....	15
2.1.1 Diclofenaco sódico	19
2.2 Processos Oxidativos Avançados (POAs)	20
2.2.1. Fotocatálise Heterogênea	22
2.2.1.1 Fotocatalisadores.....	22
2.2.1.2 Mecanismo de formação de radicais ·OH	24
2.2.1.3 Variáveis que podem afetar o processo fotocatalítico	26
2.2.1.3.1 Concentração do contaminante orgânico.....	26
2.2.1.3.2 Tipo de aceptor de elétrons.....	27
2.2.1.3.3 pH.....	27
2.2.1.3.4 Dosagem do catalisador.....	28
2.2.1.4 Modelo cinético de Langmuir–Hinshelwood (L–H).....	28
2.3 Ensaios ecotoxicológicos	32
2.3.1 Ensaio com Daphnia similis	34
2.3.2 Ensaio com sementes de alface (Lactuca sativa)	35
2.4 Trabalhos prévios sobre a degradação do diclofenaco em amostras de água.....	37
3. OBJETIVOS	46
3.1 Geral.....	46
3.2 Específicos	46
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
4.1 Experimentos	47
4.2 Planejamento Experimental	47
4.3 Unidade Reacional	50
4.4 Procedimento experimental.....	50
4.5 Verificação da eficiência do tratamento	51
4.5.1 Degradação do DCF	51
4.5.2 Determinação das constantes cinéticas.....	52
4.5.3 Mineralização	53
4.5.4 Identificação de intermediários de degradação por LC-MS/MS.....	53
4.5.5 Ensaio de ecotoxicidade aguda com Daphnia similis	55
4.5.6 Ensaio de ecotoxicidade aguda com Lactuca sativa.....	56
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 Determinação do ponto ótimo de tratamento	58
5.2 Cinética de degradação	61
5.3 Mineralização	67
5.4 Identificação de intermediários de degradação por LC-MS/MS.....	68
5.4.1 Amostras degradadas fotocataliticamente	68
5.4.2 Amostras degradadas fotoliticamente	81
5.5 Ensaios ecotoxicológicos	93
5.5.1 Ensaio de ecotoxicidade aguda com Daphnia similis	93
5.5.2 Ensaio de ecotoxicidade aguda com sementes de alface (Lactuca sativa)	
.....	95

6. CONCLUSÕES	97
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	98

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma crescente preocupação com a presença de fármacos nos ambientes aquáticos e seus possíveis impactos ambientais negativos. Em razão do baixo desempenho dos sistemas convencionais de tratamento de esgoto na remoção deste tipo de poluentes, existe a necessidade de desenvolver processos de tratamento adequados; neste cenário, os Processos Oxidativos Avançados desempenham um papel muito importante.

A fotocatalise heterogênea (TiO_2/UV) possui uma boa capacidade de degradação de poluentes ambientais e tem sido usada em recentes pesquisas sobre o tratamento do DCF em diferentes matrizes aquosas. Entretanto é imperativo fazer um estudo mais extenso da transformação fotocatalítica do DCF e estudar os efeitos de diferentes fatores que podem afetar a decomposição desde fármaco. Por outro lado, o planejamento de experimentos tem sido utilizado em poucos estudos relacionados com este tema. Esta metodologia permite encontrar, com um número mínimo de experimentos, as condições experimentais ótimas para a degradação deste poluente.

Adicionalmente, o estudo dos subprodutos que podem ser formados no tratamento fotocatalítico de amostras de água é de grande importância, pois os produtos formados na degradação podem ser mais tóxicos que o poluente inicial e afetar a fauna e a flora do corpo d'água que iria receber o efluente. Desse modo, o impacto ambiental dos intermediários formados pode ser estimado em testes de ecotoxicidade e determinar-se se foi atingida uma boa eficiência no processo de tratamento, em termos não só da eliminação do poluente, mas também da geração de um efluente que não apresente risco para os organismos aquáticos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fármacos no meio ambiente

Os fármacos são uma classe de contaminantes ambientais emergentes. Devido ao seu amplo uso, são continuamente liberados no ambiente e consequentemente detectados em efluentes líquidos, águas superficiais e mesmo em água potável (TERNES, 1998; CARBALLA et al., 2004; MOMPELAT; LE BOT; THOMAS, 2009). A preocupação ambiental existente está relacionada a algumas propriedades intrínsecas dos fármacos como lipofilicidade e, frequentemente, baixa biodegradabilidade. Essas propriedades conferem um grande potencial para a bioacumulação e persistência dessa classe de compostos no meio ambiente (CHRISTENSEN, 1998). Estas características entre outras fazem que os resíduos de produtos farmacêuticos sejam avaliados por efeitos potenciais sobre a saúde humana, a flora e fauna aquáticas (FENT; WESTON; CAMINADA, 2006).

Um grande volume desses produtos é utilizado para prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças em humanos, como analgésicos e anti-inflamatórios, contraceptivos, antibióticos, anticonvulsivantes, reguladores lipídicos, antidepressivos e muitos outros. Um grande número de fármacos são também utilizados em medicina veterinária, entre os quais estão os antibióticos e anti-inflamatórios (FENT; WESTON; CAMINADA, 2006).

Os resíduos farmacêuticos são transportados para os sistemas aquáticos por diferentes vias:

- a) A principal via é a excreção humana de medicamentos e metabólitos solúveis em água (HALLING-SORENSEN et al., 1998).
- b) Os produtos farmacêuticos também podem entrar no ambiente devido ao descarte doméstico de medicamentos não utilizados e fora da validade no lixo doméstico, na pia ou no vaso sanitário (BOUND; VOULVOULIS, 2005).

c) Além disso, os resíduos de fármacos podem ser introduzidos em águas subterrâneas através da filtração de águas superficiais, vazamento ou recarga de aquíferos (DREWES; HEBERER; REDDERSEN, 2002).

d) Da mesma forma, efluentes líquidos hospitalares, industriais e lixiviados de aterros sanitários podem conter concentrações significativas de resíduos farmacêuticos (HOLM et al., 1995).

e) Quando lodos de estações de tratamento são aplicados a campos agrícolas, pode ocorrer a contaminação do solo e o escoamento para águas superficiais.

f) Produtos farmacêuticos veterinários podem entrar nos sistemas aquáticos devido à utilização de esterco como fertilizante, contaminando as águas subterrâneas. Outra via é o uso de fármacos como aditivos na alimentação de peixes (ZHANG; GEIßEN; GAL, 2008).

A Figura 1 apresenta um esquema de possíveis rotas para os fármacos, quando descartados no meio ambiente:

Figura 1 – Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente

Fonte: BILA, D. M; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

Diferentes estudos têm mostrado que alguns fármacos não são completamente removidos nas Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs), sendo frequentemente encontrados nos efluentes dessas estações em concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} (TERNES et al., 1999; HALLING-SORENSEN et al., 1998; TERNES, 1998; CARBALLA et al., 2004; PAXEUS, 2004). Estes estudos demonstram que os resíduos de fármacos são reduzidos, mas não são removidos completamente nos sistemas convencionais de tratamento, resultando na contaminação do ambiente aquático (água superficial e subterrânea), sedimentos e solos. Diversos mecanismos como sorção, biodegradação, volatilização e foto-oxidação, têm importância na remoção destes compostos nas ETEs, mas alguns trabalhos têm concluído que somente dois deles, a degradação microbiana e a sorção em sólidos suspensos, são realmente relevantes (POSEIDON Project (EVK1-CT- 2000-00047), 2005). A eficiência desses mecanismos de remoção depende em grande parte das propriedades físico-químicas e da estrutura química de cada substância.

Por outro lado, como muitos fármacos podem estar presentes na água potável, há uma rota direta para o corpo humano (WEBB et al., 2003). Algumas rotas indiretas incluem interação corporal (o banho em águas contendo efluente) ou ingestão (comer alimentos provenientes de culturas irrigadas com efluentes ou cultivadas em solo adubado com lodo de esgoto). Embora muitos países utilizem tratamentos avançados como carvão ativado granulado, filtração em membranas, ozonização e radiação para o tratamento da água destinada para consumo humano, determinados compostos não são removidos por esses processos. Várias pesquisas têm encontrado alguns fármacos usados na medicina humana em amostras de água potável geralmente em concentrações na faixa de ng L^{-1} (JONES; VOULVOULIS; LESTER, 2003; HEBERER; STAN, 1997; ASANO; COTRUVO, 2004). Medicamentos veterinários também podem estar presentes nas águas. Por exemplo, Zuccato et al. (2000) relataram a presença do antibiótico tilosina (usado na medicina veterinária) em água potável. Por esses motivos, existe uma preocupação pública com a exposição humana a estas substâncias; esse problema torna-se mais importante em áreas onde se realiza o reuso indireto (o esgoto é descartado em rios que, por sua vez, são usados como fonte de água potável para as comunidades que moram a jusante). Também existe o risco de que os seres humanos sejam expostos a fárma-

cos através da água potável obtida de fontes subterrâneas contaminadas pela percolação de águas superficiais também contaminadas (HEBERER et al., 1997).

A ocorrência de fármacos residuais no meio ambiente pode apresentar efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres. O efeito pode ser em qualquer nível da hierarquia biológica: células – órgãos – organismos – populações – ecossistema. De acordo com Jorgensen et al. (2000), alguns desses efeitos podem ser observados em concentrações na ordem de ng L^{-1} . Pouco é conhecido sobre o destino e o comportamento dessas substâncias no ambiente aquático, assim como não está claro quais organismos são afetados e em que grau.

Por um lado a presença de antibióticos no ambiente aquático é de grande preocupação porque alguns micro-organismos criam resistência a esses fármacos. As bactérias, por exemplo, podem fazer mudanças no seu material genético, adquirindo resistência aos fármacos. Assim, uma bactéria presente em um rio que contenha traços de antibióticos pode adquirir resistência a essas substâncias (BILA; DEZOTTI, 2003; SCHWARTZ et al., 2002; McKEON; CALABRESE; BISSONNETTE, 1995). Por sua vez, a importância da presença de estrogênios no meio aquático reside no seu potencial de afetar adversamente o sistema reprodutivo de organismos terrestres e aquáticos, resultando no desenvolvimento de anormalidades e deterioração reprodutiva como, por exemplo, a feminilização de peixes machos presentes em rios contaminados com efluentes de ETEs (SUMPTER, 1998).

Por outro lado, estão os Anti-Inflamatórios Não Esteróides (AINEs) que são um grupo especial de produtos farmacêuticos frequentemente encontrados como um resíduo tóxico persistente, pois formam uma classe de drogas amplamente disponível em todo o mundo. Alguns exemplos importantes deste grupo de medicamentos são o ibuprofeno (IBP), o naproxeno (NPX) e o diclofenaco (DCF). Frequentemente, os AINEs são prescritos para doenças esquelético-musculares e doenças reumáticas inflamatórias; no entanto, eles também apresentam efeitos analgésicos e antipiréticos (MÉNDEZ-ARRIAGA; ESPLUGAS; GIMÉNEZ, 2008). Esses compostos têm sido detectados em efluentes hospitalares (KUMMERER, 2001), de ETEs (CARBALLA et al., 2004), em águas superficiais (BOYD et al., 2003), em águas marinhas (WEIGEL et al., 2004), assim como em solos (SCHEYTT; MERSMANN; HEBERER, 2006). Embora as concentrações detectadas destes compostos rara-

mente excedam os níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$, a sua presença pode produzir efeitos nocivos (FENT; WESTON; CAMINADA, 2006).

2.1.1 Diclofenaco sódico

O DCF sódico, {2-[(2',6'-diclorofenil)amino]fenil}acetato de sódio, é um AINE comumente utilizado como analgésico, antirreumático e antiartrítico, principalmente em aplicações orais e dérmicas. Na Figura 2 está apresentada a estrutura molecular do DCF sódico.

Figura 2 – Estrutura molecular do DCF sódico.

Fonte: VIENO, N. M.; HÄRKKI, H.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 14, p. 5077–5084, 2007.

O DCF é um ácido fraco com um pK_a igual a 4,15. O coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}) é igual a 4,51; esse valor é um indicativo da lipofilicidade e da hidrofobicidade do composto (VIENO et al., 2007; MOMPELAT; LE BOT; THOMAS, 2009). Por ser lipofílico, o DCF pode ter a capacidade de bioacumulação nos tecidos de seres vivos (SANDERSON et al., 2003).

Após administração oral, o DCF é eliminado em um curto período de tempo. Aproximadamente 65% da dose administrada são excretados na urina; desses, cerca de 15% são excretados de forma inalterada e o restante é eliminado na forma de metabólitos. Os metabólitos conhecidos são: 3-hidroxi-diclofenaco; 4-hidroxi-diclofenaco (principal); 5-hidroxi-diclofenaco; 4,5-diidroxi-diclofenaco; 3-hidroxi-4-metoxi-diclofenaco e 4-hidroxi-5-cloro-diclofenaco (ZHANG; GEIßEN; GAL, 2008).

Como o DCF pode ser adquirido sem a necessidade de receita médica, ele é amplamente utilizado, sendo um dos fármacos mais frequentemente detectados em

amostras de água diversas. Ele foi encontrado em efluentes de ETEs nas concentrações: $0,18 \mu\text{g L}^{-1}$ na Alemanha (TERNES, 1998), entre $0,02$ e $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de esgoto, águas residuárias tratadas e água de rio no estado do Rio de Janeiro, Brasil (STUMPF et al., 1999), até 30 ng L^{-1} na Tailândia (CHEN; WANG; DING, 2008), $0,67 \pm 0,24 \mu\text{g L}^{-1}$ na Suíça (MORASCH et al., 2010) e aproximadamente 230 ng L^{-1} na Espanha (RODIL et al., 2012). Os metabólitos do DCF também têm sido achados em efluentes de ETEs. Stülten et al. (2008) detectaram o 4-hidroxi-diclofenaco e o 5-hidroxi-diclofenaco em efluentes de seis ETEs na Alemanha em concentrações de até $1,7 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,86 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Jux et al. (2002) encontraram o DCF em 10 de 27 amostras de água potável, em concentrações de até $15 \mu\text{g L}^{-1}$, na Alemanha Ocidental.

Assim como outros AINEs encontrados em ambientes aquáticos, o DCF apresenta um alto nível de ameaça, já que pode apresentar efeitos nocivos sobre peixes e aves. Os estudos realizados por Taggart et al. (2007) e Oaks et al. (2004) ligam o declínio catastrófico do abutre *Gyps* ao DCF, relatando que as aves morreram de insuficiência renal após ingerir cadáveres de animais contaminados com este fármaco. O DCF pode causar efeitos nocivos sobre o fígado, rins e brânquias da truta arco-íris (TRIEBSKORN et al., 2007) e pode induzir toxicidade celular, genotoxicidade e efeitos estrogênicos, em níveis de concentração de $1 \mu\text{g L}^{-1}$, no peixe japonês medaka (HONG et al., 2007). Além disso, têm sido observado o sinergismo entre o DCF e outros compostos farmacêuticos ativos tais como o ibuprofeno, o naproxeno, e o ácido acetilsalicílico, resultando na ocorrência de efeitos tóxicos em concentrações mais baixas (CLEUVERS, 2004).

2.2 Processos Oxidativos Avançados (POAs)

Os POAs baseiam-se na geração de radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) para a destruição oxidativa de compostos orgânicos. O radical hidroxila é um poderoso oxidante químico, não seletivo, com um potencial de oxidação $E^0 = 2,05 \text{ V}$ em relação ao Eletrodo Padrão de Hidrogênio (EPH) (VOGELPOHL; KIM, 2004). Devido à sua alta reatividade, os radicais hidroxila podem reagir com uma grande variedade de compostos

orgânicos, podendo promover sua total mineralização (levando-os a CO₂ e água) ou a compostos mais oxidados do que seus precursores. Na oxidação avançada não há formação de subprodutos sólidos (com exceção dos processos Fenton e foto-Fenton), e também não há a transferência de fase dos poluentes (como na adsorção em carvão ativado). Por isso, os POAs são considerados processos limpos (BILA; AZEVEDO; DEZOTTI, 2008).

Os POAs geralmente usam uma combinação de agente oxidantes, irradiação e catalisadores, com o objetivo de gerar radicais ·OH. Existem vários sistemas para a geração dos radicais hidroxila, sendo alguns deles mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Sistemas típicos de processos oxidativos avançados

Sistemas	Com Irradiação	Sem Irradiação
Homogêneos	O ₃ /UV	O ₃ /H ₂ O ₂
	H ₂ O ₂ /UV	O ₃ /OH ⁻
	Feixe de elétrons	H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ (Fenton)
	H ₂ O ₂ /US	
	UV/US	
	H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ /UV (foto-Fenton)	
Heterogêneos	TiO ₂ /O ₂ /UV	eletro-Fenton
	TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV	

Fonte: HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, v. 13, n. 5-7, p. 361-377, 1993.

Os POAs têm sido aplicados no tratamento de efluentes para a remoção de matéria orgânica — Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Carbono Orgânico Total COT —, na remoção de compostos orgânicos recalcitrantes (fenóis, compostos organoclorados, compostos aromáticos, detergentes, pesticidas), compostos inorgânicos (sulfetos, cianetos, nitritos), cor, turbidez, no aumento da biodegradabilidade e na redução da ecotoxicidade (BILA; AZEVEDO; DEZOTTI, 2008). Esses processos são especialmente úteis como: (a) pré-tratamento para o tratamento biológico de contaminantes resistentes à biodegradação ou tóxicos ou (b) pós-tratamento para um polimento final do efluente

antes do seu descarte nos corpos receptores (DOMÈNECH; JARDIM; LITTER, 2001).

2.2.1. Fotocatálise Heterogênea

A fotocatálise heterogênea é um processo baseado na absorção direta ou indireta de energia radiante — visível ou ultravioleta (UV) — por um sólido (fotocatalisador heterogêneo, normalmente é um semicondutor inorgânico). O fotocatalisador, simultaneamente, adsorve reagentes e produtos e absorve fótons. A fotocatálise heterogênea pode ser realizada em fase gasosa, fase líquida orgânica pura ou soluções aquosas (HERRMANN, 1999).

A fotocatálise heterogênea tem sido utilizada para degradar várias classes de compostos: haloalcanos, haloalquenos, álcoois alifáticos, ácidos carboxílicos alifáticos, aminas, aromáticos, haloaromáticos, compostos fenólicos, halofenóis, ácidos carboxílicos aromáticos, amidas, surfactantes, herbicidas, pesticidas, fungicidas, corantes e sulfetos (MILLS; DAVIES; WORSLEY, 1993). Além das classes de compostos orgânicos acima citados, os radicais hidroxila gerados durante a irradiação do TiO_2 são capazes também de reagir com a maioria das moléculas biológicas, resultando em uma atividade bactericida (NOGUEIRA; JARDIM, 1998).

2.2.1.1 Fotocatalisadores

Os semicondutores (TiO_2 , ZnO , Fe_2O_3 , CdS , ZnS etc.) podem agir como fotocatalisadores para processos redox devido às suas estruturas eletrônicas, que são caracterizadas por uma banda de valência preenchida e uma banda de condução vazia, sendo a região entre elas chamada de “bandgap” (BILA; AZEVEDO; DEZOTTI, 2008). Um esquema da partícula do semicondutor é mostrado na Figura 3.

Figura 3 – Esquema da fotoativação de uma partícula semicondutora.

Fonte: SURI, R. P. S.; LIU, J.; HAND, D. W.; CRITTENDEN, J. C.; PERRAM, D. L.; MULLINS, M. E. Heterogeneous photocatalytic oxidation of hazardous organic contaminants in water. **Water Environment Research**, v. 65, n. 5, p. 665-673, 1993.

A absorção de fótons com energia igual ou superior ao “bandgap” resulta na promoção de um elétron da banda de valência para a banda de condução, gerando um par elétron-lacuna. Esse par pode sofrer recombinação interna ou migrar para a superfície do catalisador. Na superfície, ele pode sofrer recombinação externa ou participar de reações de oxirredução com espécies adsorvidas como H_2O , OH^- , O_2 e compostos orgânicos (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). A eficiência da fotocatalise depende da competição entre o processo em que o elétron é retirado da superfície do semicondutor e o de recombinação do par elétron-lacuna (NOGUEIRA; JARDIM, 1998).

Entre os semicondutores, o TiO_2 é o mais amplamente estudado devido a várias das suas propriedades: baixa toxicidade, fotoestabilidade, estabilidade química em uma ampla faixa de pH, alta fotossensibilidade (radiação UV), insolubilidade sob a maioria das condições, alto potencial para a produção de radicais, normalmente empregado à temperatura e pressão ambientes, fácil disponibilidade e baixo custo (NOGUEIRA; JARDIM, 1998; VOGELPOHL; KIM, 2004). A atividade fotocatalítica e o mecanismo de reação do TiO_2 são influenciados pela estrutura, defeitos e impurezas, morfologia da superfície, entre outros fatores (ZIOLLI; JARDIM, 1998). O desempenho de um catalisador como o TiO_2 em um processo de degradação depende

de uma série de fatores: a sua concentração, forma de utilização (imobilizado ou em suspensão), dopagem etc. (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

O TiO_2 ocorre em três formas alotrópicas: anatásio, rutilo e brookita, sendo as duas primeiras as mais comuns. O rutilo apresenta uma menor atividade fotocatalítica em relação ao anatásio, pois não é capaz de adsorver O_2 de forma que a recombinação do elétron com a lacuna é muito elevada. O anatásio é termodinamicamente menos estável do que rutilo, mas a sua formação é cineticamente favorecida a temperaturas mais baixas ($<600^\circ\text{C}$). Esta temperatura mais baixa poderia explicar a maior área superficial e densidade superficial de sítios de adsorção (HERRMANN, 1999). O TiO_2 mais comumente usado é o P25 (Evonik), cuja composição é de 70% anatásio e 30% rutilo, devido à sua alta fotoatividade quando comparado ao de outros fornecedores. Isto se deve à sua alta área superficial específica, em torno de $50 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, e à sua complexa microestrutura cristalina resultante de seu método de preparação que promove uma melhor separação de cargas (NOGUEIRA; JARDIM, 1998).

O TiO_2 pode ser usado em suspensão ou imobilizado. É mais vantajoso, do ponto de vista econômico, que o dióxido de titânio seja imobilizado, eliminando o inconveniente de se recuperar esse sólido, já que ele apresenta partículas muito pequenas (nanométricas); no entanto, a área superficial específica fica bastante reduzida, sendo pequena a quantidade de sítios ativos. Quando se utiliza o TiO_2 em suspensão, há um melhor aproveitamento dos fótons emitidos pela fonte luminosa e uma grande área superficial específica; no entanto, faz-se necessária uma operação unitária adicional, uma separação sólido-líquido, para recuperar o fotocatalisador (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

2.2.1.2 Mecanismo de formação de radicais $\cdot\text{OH}$

Quando o TiO_2 é irradiado com energia igual ou superior à energia do “band-gap” (3,2 eV) um elétron da banda de valência é transferido para a banda de condução (e_{BC}^-) deixando uma lacuna, (h_{BV}^+) na banda de valência (Equação 1).

De acordo com Al-Ekabi e Serpone (1988), os elétrons excitados da banda de condução e as lacunas da banda de valência podem sofrer recombinação interna ou migrar para a superfície da partícula do semicondutor onde podem sofrer recombinação externa e dissipar a energia absorvida na forma de calor ou participar de reações de oxidação com a água ou OH^- adsorvidos para gerar radicais $\cdot\text{OH}$ (Equações 2–4).

A fotocatalise normalmente usa o oxigênio atmosférico comoceptor dos elétrons gerados. O oxigênio adsorvido na superfície do catalisador diminui a taxa do processo de recombinação elétron-lacuna reagindo com o elétron da banda de condução e formando o íon superóxido (Equação 5). Esta reação leva à formação do H_2O_2 (Equações 6–9).

A quebra do H_2O_2 resulta na geração adicional de radicais hidroxila (Equações 10–12) (BILA; AZEVEDO; DEZOTTI, 2008).

Uma vez produzidos, os radicais hidroxila atacam praticamente todos os compostos orgânicos. Dependendo da natureza das espécies orgânicas, dois tipos de ataque inicial são possíveis: abstração de hidrogênio ou adição a insaturações (MUNTER, 2001).

2.2.1.3 Variáveis que podem afetar o processo fotocatalítico

2.2.1.3.1 Concentração do contaminante orgânico

A taxa de oxidação fotocatalítica varia com a concentração inicial do contaminante orgânico. Inicialmente, ela aumenta à medida que aumenta a concentração inicial do poluente; a partir de certo ponto, a taxa de oxidação não é mais alterada por aumentos na concentração do mesmo. Isso ocorre quando os sítios de adsorção do fotocatalisador são ocupados (saturação). A concentração de saturação depende do tipo de substância sendo oxidada e dos parâmetros operacionais (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

A cinética de degradação depende da facilidade com a qual o composto é oxidado e de quanto ele é adsorvido na superfície do TiO_2 . Igualmente, o espectro de absorção do poluente pode afetar drasticamente a cinética da fotocatalise. Se o poluente é um grande absorvedor de UV, quando sua concentração for aumentada ele filtrará a radiação significativamente, impedindo que a luz atinja a superfície do catalisador. Com isso, a cinética de degradação vai se desviar do esperado, produzindo um decréscimo da taxa com o aumento da concentração do poluente (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). Para elevadas concentrações iniciais dos poluentes, a diminuição da taxa de degradação deve-se também à competição do substrato e/ou dos produtos de oxidação, por sítios superficiais do fotocatalisador, diminuindo a sua atividade (FREUDENHAMMER et al., 1997).

2.2.1.3.2 Tipo de acceptor de elétrons

O oxigênio é o acceptor mais empregado, por questões de custo e por que não compete com os poluentes pelos sítios de adsorção. O oxigênio adsorvido na superfície do semicondutor gera o íon superóxido, evitando, assim, a recombinação do par elétron-lacuna que é aumentada pelo acúmulo de elétrons na banda de condução do semicondutor (NOGUEIRA; ALBERICI; JARDIM, 1997).

O H_2O_2 é uma opção viável de acceptor. Embora o H_2O_2 aumente a taxa de degradação de alguns compostos orgânicos com o TiO_2 , com outros tem um efeito negativo ou nenhum efeito. Tem sido sugerido que o H_2O_2 ou o radical hidroperóxido possam funcionar como sequestrantes de radicais hidroxila (MILLS; DAVIES; WORSLEY, 1993).

2.2.1.3.3 pH

O pH da solução aquosa afeta significativamente o TiO_2 , modificando: a carga das partículas, o tamanho dos agregados e as posições das bandas de condução e de valência. As partículas dos óxidos metálicos suspensas em água são reconhecidamente anfotéricas. O principal grupo funcional superficial é o titanol ($TiOH$). Esses estão sujeitos aos equilíbrios ácido-base mostrados nas Equações 13 e 14.

O pH de carga zero (pH_0), situação na qual o número de cargas positivas e negativas é igual na superfície do fotocatalisador, é calculado pela média aritmética dos pK_a , como na Equação 15.

$$pH_{zpc} = \frac{1}{2}(pK_{a1} + pK_{a2}) \quad (15)$$

No caso do dióxido de titânio, as constantes são: $pK_{a1} = 4,5$; $pK_{a2} = 8,0$; e $pH_0 = 6,25$. Em termos simples, um $pH_0 = 6,25$ para o TiO_2 implica em que as interações com espécies catiônicas são favorecidas na fotocatalise quando o $pH > pH_0$, enquanto que as interações com espécies aniônicas são favorecidas quando o $pH < pH_0$ (BILA; AZEVEDO; DEZOTTI, 2008).

2.2.1.3.4 Dosagem do catalisador

Geralmente, quando aumenta-se a dosagem do catalisador, aumenta-se também a taxa de degradação (devido ao aumento do número de sítios ativos disponíveis para a adsorção e a degradação), até se atingir um valor máximo depois do qual ela diminui. Grandes quantidades de fotocatalisador torna o meio opaco à penetração de luz (MORAIS; SIRTORI; PERALTA-ZAMORA, 2006). Este limite de concentração de catalisador, depende da geometria do reator e das condições operacionais, assim como da concentração inicial do substrato.

2.2.1.4 Modelo cinético de Langmuir–Hinshelwood (L–H)

O modelo cinético que se ajusta bem aos dados experimentais de degradações fotocatalíticas é o de Langmuir–Hinshelwood (L–H). Esse modelo baseia-se em que, desconsiderando-se as etapas de transferência de massa, a catálise heterogênea compreende: (a) adsorção dos reagentes na superfície catalítica; (b) reação superficial das espécies adsorvidas; e (c) dessorção dos produtos da superfície catalítica. Por simplicidade, o modelo assume que os reagentes estão presentes numa única fase, que todos os sítios superficiais de adsorção são equivalentes e que as moléculas adsorvidas não interagem entre si.

Denotando o sitio ativo (para a adsorção no catalisador sólido) por $*$, sua concentração superficial em quantidade de matéria é $[*]$. A adsorção de uma determinada espécie A pode ser expressa pela Equação 16, onde A_{ads} corresponde à espé-

cie A adsorvida num sítio superficial e k_{ads} e k_{des} são constates de velocidade para a adsorção e dessorção, respectivamente.

A taxa líquida de adsorção é dada pela Equação 17.

$$r = k_{\text{ads}}[A][*] - k_{\text{des}}[A_{\text{ads}}] \quad (17)$$

No equilíbrio, $r = 0$ e a constante de equilíbrio tem a forma da Equação 18.

$$K_{\text{ads}} = \frac{k_{\text{ads}}}{k_{\text{des}}} = \frac{[A_{\text{ads}}]}{[A][*]} \quad (18)$$

A fração coberta, θ_A , é definida como a fração do total de sítios superficiais de adsorção que são ocupados por A. Se $[*]_o$ representa a concentração dos sítios de adsorção (vagos e ocupados) na superfície do catalisador, têm-se as Equações 19–20.

$$[*]_o = [*] + [A_{\text{ads}}] \quad (19)$$

e

$$\theta_A = \frac{[A_{\text{ads}}]}{[*]_o} \quad (20)$$

Combinando-se as Equações 18, 19 e 20, obtêm-se as expressões para $[*]$, $[A_{\text{ads}}]$ e θ_A em termos das quantidades mensuráveis $[A]$ e K_{ads} (Equações 21–23).

$$[*] = \frac{[*]_o}{1 + K_{\text{ads}}[A]} \quad (21)$$

$$[A_{\text{ads}}] = \frac{K_{\text{ads}}[A][*]_o}{1 + K_{\text{ads}}[A]} \quad (22)$$

$$\theta_A = \frac{K_{\text{ads}} [A]}{1 + K_{\text{ads}} [A]} \quad (23)$$

A Equação 23 é conhecida como a isoterma de adsorção de Langmuir, mostrada na Figura 4. Em baixas concentrações de A, a fração coberta é proporcional à [A], com uma constante de proporcionalidade igual a K_{ads} ; em elevadas [A], a superfície catalítica está completamente coberta (saturada), $\theta_A = 1$ e independe de [A].

Figura 4 – Isotherma de adsorção de Langmuir.

Fonte: DAVIS, M. E.; DAVIS, R. J. Heterogeneous Catalysis. In: LORKOVIC, M. (Ed.). Fundamentals of chemical reaction engineering. New York: McGraw-Hill, 2003. p. 133–183.

Considerando-se a reação catalítica como uma conversão unimolecular de uma espécie adsorvida em uma molécula de produto, tem-se o mecanismo de duas etapas (Equações 24–25), onde a primeira reação é relativamente rápida (equilíbrio de adsorção), seguida por um único passo lento de reação de superfície (etapa limitante).

A velocidade global da reação é apresentada na Equação 26.

$$r = k_2 [A]_{\text{ads}} = k_2 [*]_o \theta_A \quad (26)$$

Se a adsorção de A está em equilíbrio ou em quase-equilíbrio, a isoterma de adsorção de Langmuir pode ser usada para encontrar θ_A e a expressão final de taxa é dada pela Equação 27.

$$r = \frac{k_2 K_{\text{ads}} [*]_o [A]}{1 + K_{\text{ads}} [A]} \quad (27)$$

A frequência ou número de *turnover* é o número de vezes que o ciclo catalítico é completado por sítio catalítico (sítio ativo) por tempo para uma reação a uma dada temperatura, pressão, concentração de reagente e conversão. A frequência de *turnover* é dada pela Equação 28, onde S é o número de sítios ativos no catalisador e n é o número de mols.

$$r_t = \frac{1}{S} \frac{dn}{dt} \quad (28)$$

Como é difícil quantificar o número de sítios ativos numa superfície, assume-se o número total de átomos superficiais expostos por área superficial como uma aproximação de $[*]_o$. Assim, a frequência de *turnover* (Equação 28) é calculada dividindo-se a taxa por $[*]_o$:

$$r_t = \frac{r}{[*]_o} = \frac{k_2 K_{\text{ads}} [A]}{1 + K_{\text{ads}} [A]} \quad (29)$$

A Equação 29 representa a taxa da reação baseada no número de sítios ativos. Assim a Equação 27 se transforma na Equação 30.

$$r = \frac{k_2 K_{\text{ads}} [A]}{1 + K_{\text{ads}} [A]} \quad (30)$$

Essa equação é uma função implícita da concentração e representa uma transição gradual de um comportamento de primeira ordem a outro de ordem zero. Vale ressaltar que o estabelecimento do equilíbrio de adsorção/dessorção é um requisito importante para a validade do modelo L–H (DAVIS; DAVIS, 2003).

Com uma elevada concentração de substrato ($K_{ads}[A] \gg 1$), a taxa de reação é independente da concentração (o que significa em essência uma cinética de ordem zero), e a Equação 30 se transforma na Equação 31.

$$r = k_2 \quad (31)$$

Esse comportamento é devido à cobertura completa dos sítios ativos por parte do substrato. Assim, qualquer substrato adicional no meio reacional não tem influência alguma sobre a cinética (MURZIN, 2008).

Em concentrações baixas ($K_{ads}[A] \ll 1$), a Equação 30 se transforma na Equação 32, uma equação cinética de pseudo-primeira ordem.

$$r = k_2 K_{ads} [A] \quad (32)$$

2.3 Ensaios ecotoxicológicos

Alguns estudos têm mostrado que os sistemas de tratamento de efluentes líquidos são ineficientes na remoção da ecotoxicidade, ainda que estejam dentro dos limites estabelecidos nos padrões de emissão (BERTOLETTI; ZAGATTO, 2006). Nestes estudos também foi demonstrado que a ecotoxicidade remanescente nos efluentes pode causar efeitos aos organismos aquáticos do corpo receptor.

Para se estabelecerem parâmetros de descarte no ambiente aquático, além da caracterização físico-química dos efluentes, é importante implementar ensaios de ecotoxicidade com organismos aquáticos (diretamente afetados pela contaminação),

forneendo dados qualitativos e quantitativos sobre o impacto que esses poluentes podem causar à biota dos corpos hídricos receptores. Essas análises vêm sendo realizadas com organismos de águas continentais, estuarinas e marinhas, em condições laboratoriais e/ou de campo e possibilitam estipular limites para o descarte de várias substâncias químicas e ainda avaliar o impacto de misturas de poluentes. Nos ensaios de ecotoxicidade também são usados alguns vegetais como: alface (*Lactuca sativa*), cebola (*Allium cepa*) e tomate (*Solanum lycopersicum*), especialmente para verificar o efeito de metais tóxicos e para o monitoramento de efluentes industriais (VALENTIM; DEZOTTI, 2008).

Como os efeitos tóxicos de um poluente podem atingir toda uma comunidade, recomenda-se a realização de testes com organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar. As espécies que melhor se prestam para a execução de bioensaios de ecotoxicidade são os peixes, os microcrustáceos e as algas, espécies sensíveis a variações dos parâmetros ambientais e representam diferentes níveis tróficos. Os ensaios ecotoxicológicos realizados em laboratório consistem na exposição destes organismos a diferentes diluições de uma amostra, sob condições rigidamente controladas, por um determinado período de tempo. Após este período, é registrada a porcentagem do efeito tóxico medido em cada uma das diluições e, posteriormente, calcula-se o resultado do ensaio que é empregado na estimativa do potencial de efeito tóxico. O efeito pode ser medido pela mortalidade, menor fecundidade, imobilidade, redução da velocidade de crescimento, entre outros. Estes ensaios são usualmente divididos em ensaios de ecotoxicidade aguda e crônica:

- Ecotoxicidade aguda: Estima-se a manifestação de um efeito letal ou outro produzido em curto período de tempo (0 a 96 horas). O teste é efetuado em peixes e invertebrados e permite estabelecer uma relação entre a dose administrada e a intensidade de efeitos adversos observados. Calcula-se a concentração da substância que provoca a morte (Concentração Letal, CL_{50}) ou um efeito determinado (Concentração Efetiva, CE_{50}) a 50% da população exposta.
- Ecotoxicidade crônica: É o efeito deletério observado quando os organismos são expostos a poluentes por um prolongado período de tempo. A ecotoxicidade crônica deve ser analisada quando os ensaios de ecotoxicidade aguda

não conseguirem mensurar efeito algum. No final do teste, calcula-se a concentração da amostra que não causa efeito crônico observável (Concentração de Efeito não Observado, CENO) na sobrevivência, crescimento ou reprodução da população (BERTOLETTI; ZAGATTO, 2006; VALENTIM; DEZOTTI, 2008).

Existem diferentes métodos estatísticos para o tratamento dos dados gerados nos testes de ecotoxicidade. É necessária a realização de um número mínimo de réplicas e usar um número mínimo de organismos por réplica. Os valores da CL₅₀, da CE₅₀ e dos respectivos intervalos de 95% de confiança são usualmente calculados pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

2.3.1 Ensaio com *Daphnia similis*

As espécies zooplancônicas são consideradas muito importantes dentro dos ecossistemas aquáticos, devido ao seu papel na cadeia trófica, sendo classificados como consumidores primários, já que se alimentam diretamente dos produtores primários. Neste sentido, representam um elo intermediário da cadeia alimentar, através do qual a energia flui para os níveis tróficos superiores, chegando até os peixes, as aves aquáticas e o homem (GEORGETTI, 2010). Os microcrustáceos têm sido empregados como indicadores biológicos em estudos e no controle da qualidade da água para a determinação de ecotoxicidade de efluentes, metais tóxicos e inseticidas (VALENTIM; DEZOTTI, 2008).

A *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera), é um microcrustáceo planctônico, com comprimento máximo de 3,5 mm, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão, especialmente algas unicelulares. A Figura 5 apresenta uma fotografia da *D. similis*.

Figura 5 – Fotografia da *Daphnia similis*.

Fonte: DAPHNIA. **Akira Sakata Daphnia Zukan**. 2006. Disponível em: <http://daphnia-pulex.sakura.ne.jp/zukan/2006/06/post_7.html>. Acesso em: 27 maio. 2013.

Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulga d'água e têm grande representatividade nos corpos de água lênticos de todo o mundo e também do Brasil, pois apresentam ampla distribuição geográfica. Tem sido usados para avaliar efeitos de substâncias em espécies dulcícolas (ABNT, 2009).

2.3.2 Ensaio com sementes de alface (*Lactuca sativa*)

O teste com sementes de alface é um ensaio de toxicidade aguda (120 horas) no qual é possível avaliar os efeitos fitotóxicos de compostos puros ou de misturas complexas no processo de germinação das sementes e no desenvolvimento das plântulas durante os primeiros dias de crescimento. Para isto se determina a inibição na germinação e na elongação da radícula e/ou do hipocótilo (Figura 6) (SOBRERO; RONCO, 2004; DURAN; LANGREO, 1982).

Figura 6 – Morfologia da semente e da plântula de alface (*Lactuca sativa*).

Fonte: SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L). In: MORALES, C. G. (Ed.). ENSAYOS toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: IMTA, 2004.

Durante o período de germinação e os primeiros dias de desenvolvimento da plântula, acontecem numerosos processos fisiológicos nos quais a presença de uma substância tóxica pode interferir alterando a sobrevivência e o desenvolvimento normal da planta, sendo assim uma etapa de grande sensibilidade à fatores externos adversos. A avaliação do crescimento da radícula e/ou do hipocótilo constituem indicadores representativos para determinar a capacidade de estabelecimento e progresso da planta. Além disso, muitas reações e processos envolvidos são comuns para a grande maioria das sementes, por isto a resposta desta espécie e os dados obtidos com a aplicação desta prova são em grande medida representativos dos efeitos em sementes ou plântulas em geral.

Embora a *L. sativa* não seja uma espécie representativa de ecossistemas aquáticos, a informação gerada com o teste de fitotoxicidade proporciona dados acerca do possível efeito dos contaminantes nas comunidades vegetais próximas às margens dos corpos de água poluídos, sendo também uma espécie interessante de analisar por sua importância do ponto de vista hortícola. Assim, a espécie pode ser usada na investigação da ecotoxicidade de solos, sedimentos e efluentes (ROSSI; BELTRAMI, 1998). No caso de irrigação com águas de reuso, este ensaio contribui para avaliar o grau de poluição sofrido pela área tratada assim como a saturação do solo frente aos compostos tóxicos (SOBRERO; RONCO, 2004; GEORGETTI, 2010).

2.4 Trabalhos prévios sobre a degradação do diclofenaco em amostras de água

Desse modo, existe a necessidade de se desenvolver tecnologias para serem aplicadas antes da descarga dos efluentes nos corpos d'água. Pesquisas sobre tecnologias de tratamento têm relatado a remoção de alguns AINEs. Alguns exemplos são: adsorção em carvão ativado (SOTELO et al., 2012) e coagulação-floculação e flotação (CARBALLA; OMIL; LEMA, 2005). Por outro lado, os Processos Oxidativos Avançados (POAs) são uma alternativa para a degradação de produtos farmacêuticos (KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009). Assim, o DCF tem sido tratado por vários POAs, incluindo: foto-Fenton com irradiação ultravioleta (UV) (RAVINA; CAMPANELLA; KIWI, 2002), ozonização e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ (VOGNA et al., 2004) e fotocatalise heterogênea (TiO_2). Esse último processo tem sido pesquisado com boa eficiência na degradação deste composto.

Méndez-Arriaga, Esplugas e Giménez (2008) investigaram a degradação fotocatalítica (TiO_2) de três AINEs (DCF, IBF e NPX) sob irradiação solar artificial (lâmpada de 1.000 W Philips Xe-OP) num reator tubular com reciclo. No trabalho foi avaliado o efeito de diferentes condições experimentais na degradação: dosagem do TiO_2 (0,07 – 2,0 g L^{-1}), concentração de oxigênio (2–8, 8 e 40 mg L^{-1}), vazão de reciclo (0,1, 0,2 e 0,4 mL min^{-1}) e temperatura (20, 30 e 40°C). Não foi observada influência alguma da temperatura nem da vazão, na faixa estudada. Em uma concentração inicial de DCF de 200 mg L^{-1} , a degradação do DCF e a remoção de Carbono Orgânico Total (COT), foi de aproximadamente 98% e 70%, respectivamente após 4 h de tratamento usando-se 0,1 g $\text{TiO}_2 \text{ L}^{-1}$, 40 mg $\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$, vazão de 0,2 L min^{-1} e 30°C. Nessa concentração inicial de DCF, no experimento de fotólise, foi observada uma degradação do DCF de 95% e uma remoção do COT de 25%, após 4 h de irradiação.

Rizzo et al. (2009) estudaram a degradação fotocatalítica do DCF em suspensões de TiO_2 irradiadas por uma lâmpada fluorescente de luz negra (125 W) em um reator em batelada. Foi avaliado o efeito da concentração de substrato (5 – 80 mg L^{-1}) e da dosagem de catalisador na cinética de degradação (0,2 – 1,6 g $\text{TiO}_2 \text{ L}^{-1}$). No estudo, o experimento fotolítico não resultou em nenhuma decomposição significativa do DCF, em 120 min de irradiação. No processo de fotocatalise, a mineralização

do DCF aumentou com o aumento da dosagem de TiO_2 e diminuiu com o aumento da concentração inicial de DCF. Foram observadas remoções de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) de 85% para 15 mg DCF L^{-1} e 0,8 g TiO_2 L^{-1} e de 65% para 20 mg DCF L^{-1} e 1,6 g TiO_2 L^{-1} , após 120 min de tratamento. Além disso, foram realizados testes com diferentes organismos-teste (*Daphnia magna*, *Pseudo-kirchneriella subcapitata* e *Artemia salina*) para determinar a ecotoxicidade das amostras após a oxidação. A *P. subcapitata* foi mais sensível que a *D. magna*. A ecotoxicidade aumentou com o aumento da concentração do DCF e do TiO_2 . Para as concentrações de 15 e 20 mg DCF L^{-1} e 0,4 g TiO_2 L^{-1} , as amostras tratadas não apresentaram ecotoxicidade para a *D. magna* e *P. subcapitata*, após 120 min de irradiação. O organismo *A. salina* não foi sensível aos intermediários formados nas condições investigadas, assim como à amostra inicial de DCF.

Calza et al.(2006) aplicaram a metodologia de superfície de resposta para determinar os fatores estatisticamente significativos na degradação do DCF. Eles estudaram o tratamento fotocatalítico (TiO_2) em baixas concentrações iniciais de DCF (0,76 – 9,24 mg L^{-1}), usando uma faixa de concentração do fotocatalisador de 0,1 – 0,9 g L^{-1} e uma lâmpada de 1.500W. O aumento na concentração do fármaco e do fotocatalisador teve um efeito positivo na degradação do DCF. A condição ótima do tratamento (concentração residual de DCF = 0,4%) foi achada nas concentrações de 0,6 g TiO_2 L^{-1} e 8,17 mg DCF L^{-1} . Também, foi relatada uma remoção de 50% para uma concentração inicial 15 mg DCF L^{-1} depois de 15 min de irradiação, usando-se 0,2 g TiO_2 L^{-1} ; a completa eliminação do DCF foi atingida após 1 h de irradiação. A toxicidade à bactéria *V. fisheri* exposta a uma solução de DCF de 15 mg L^{-1} decresceu com o aumento no tempo de irradiação, sendo eliminada depois de 120 min.

Achileos et al. (2010) estudaram a conversão e a mineralização fotocatalítica do DCF. Foi avaliado o efeito do tipo (P25, Hombikat UV100, Aldrich, Tronox AK-1, Tronox TRHP-2, Tronox TR) e dosagem (50–1.600 mg L^{-1}) de catalisador, a concentração inicial de DCF (5–20 mg L^{-1}) e o uso de H_2O_2 (0,07–1,4 mmol/L) como oxidante adicional na conversão e mineralização em diferentes matrizes (água destilada, água subterrânea e efluente de tratamento municipal). Os experimentos foram feitos usando-se uma lâmpada UV-A de 9 W, com fluxo contínuo de O_2 , pH 6 (próprio do meio) e a 23°C. Dos fotocatalisadores (TiO_2) testados, o P25 da Evonik teve a maior atividade catalítica na decomposição do DCF. Foi determinado que o aumento da concentração não foi significativa

na degradação do fármaco na faixa estudada. A conversão decresceu com o aumento da concentração inicial do fármaco. Foi atingida uma degradação de 61 e 46% após 60 min de tratamento e uma redução do COT de 72 e 47% depois de 120 min de irradiação para 10 e 20 mg DCF L⁻¹, respectivamente, usando-se 0,25 g TiO₂ L⁻¹. Na avaliação da adição de H₂O₂, o fator importante na degradação foi a razão entre a concentração de oxidante e a concentração de DCF. Na irradiação de 10 mg DCF L⁻¹ (0,14 mmol/L H₂O₂, 0,5 g L⁻¹ TiO₂ P25) e 20 mg DCF L⁻¹ (1,4 mmol/L H₂O₂, 1 g L⁻¹ TiO₂ P25), foi relatada uma redução de COT de 71 e 80%, respectivamente, após 120 min de irradiação. Foi observado que a complexidade da matriz de água afetou de forma adversa a degradação. Não foi relatada uma influência significativa da fotólise na degradação. Na concentração inicial de 10 mg L⁻¹, o DCF não foi tóxico para a espécie *D. magna*, mas os seus produtos de degradação apresentaram uma toxicidade considerável.

Por outro lado, diferentes trabalhos têm identificado os produtos de degradação do DCF, gerados a partir de diferentes tratamentos. A identificação desses compostos é importante para se determinar como afetam a biodegradabilidade e a ecotoxicidade da amostra tratada. A cromatografia gasosa e líquida acoplada a espectroscopia de massas (GC/MS e LC/MS, em inglês) têm sido amplamente usadas na identificação dessas substâncias, devido à sua seletividade e sensibilidade, mesmo quando uma determinação definitiva das estruturas químicas não seja possível e, como consequência, só possam ser fornecidas propostas de rotas de degradação. Na Tabela 2 são apresentados trabalhos nos quais os autores estudaram a degradação do DCF por diferentes processos.

Nas Figuras 7–14, são mostrados mecanismos já propostos, verificando-se que a degradação do DCF segue diferentes rotas, dependendo do tratamento aplicado. Apesar de se observar alguma semelhança em todas as rotas propostas e de ter sido relatada a presença de intermediários comuns, diferenças significativas podem ser notadas. Nos processos foto-Fenton e sonólise pode-se observar a perda de H₂O e CO₂ da cadeia alquílica, além da hidroxilação do DCF. Nas degradações por fotólise observa-se a formação de intermediários carbazol e no processo fotocatalítico nota-se a formação de intermediários hidroxilados. Na decomposição catalítica do H₂O₂ observa-se a degradação do fármaco até a formação de ácidos carboxílicos. Na maioria dos mecanismos aconteceu a ruptura da molécula de DCF, sendo que em alguns casos foi detectada uma maior quantidade de intermediários, sendo usadas diferentes tipos de técnicas cromatográficas para sua identificação.

Tabela 2 – Trabalhos prévios no estudo dos intermediários de degradação do DCF via diferentes processos.

Autores	Processo	Condições	Degradação	Técnicas Analíticas
Vogna et al. (2004)	UV/H ₂ O ₂	296 mg DCF L ⁻¹ 341 mg H ₂ O ₂ L ⁻¹ pH = 7, 25°C lâmpada 17 W	100% em 90 min	GC/MS
	Ozonização	36 L O ₃ h ⁻¹ 296 mg DCF L ⁻¹ pH = 7, 25°C	100% em 10 min	
Pérez-Estrada et al. (2005)	Foto-Fenton	50 mg DCF L ⁻¹ 200–400 mg H ₂ O ₂ L ⁻¹ 0,05 mol Fe-SO ₄ .7H ₂ O L ⁻¹ luz solar 30–40°C	100% em 60 min	GC/EI-MS LC/ESI/TOF-MS Cromatografia iônica
Agüera et al. (2005)	Fotólise	45,5 mg DCF L ⁻¹ luz solar pH = 7–8, 35°C	70% em 30 h	GC/EI-MS
				GC/PCI-MS LC/ESI/TOF/MS
Calza et al. (2006)	TiO ₂ /UV	15 mg DCF L ⁻¹ 0,2 g TiO ₂ L ⁻¹ lâmpada 1.500 W 20°C	100% em 1 h	LC-IT-MS
Hofmann et al. (2007)	Decomposição catalítica do H ₂ O ₂	20 mg DCF L ⁻¹ 2,5 mL de H ₂ O ₂ (30% em massa) pH = 6–7, 60°C	100% em 20 min	GC-MS
Bartels e von Tümpling (2007)	Fotólise	50 mg DCF L ⁻¹ , luz solar no verão em Magdeburg, Alemanha	83% na camada superficial da água (0 a 5 cm) em 370 min	GC-MS
Hartmann et al. (2008)	Sonólise	50 mg DCF L ⁻¹ 0,1 g TiO ₂ L ⁻¹ 617 kHz 90 W, 20°C	84% em 30 min	GC-MS
Coelho et al. (2009)	Ozonização	200 mg DCF L ⁻¹ 0,435 g O ₃ h ⁻¹ 21–25°C	99% em 30 min	LC/TOF-MS

Figura 7 – Rota proposta de degradação do DCF via UV/H₂O₂ e ozonização.

Fonte: VOGNA, D.; MAROTTA, R.; NAPOLITANO, A.; ANDREOZZI, R.; D' ISCHIA, M. Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H₂O₂ and ozone. **Water Research**, v. 38, n. 2, p. 414–422, 2004.

Figura 8 – Rota proposta de degradação do DCF pelo processo foto-Fenton.

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

Figura 9 – Rota proposta de fototransformação para o DCF sob luz solar.

Fonte: AGÜERA, A.; PÉREZ ESTRADA, L. A.; FERRER, I.; THURMAN, E. M.; MALATO, S.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Application of time-of-flight mass spectrometry to the analysis of phototransformation products of diclofenac in water under natural sunlight. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 40, n. 7, p. 908–915, 2005.

Figura 10 – Rota proposta de degradação do DCF por fotocatalise.

Fonte: CALZA, P.; SAKKAS, V.; MEDANA, C.; BAIOCCHI, C.; DIMOU, A.; PELIZZETTI, E.; ALBANIS, T. Photocatalytic degradation study of diclofenac over aqueous TiO_2 suspensions. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 67, n. 3, p. 197–205, 2006.

Figura 11 – Rota proposta de degradação do DCF por decomposição catalítica do H_2O_2 .

Fonte: HOFMANN, J.; FREIER, U.; WECKS, M.; HOHMANN, S. Degradation of diclofenac in water by heterogeneous catalytic oxidation with H_2O_2 . **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 70, n. 1–4, p. 447–451, 2007.

Figura 12 – Alguns produtos de degradação do DCF via fotólise.

Fonte: BARTELS, P.; VON TÜMLING, W. Solar radiation influence on the decomposition process of diclofenac in surface waters. **Science of the Total Environment**, v. 374, n. 1, p. 143–155, 2007.

Figura 13 – Rota proposta de degradação do DCF por sonólise.

Fonte: HARTMANN, J.; BARTELS, P.; MAU, U.; WITTER, M.; VON TÜMPLING, W.; HOFMANN, J.; NIETZSCHMANN, E. Degradation of the drug diclofenac in water by sonolysis in presence of catalysts. **Chemosphere**, v. 70, n. 3, p. 453–461, 2008.

Figura 14 – Rota proposta de degradação do DCF via ozonização.

Fonte: COELHO, A. D.; SANS, C.; AGÜERA, A.; GÓMEZ, M. J.; ESPLUGAS, S.; DEZOTTI, M. Effects of ozone pre-treatment on diclofenac: Intermediates, biodegradability and toxicity assessment. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 11, p. 3572–3578, 2009.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudar, em escala laboratorial, a aplicação do processo TiO_2/UV para a degradação de diclofenaco em água.

3.2 Específicos

- Estudar o efeito dos parâmetros reacionais: dosagem e tipo de fotocatalisador, concentração inicial do fármaco, tipo de acceptor de elétrons e pH (através de planejamento experimental), no desempenho do tratamento.
- Avaliar a remoção de ecotoxicidade do efluente após o tratamento.
- Identificar os intermediários formados e propor um mecanismo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Experimentos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento de Tecnologias Ambientais (LDTAmb) no Instituto de Química de São Carlos (IQSC) da Universidade de São Paulo (USP).

No planejamento experimental, foram usados dois tipos de fotocatalisador (TiO_2): P25 da Evonik e o Hombikat UV 100 da Sachtleben. O P25 é composto de aproximadamente 75% anatásio e 25% rutilo com tamanho de partícula médio de 21 nm e área superficial específica de $50 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. O Hombikat UV 100 é 100% anatásio com tamanho de partícula médio de 5 nm e área superficial específica $>250 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Os fotocatalisadores foram utilizados sem tratamento prévio e removidos após a reação por filtração a vácuo com membrana de acetato de celulose de porosidade $0,45 \mu\text{m}$.

O DCF (99,5% de pureza) (CAS15307-79-6) foi obtido da Sigma-Aldrich e usado como recebido. Os valores de pH foram ajustados e controlados com soluções de NaOH e H_2SO_4 , utilizando-se para tal um pHmetro MARCONI 200 PA.

4.2 Planejamento Experimental

Uma dificuldade comum, para quem realiza experimentos, é determinar a influência de uma ou mais variáveis sobre outra de interesse. Para solucionar esse problema, realizam-se planejamentos experimentais, que proporcionam a obtenção do máximo de informações sobre o sistema, com um número mínimo de experimentos.

Com esta técnica e com a ajuda do software Statistica11.0, foi feita uma avaliação preliminar dos fatores que poderiam afetar o desempenho do tratamento fotocatalítico do DCF. Para tal, foi realizado um planejamento fatorial 2^5 , composto de cinco fatores em dois níveis. Na Tabela 3, estão apresentados os fatores cujas in-

fluências no rendimento da reação foram analisadas e seus níveis (um máximo e um mínimo). A variável-resposta utilizada para se avaliar a eficiência do processo foi a área sob o espectro de absorção das amostras na região do UV. Essa medida é mais robusta do que a concentração residual de DCF porque é sensível a quaisquer substâncias formadas que absorvam na região do ultravioleta. Em seguida, os resultados obtidos foram analisados no mesmo programa e foi determinado o ponto ótimo para o tratamento.

Tabela 3 – Fatores e níveis para o planejamento fatorial 2^5 .

Fatores	Níveis	
	(-1)	(+1)
TiO ₂ (g L ⁻¹)	0,5	1,0
DCF (mg L ⁻¹)	10	20
Aceptor de elétrons	O ₂	H ₂ O ₂ ^a
pH	5,0	7,0
Catalisador	P25 ^b	Hombikat UV 100 ^c

^a 1,0 ou 2,0 mmol L⁻¹ para 10 ou 20 mg L⁻¹ de DCF, de forma a se manter a mesma razão entre as concentrações de H₂O₂ e DCF.

^b Fornecedor: Evonik.

^c Fornecedor: Sachtleben.

Uma vez que os fatores estudados apresentam níveis em escalas distintas, eles só podem ser comparados se forem normalizados (codificados), de forma a terem a mesma relevância nos cálculos estatísticos. Na Tabela 3 é mostrada a correspondência entre os valores codificados e os valores reais utilizados (níveis) para a realização dos experimentos. Na Tabela 4 pode-se observar a matriz dos experimentos realizados.

Tabela 4 – Matriz do planejamento experimental realizado.

Ensaio	TiO₂ (g L⁻¹)	DCF (mg L⁻¹)	Aceptor de elétrons	pH	Catalisador
1	-1	-1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1	-1	-1
3	-1	+1	-1	-1	-1
4	+1	+1	-1	-1	-1
5	-1	-1	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1	-1	-1
7	-1	+1	+1	-1	-1
8	+1	+1	+1	-1	-1
9	-1	-1	-1	+1	-1
10	+1	-1	-1	+1	-1
11	-1	+1	-1	+1	-1
12	+1	+1	-1	+1	-1
13	-1	-1	+1	+1	-1
14	+1	-1	+1	+1	-1
15	-1	+1	+1	+1	-1
16	+1	+1	+1	+1	-1
17	-1	-1	-1	-1	+1
18	+1	-1	-1	-1	+1
19	-1	+1	-1	-1	+1
20	+1	+1	-1	-1	+1
21	-1	-1	+1	-1	+1
22	+1	-1	+1	-1	+1
23	-1	+1	+1	-1	+1
24	+1	+1	+1	-1	+1
25	-1	-1	-1	+1	+1
26	+1	-1	-1	+1	+1
27	-1	+1	-1	+1	+1
28	+1	+1	-1	+1	+1
29	-1	-1	+1	+1	+1
30	+1	-1	+1	+1	+1
31	-1	+1	+1	+1	+1
32	+1	+1	+1	+1	+1

4.3 Unidade Reacional

Os experimentos foram realizados em uma unidade de irradiação contendo uma lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão (fonte de radiação ultravioleta) Osram de 250 W da qual o bulbo externo foi removido, um reator de Pyrex® cilíndrico encamisado com volume útil de 250 mL, um banho termostático, um agitador magnético para manter o fotocatalisador em suspensão, uma bomba de ar como fonte de oxigênio e um sistema de exaustão de ar para evitar o superaquecimento no interior da unidade. A Figura 15 ilustra o reator utilizado nesse trabalho.

Figura 15 – Unidade reacional utilizada.

4.4 Procedimento experimental

Os ensaios foram realizados a $24 \pm 2^\circ\text{C}$, usando-se 50 mL de solução de DCF (20 mg L^{-1}) e a lâmpada posicionada 12 cm acima da lâmina de líquido. Nessa configuração, o espectro de emissão da lâmpada foi medido com um espectrorradiômetro StellarNet EPP2000C. A Figura 16 mostra o espectro obtido. As demais condições operacionais foram determinadas pelo planejamento fatorial (Tabela 2). Os ensaios consistiram de um período inicial no escuro (30 min) para permitir que o

equilíbrio de adsorção do DCF no fotocatalisador fosse atingido e mais 30 min de irradiação.

Após encontrar-se o ponto ótimo do tratamento, variou-se o tempo de irradiação para se obter a cinética da reação fotocatalítica. A cinética da fotólise também foi estudada, nas mesmas condições experimentais da fotocatalise (mas sem a presença do TiO_2).

Figura 16 – Espectro de emissão da lâmpada utilizada.

4.5 Verificação da eficiência do tratamento

4.5.1 Degradação do DCF

No planejamento experimental, a degradação do DCF foi acompanhada por espectrofotometria no UV, pela área integrada sob o espectro de absorção de 200 a 400 nm, utilizando-se um espectrofotômetro CaryWin UV ScanApplication da VARIAN. O software Excel[®] foi utilizado para a integração numérica dos espectros.

Depois de se encontrar as condições ótimas para realizar a fotocatalise do DCF, a degradação do fármaco foi avaliada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) usando-se um cromatógrafo a líquido com Detector de Arranjo de Dio-

dos (DAD) e injetor automático da Agilent Technologies 1200 series. As condições cromatográficas são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5 – Condições cromatográficas adotadas para a análise do DCF.

Aparelho/Detector	CLAE/DAD
Coluna cromatográfica	ZORBAX ODS (250 mm × 4,6 mm × 5 µm)
Eluente A	Acetonitrila (0,05% de ácido trifluoracético)
Eluente B	Água purificada (0,05% de ácido trifluoracético)
Proporção dos eluentes A:B	65:35 (em volume), Isocrático
Vazão	0,80 mL min ⁻¹
Volume de injeção	20 µL
Temperatura da coluna	25°C
Comprimento de onda	278 ± 4 nm
Tempo de corrida cromatográfica	10 min de separação + 4 min de limpeza

FONTE: RIGOBELLO, E. S. **Avaliação da remoção de diclofenaco e formação de subprodutos em tratamento de água**. 2012. 259 f. Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

4.5.2 Determinação das constantes cinéticas

Fixando-se as condições ótimas, foi estudada a cinética de degradação do fármaco. Para o tratamento via fotocatalise heterogênea, determinou-se a concentração residual de DCF, após 30 min de adsorção no escuro e nos tempos de 0, 2,5, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min de irradiação. Cada experimento foi realizado em triplicata. Aos dados foi ajustado o modelo de Langmuir-Hinshelwood (Equação 33). As constantes cinética (k) e de adsorção (K) foram estimadas pelo método dos mínimos quadrados utilizando-se a ferramenta Solver do software Excel[®].

$$r = \frac{k \cdot K \cdot C_{DCF}}{(1 + K \cdot C_{DCF})} \quad (33)$$

Para se determinar a cinética do tratamento via fotólise, os experimentos no ponto ótimo foram realizados em triplicata, nos tempos de 0, 2,5, 3,5, 5, 7,5, 10, 12,5, 15, 20, e 30 min de irradiação. Aos dados da fotólise, foi ajustado um modelo cinético de ordem zero.

4.5.3 Mineralização

O grau de mineralização foi determinado por análises de COD (Carbono Orgânico Dissolvido) realizadas no equipamento TOC – VCPH Total Organic Carbon Analyzer da SHIMADZU. A quantidade de matéria orgânica mineralizada é determinada pela diferença entre a concentração de carbono orgânico dissolvido da solução inicial e da tratada.

4.5.4 Identificação de intermediários de degradação por LC-MS/MS

Para a separação e identificação dos intermediários do DCF, foi utilizado um cromatógrafo a líquido com uma bomba quaternária 1200, um injetor automático 1200 e um detector DAD 1260 (Agilent Technologies) acoplado a um espectrômetro de massas (MS) com analisador híbrido do tipo quadrupolo/ion *trap* linear (3200 QTRAP, AB SCIEX).

Na análise das amostras tratadas por fotocatalise, a separação cromatográfica foi feita em uma coluna Phenomenex Kinetex C18 (150 mm × 4,6 mm × 5 µm) equipada com uma pré-coluna C18. A eluição foi feita no modo isocrático com água purificada pelo sistema Milli-Q (18,2 MΩ cm a 25°C) com 0,01% de ácido fórmico e acetonitrila grau HPLC (JTBaker) na proporção de 55:45 (em volume) e uma vazão de 1 mL min⁻¹. A temperatura da coluna foi mantida em 40°C. O volume de amostra injetada foi de 20 µL e o tempo total da corrida cromatográfica de 10 min. O experimento inicial foi realizado pela varredura de massas na faixa de 100 a 400 Da.

Na análise das amostras tratadas por fotólise, a separação cromatográfica foi feita em uma coluna Agilent Zorbax ODS (250 mm × 4,6mm × 5µm). A eluição foi feita no modo isocrático com água purificada pelo sistema Milli-Q (18,2 MΩ cm a 25°C) com 0,01% de ácido fórmico e acetonitrila grau HPLC (JTBaker) na proporção de 35:65 (em volume) e uma vazão de 1 mL min⁻¹. A temperatura da coluna foi mantida em 40°C. O volume de amostra injetada foi de 10 µL e o tempo total da corrida cromatográfica de 10 min. O experimento inicial foi realizado pela varredura de massas na faixa de 100 a 400 Da.

A ionização dos compostos foi obtida por electrospray (ESI) no modo negativo, onde os íons quase-moleculares são detectados a partir da perda de um próton, caracterizados por [M-H]⁻. As análises iniciais de espectrometria de massas (MS) foram realizadas no modo varredura de íons (*fullscan*) para a detecção dos compostos e, em seguida, foram feitos experimentos de fragmentação (MS²) para a confirmação dos compostos encontrados. As condições utilizadas nas análises das amostras degradadas por fotocatalise e fotólise estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Condições utilizadas no espectrofotômetro de massas por *electrospray*.

Parâmetros	Valor
<i>Curtain gas</i>	10 psi
<i>Ionspray</i>	- 4.500 V
Gás 1	50 psi
Gás 2	50 psi
Temperatura	700°C
<i>Declustering potential</i>	- 15,00 V
Potencial de entrada	- 3,00 V
Aquecedor de interface	ON
Energia de colisão	20 eV

4.5.5 Ensaio de ecotoxicidade aguda com *Daphnia similis*

Para a avaliação da ecotoxicidade aguda da amostra inicial de DCF e das amostras degradadas por fotocatalise e por fotólise foi usado o microcrustáceo *Daphnia similis* como organismo-teste.

O cultivo dos organismos e a sua manutenção foram efetuados de acordo com a norma NBR 12713 (ABNT, 2009) e mantidos no laboratório do Núcleo de Estudos de Ecossistemas Aquáticos da Universidade de São Paulo, situado no Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (Itirapina, SP). A água de cultivo e de diluição (água utilizada para preparar as soluções-teste) foram preparadas a partir de soluções específicas para se ter um pH entre 7,0 e 7,6 e uma dureza total entre 40 e 48 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$.

No cultivo, os organismos foram mantidos em béqueres de 2 L, com um máximo de 50 indivíduos por recipiente, sendo feita a renovação da água de cultivo três vezes por semana e o fornecimento do alimento, com fotoperíodo controlado de 16 h (claro)/8 h (escuro) e com controle de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). Os indivíduos foram alimentados a partir de uma suspensão algal de *Pseudokirchneriella subcapitata*, cultivada em meio L. C. Oligo a uma concentração final de 1×10^5 células L^{-1} . Além das algas, foi fornecido um alimento composto (levedura e ração de peixe fermentada na proporção de 1:1) na concentração de 1 mL L^{-1} , conforme descrito na norma NBR 12713 (ABNT, 2009)

A sensibilidade dos organismos-teste foi avaliada por meio de ensaios com a substância de referência, cloreto de potássio. Foram colocados cinco neonatas em tubos Falcon contendo 10 mL de cloreto de potássio (KCl), em diferentes concentrações: 0 (controle), 150, 300, 450, 600, e 900 mg L^{-1} , em quatro réplicas. Os organismos foram mantidos sem alimentação e após um período de 48h registrou-se o número de indivíduos imóveis para o cálculo da CE_{50} , a concentração efetiva mediana para 50% dos organismos em 48h de exposição. Os organismos foram considerados adequados para serem utilizados em testes quando o valor da CE_{50} estivesse

dentro da faixa de sensibilidade estabelecida pela carta-controle do laboratório (ABNT, 2009).

Diferentes concentrações do DCF em água foram também avaliadas. Nestes testes, a amostra inicial (20 mg DCF L⁻¹) foi diluída em água de cultivo e avaliada em diferentes diluições (20,0, 16,0, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0, 0,50, 0,25 e 0,20 mg DCF L⁻¹). Essas diluições são chamadas de soluções-teste e foram preparadas no momento da realização do ensaio, utilizando-se as devidas proporções de amostra e água de cultivo. Também foram realizados testes de ecotoxicidade após 30 min de fotocatalise e de fotólise. Em ambos os testes, foi feito um controle no qual os organismos-teste foram expostos somente à água de cultivo, para verificar a viabilidade do cultivo. Antes de utilizar a água de diluição foram determinados e registrados os valores de oxigênio dissolvido, pH, condutividade e dureza total, determinando-se, também, estes parâmetros para as soluções-teste.

A montagem dos testes é feita colocando-se 10 mL das soluções-teste (em quadruplicata) em um bécher e 5 organismos-teste, totalizando 20 indivíduos por concentração amostrada, além do controle. O ensaio foi mantido a 22 ± 2°C com fotoperíodo de 16 h (claro)/8 h (escuro) sem alimentação dos organismos. Os recipientes foram cobertos e após 48 h foi observado e registrado o número de organismos imóveis. Finalmente foi determinado a CE₅₀ usando-se o método de cálculo Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

4.5.6 Ensaio de ecotoxicidade aguda com *Lactuca sativa*

As sementes de alface utilizadas foram da marca Isla Pack[®] — variedade baba de verão (manteiga). As sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) 0,1% em volume por 20 min e depois em água mineral por 10 min (três vezes).

A uma placa de Petri (10 cm de diâmetro) forrada com papel de filtro embebido com 2,0 mL da solução-teste, foram adicionadas 10 sementes. As placas foram

fechadas, lacradas e incubadas a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ por 120 h. Os testes foram feitos em quadruplicata e água mineral foi utilizada como controle.

Ao término do período de incubação, mediu-se o comprimento do hipocótilo (segmento entre o cotilédone e a raiz) das sementes que germinaram. Calculou-se então o Índice de Germinação, IG(%), conforme mostrado na Equação 34, onde G_A é o número de sementes que germinaram, L_A é o comprimento dos hipocótilos nas amostras, G_C é o número de sementes que germinaram no controle e L_C é o comprimento dos hipocótilos no controle (ORTEGA et al., 1996). O número de sementes que germinam e os respectivos comprimentos dos hipocótilos são inversamente proporcionais à ecotoxicidade de uma amostra.

$$\text{IG (\%)} = \frac{(G_A \times L_A)}{(G_C \times L_C)} \times 100 \quad (34)$$

A $\text{CE}_{50}(\%)$ foi estimada utilizando-se o método de Trimmed Spearman-Kärber ajustado (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação do ponto ótimo de tratamento

Realizou-se o planejamento experimental 2^5 , no qual variou-se a dosagem do catalisador, a concentração de DCF, o aceptor de elétrons, o pH e o tipo de catalisador. A redução da área sob o espectro de absorção no UV das amostras foi usada como variável-resposta. O espectro de absorção do DCF é mostrado na Figura 17. Com o planejamento experimental, foi possível se estimar o efeito das variáveis estudadas e, por conseguinte, as que eram estatisticamente significativas (95% de confiança). Em seguida, encontrou-se o ponto ótimo para a degradação, dentro do espaço de variáveis ensaiado.

Figura 17 – Espectro de absorção do DCF em água (20 mg L^{-1}) na região do UV (200 – 400 nm)

A Tabela 7 mostra os resultados dos 32 ensaios realizados de acordo com o planejamento fatorial 2^5 e a Figura 18 apresenta a redução na área do espectro UV do DCF após a fotocatalise para o ensaio numero 3 do planejamento experimental.

Tabela 7 – Matriz e resultados do planejamento fatorial 2^5 realizado para o processo de fotocatalise heterogênea (TiO_2).

Ensaio	TiO_2 (g L ⁻¹)	DCF (mg L ⁻¹)	Aceptor de e ⁻	pH	Tipo de catalisador	Redução área espectro UV (%)
1	-1	-1	-1	-1	-1	89,6
2	+1	-1	-1	-1	-1	98,2
3	-1	+1	-1	-1	-1	93,7
4	+1	+1	-1	-1	-1	87,3
5	-1	-1	+1	-1	-1	93,0
6	+1	-1	+1	-1	-1	95,1
7	-1	+1	+1	-1	-1	92,2
8	+1	+1	+1	-1	-1	97,8
9	-1	-1	-1	+1	-1	93,9
10	+1	-1	-1	+1	-1	90,3
11	-1	+1	-1	+1	-1	94,3
12	+1	+1	-1	+1	-1	96,7
13	-1	-1	+1	+1	-1	91,0
14	+1	-1	+1	+1	-1	94,8
15	-1	+1	+1	+1	-1	94,0
16	+1	+1	+1	+1	-1	80,2
17	-1	-1	-1	-1	+1	95,4
18	+1	-1	-1	-1	+1	92,5
19	-1	+1	-1	-1	+1	88,6
20	+1	+1	-1	-1	+1	92,6
21	-1	-1	+1	-1	+1	78,7
22	+1	-1	+1	-1	+1	91,4
23	-1	+1	+1	-1	+1	90,0
24	+1	+1	+1	-1	+1	80,3
25	-1	-1	-1	+1	+1	69,4
26	+1	-1	-1	+1	+1	87,8
27	-1	+1	-1	+1	+1	93,8
28	+1	+1	-1	+1	+1	76,8
29	-1	-1	+1	+1	+1	80,0
30	+1	-1	+1	+1	+1	20,9
31	-1	+1	+1	+1	+1	61,5
32	+1	+1	+1	+1	+1	44,1

Figura 18 – Espectro de absorção da amostra inicial de DCF e da amostra após o tratamento fotocatalítico de 200 a 350 nm (Ensaio número 3).

Analisando-se os resultados obtidos no planejamento, identificaram-se os fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança, com o auxílio do programa Statistica 11.0 (Tabela 8).

Tabela 8 – Fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança.

Fatores	Efeito
(1) Aceptor de elétrons	– 9,74
(2) pH	– 11,69
(3) Tipo de catalisador	– 14,89
(1) × (3)	– 9,01
(2) × (3)	– 10,24

Como os valores dos efeitos foram negativos, significa que passar do nível menor para o nível maior dos fatores tem um resultado negativo sob a eficiência da degradação do DCF. A concentração do fármaco e a dosagem do TiO_2 não foram estatisticamente significativos (na faixa estudada). Desta forma, a concentração de DCF foi fixada no nível de 20 mg L^{-1} , uma concentração relativamente alta de DCF, para se poder avaliar o tratamento dentro de uma escala de tempo adequada para

permitir a determinação das concentrações residuais de DCF mediante as técnicas analíticas empregadas neste trabalho. Uma concentração inicial relativamente alta também promove a formação de maiores concentrações de intermediários, facilitando a identificação destes por espectrometria de massas. A dosagem do fotocatalisador foi fixada em $0,5 \text{ g TiO}_2 \text{ L}^{-1}$ para se evitar gastos desnecessários, diminuir a opacidade do meio e facilitar o processo de filtração.

Assim, foi possível se determinar as condições experimentais ótimas para a degradação do DCF, dentro do espaço de variáveis ensaiado:

- Dosagem de TiO_2 : $0,5 \text{ g L}^{-1}$;
- Concentração DCF: 20 mg L^{-1} ;
- Aceptor de elétrons: oxigênio;
- pH: 5,0; e
- Tipo de catalisador: P25 (Evonik).

No trabalho de Achilleos et al. (2010), os autores também observaram que o P25 (Evonik) era um fotocatalisador mais ativo do que o Hombikat UV 100 (Sachtleben), sendo que o P25 tem sido empregado com sucesso em numerosos trabalhos. Nesse trabalho, diferentemente, a adição de H_2O_2 aumentou a degradação do DCF.

5.2 Cinética de degradação

Foi utilizada a CLAE para a determinação das concentrações residuais do fármaco. Na Figura 18 é apresentado o cromatograma do DCF, obtido com as condições cromatográficas estabelecidas no método empregado (Tabela 5).

Figura 18 – Cromatograma do DCF (20 mg L^{-1}) com t_R de 7,5 min.

Foi construída uma curva analítica, em triplicata, utilizando soluções de DCF em diferentes níveis de concentração. A correlação entre o sinal medido (área do pico) e a concentração do fármaco a ser quantificada foram definidas por 9 pontos. Na Figura 19 é apresentada a curva analítica construída no intervalo de 50 a 10.000 $\mu\text{g DCF L}^{-1}$ com sua respectiva equação de regressão linear e o coeficiente de determinação.

Figura 19 – Curva analítica de 50 a 10.000 $\mu\text{g DCF L}^{-1}$.

Obteve-se um gráfico da concentração residual de DCF por tempo de tratamento fotocatalítico (Figura 20), em triplicata. As amostras foram deixadas no escuro por 30 min antes de serem irradiadas. A adsorção do fármaco no TiO_2 foi de apenas 2,6%, indicando que a diminuição observada na concentração do DCF aconteceu pelo processo fotocatalítico e não pela adsorção na superfície do fotocatalisador. Os resultados obtidos mostraram que a degradação seguiu o modelo cinético de Langmuir-Hinshelwood ($R^2 = 0,95$) com $k = (2,3 \pm 0,070) \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1} \text{min}^{-1}$ e $K = (2,1 \pm 0,17) \times 10^{-4} \text{L } \mu\text{g}^{-1}$. A concentração de DCF foi reduzida de 20 mg L^{-1} ($20.000 \mu\text{g L}^{-1}$) para $40 \mu\text{g L}^{-1}$ em 30 min de tratamento, em média.

Figura 20 – Cinética de degradação do DCF via fotocatalise heterogênea.

Na Figura 21 são apresentados os cromatogramas obtidos por CLAE-DAD para os diferentes tempos de irradiação, onde observam-se a redução do pico do DCF, devida à degradação do fármaco ao longo do tratamento, e a aparição de outros picos relacionados com a formação de intermediários de oxidação.

Figura 21 – Cromatogramas do DCF para diferentes tempos de irradiação por fotocatalise: (a) DCF e (b) intermediários formados.

Comparando-se os resultados obtidos com alguns trabalhos anteriores, verifica-se que a eficiência do tratamento fotocatalítico foi boa, já que a concentração inicial do DCF foi reduzida num 99% aproximadamente, em apenas 30 min de irradiação. Calza et al. (2006) relataram a completa degradação do fármaco após 1 h de irradiação, para uma concentração inicial de 15 mg DCF L^{-1} usando $0,2 \text{ g TiO}_2 \text{ L}^{-1}$, uma lâmpada de 1.500 W e fluxo contínuo de O_2 . Méndez-Arriaga, Esplugas e Giménez (2008), empregando uma concentração inicial de DCF de 200 mg L^{-1} , conseguiram uma degradação de 98% após 4 h de tratamento usando $0,1 \text{ g TiO}_2 \text{ L}^{-1}$, $40 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ e uma lâmpada de 1.000 W Xe-OP . Achilleos et al. (2010) relataram uma degradação de 46% em 60 min de tratamento, numa concentração inicial de 20 mg DCF L^{-1} e $0,25 \text{ g TiO}_2 \text{ L}^{-1}$, usando uma lâmpada de 9 W .

Para se verificar o efeito da fotólise no processo de degradação do fármaco, foram realizados ensaios de irradiação sem a adição do catalisador, em triplicata. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 22, sendo que após 12,5 min não foi detectada concentração residual alguma de DCF. Foi ajustado um modelo de ordem zero aos dados obtidos ($R^2 = 0,96$) com constante de velocidade $k = (2,7 \pm 0,070) \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

Figura 22 – Degradação do DCF via fotólise.

Verifica-se que a fotólise foi significativa na degradação do DCF, sendo que a concentração do DCF foi diminuída a aproximadamente $70 \mu\text{g L}^{-1}$ em apenas 12,5 min de tratamento. A decomposição rápida do DCF na fotólise sugere uma contribuição importante desta reação no processo fotocatalítico. Também foi observado que a solução transparente inicial de DCF mudou de cor durante a fotólise tomando uma coloração amarela clara no final dos experimentos. Analisando-se os resultados obtidos, pode-se concluir que a degradação por fotólise tem uma influência importante devido ao espectro de absorção do DCF, que se sobrepõe ao espectro de emissão da lâmpada usada na faixa de 200–400 nm (Figura 23).

Figura 23 – Sobreposição do espectro de emissão da lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão ao espectro de absorção do DCF aquoso (200-400 nm).

Na Figura 24 são apresentados os cromatogramas obtidos por CLAE-DAD para diferentes tempos de radiação, onde se observa a diminuição do pico do DCF e a aparição de outros picos relacionados com a formação de subprodutos de oxidação. Verifica-se que, aparentemente, foram formadas substâncias diferentes das da fotocatalise, indicando, possivelmente, diferentes rotas de degradação.

Figura 24 – Cromatogramas do DCF para diferentes tempos de fotólise: (a) DCF e (b) intermediários formados.

Mesmo não se podendo comparar diretamente os dois processos estudados, ficou claro que a fotólise, para a degradação do DCF, é mais eficiente do que a fotocatalise heterogênea (TiO_2), já que o tempo para tal caiu à metade, aproximadamente.

Esse comportamento também foi relatado por Méndez-Arriaga, Esplugas e Giménez (2008), que observaram uma degradação do DCF de 95% via fotólise, após 4 h de irradiação. Esse fato também foi atribuído à sobreposição do espectro de absorção do DCF com o espectro de emissão da lâmpada de Xe usada no tratamento. Por outro lado, Rizzo et al. (2009), relataram que o experimento fotolítico não resultou em nenhuma decomposição significativa do DCF, em 120 min de irradiação, já que, a máxima emissão da lâmpada usada não se sobrepôs ao espectro de absorção do DCF. Calza et al. (2006) também não detectaram fotólise significativa em 90 min de tratamento.

5.3 Mineralização

O grau de mineralização foi determinado por análises de COD (Carbono Orgânico Dissolvido). Não houve mineralização significativa do DCF após 30 min de irradiação, em nenhum dos processos estudados. Isso demonstra a formação de produtos mais resistentes à degradação que o próprio DCF.

Analizando-se esses resultados e as investigações anteriormente citadas, nota-se que nesses diferentes trabalhos foi atingida uma boa mineralização do fármaco via fotocatalise heterogênea, porém usando-se tempos de irradiação maiores, a adição de H_2O_2 como aceptor de elétrons, ou lâmpadas com uma potência maior.

No trabalho de Méndez-Arriaga, Esplugas e Giménez (2008), os autores observaram uma remoção de 70% de COT após 4 h de irradiação, usando-se 200 mg DCF L^{-1} , 0,1 g TiO_2 L^{-1} e uma lâmpada de 1.000 W. Achilleos et al. (2010) relataram uma redução do COT de 80% e 47% com e sem a adição de H_2O_2 (1,4 mmol L^{-1}), respectivamente, depois de 120 min irradiação, utilizando-se 20 mg DCF L^{-1} ,

1 g $\text{TiO}_2 \text{ L}^{-1}$ e uma lâmpada de 9 W. Rizzo et al. (2009) atingiram uma remoção de COD de 51% após 120 min de tratamento, para uma concentração inicial de 20 mg DCF L^{-1} e 0,4 g $\text{TiO}_2 \text{ L}^{-1}$, usando-se uma lâmpada fluorescente de luz negra (125 W). Calza et al. (2006) relataram a mineralização do DCF após 2 horas de irradiação para uma concentração inicial de 15 mg DCF L^{-1} , usando-se 0,2 g $\text{TiO}_2 \text{ L}^{-1}$ e uma lâmpada de 1.500 W.

Observa-se que os resultados obtidos de mineralização via fotólise concordam com os relatados na literatura (baixa mineralização). Méndez-Arriaga, Esplugas e Giménez (2008) observaram uma remoção de 25% de COT após 4 h de irradiação. Achilleos et al. (2010), com uma concentração inicial de 10 mg DCF L^{-1} , realizaram a fotólise com e sem H_2O_2 , obtendo uma redução do COT de 10% e 15%, respectivamente, após 120 min de reação. Na pesquisa realizada por Agüera et al. (2005), embora a concentração inicial de DCF diminuiu 70% nas primeiras 30 h de irradiação, não houve mineralização alguma.

5.4 Identificação de intermediários de degradação por LC-MS/MS

Tentou-se identificar os subprodutos de degradação gerados durante os tratamentos fotocatalítico e fotolítico, tendo-se em conta seu comportamento cromatográfico, a sua evolução no tempo e a análise dos espectros de MS e MS^2 .

5.4.1 Amostras degradadas fotocataliticamente

Primeiramente, analisou-se uma amostra da água utilizada no preparo das soluções de DCF (branco). Como notado na Figura 25, nenhuma banda foi observada.

Figura 25 – Análise cromatográfica da água empregada no preparo das soluções de DCF (branco): (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

(a)

(b)

Da mesma forma, o cromatograma de íons totais, o espectro de massas e o cromatograma em 278 nm da análise da amostra inicial de DCF (20 mg L^{-1}) são apresentados na Figura 26. O cromatograma de íons totais apresenta a banda do DCF no tempo de retenção de 9,58 min e isso é confirmado pela presença do íon molecular de massa/carga (m/z) igual a 294, no seu respectivo espectro de massas, já que o DCF possui a massa molar de 295 g mol^{-1} .

Foram feitos experimentos de fragmentação (MS^2) para a confirmação do DCF. Na Figura 27 é mostrado o espectro de íons fragmentos para este composto (m/z 294) e na Figura 28 está ilustrado o mecanismo de fragmentação proposto. Algumas perdas características são observadas: descarboxilação (perda de CO_2) do íon molecular (m/z 294), formando um fragmento com m/z 250; perda de cloreto de hidrogênio (HCl), formando um fragmento com m/z 214; e novamente uma perda de HCl , formando um fragmento com m/z 178.

Figura 26 – Análise cromatográfica da solução inicial de DCF: (a) TIC (cromatograma de íons totais), (b) espectro de massas da banda em 9,6 minutos e (c) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

(a)

(b)

(c)

Figura 27 – Espectro de íons fragmentos do DCF (m/z 294).

Figura 28 – Mecanismo de fragmentação proposto para o DCF.

Estando as condições cromatográficas estabelecidas para a solução inicial de DCF, foram realizadas as análises das demais amostras degradadas por fotocatalise. Nessas análises, foi observado que, após 2,5 min de irradiação, as amostras apresentaram o mesmo perfil, achando os mesmos intermediários de degradação em todos os tempos estudados. Posteriormente, entre as amostras estudadas foi escolhida uma amostra representativa para a realização dos experimentos de fragmentação (MS^2), realizados para a confirmação das estruturas encontradas. No entanto, para simplificar a apresentação dos resultados, a continuação, são mostrados os dados obtidos para cada amostra incluindo os dados das análises de fragmentação para os compostos encontrados.

Assim, na identificação dos subprodutos do DCF formados após 2,5 min de irradiação, foram obtidos os cromatogramas e o espectro de massas apresentados na Figura 29. A banda observada em 3,85 min corresponde ao produto de degradação com m/z 310 (como ilustrou o espectro de massas); da mesma forma, a banda em 9,6 min corresponde ao DCF. A diferença de massa molecular entre o DCF (295 Da) e o produto observado de 311 Da é exatamente 16 Da, provavelmente relacionada à hidroxilação do composto inicial.

Figura 29 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 2,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais); (b) XIC (cromatograma de íon extraído) de m/z 310; (c) espectro de massas da banda em 3,85 min; e (d) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

(a)

(b)

(c)

(d)

A hidroxilação do DCF justifica a diminuição do tempo de retenção do composto formado, uma vez que a molécula torna-se mais polar com a introdução de um hidroxila. Para a identificação do composto com m/z 310, foram feitas análises de fragmentação, sendo observados íons fragmentos de m/z 266, 230 e 194, conforme apresentado na Figura 30.

Figura 30 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 2,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) espectro de fragmentação da molécula de m/z 310.

(a)

(b)

A descarboxilação da molécula de m/z 310 levaria ao íon de m/z 266, a perda de HCl levaria ao íon de m/z 230, e novamente a perda de HCl levaria ao íon m/z 194, conforme apresentado na proposta de fragmentação para o novo composto formado (Figura 31).

Figura 31 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 310.

Embora a informação analítica disponível não permita prever a posição do ataque do radical $\cdot OH$, considerações sobre a reatividade dos diferentes sítios na molécula de DCF e a dados da literatura sugerem a hidroxilação na posição 5 como a opção mais provável. Os radicais $\cdot OH$ são pouco seletivos e são espécies oxidan-

tes eletrofílicas. Com base neste caráter eletrofílico e de acordo com a teoria dos orbitais de fronteira, os sítios com a maior densidade eletrônica no orbital molecular ocupado mais alto (HOMO) no estado fundamental, são os mais susceptíveis para serem atacados pelos radicais hidroxila (FUKUI et al., 1954). Vogna et al. (2004) estudaram os coeficientes HOMO e a densidade de carga total, prevendo uma maior reatividade da unidade fenilacético a espécies eletrofílicas. As posições 5 e 4' têm os coeficientes HOMO mais altos, sendo a posição 4' a mais reativa por estar na posição *para* em relação ao substituinte NH no anel aromático mais eletronicamente rico.

Por outro lado, na análise da amostra irradiada por 5 min, foram obtidos os cromatogramas apresentados na Figura 32, nos quais, além das bandas em 9,59 min (DCF) e 3,77 min (correspondente ao composto com m/z 310), também é notado o aparecimento de uma nova banda em 6,22 min.

Figura 32 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

(a)

(b)

Na Figura 33 pode-se observar a presença do novo produto de m/z 258 no tempo de retenção de 6,22 min, indicando a formação de outro subproduto mais polar do que o DCF, uma vez que apresenta um tempo de retenção menor. Os espec-

tros de fragmentação do composto de m/z 258 e 326 são apresentados na Figura 34.

Figura 33 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) XIC (cromatograma de íon extraído) de m/z 258 e (b) espectro de massas do composto de m/z 258.

(a)

(b)

Figura 34 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) espectro de fragmentação da molécula de m/z 258; (c) TIC e (d) espectro de fragmentação da molécula de m/z 326.

(a)

(b)

(c)

(d)

A diferença de massa molecular entre o DCF (295 Da) e o composto em questão (327 Da) é exatamente 32 Da, provavelmente relacionada à uma dupla hidroxilação desse composto. A perda de C_4H_4O levaria à formação do íon de m/z 258 e a perda posterior de CO_2 levaria à formação do íon de m/z 214, conforme mostrado na proposta de fragmentação (Figura 35).

Figura 35 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 326.

Após 5 min de tratamento, foram formados os mesmos intermediários de oxidação (m/z 310 e 326). Sendo assim, foi escolhida a amostra irradiada por 7,5 min para a realização dos experimentos de fragmentação. Nessas análises, além dos compostos anteriormente mencionados, observou-se um composto com m/z 276 (Figura 36).

A diferença de massa molecular entre o DCF (295 Da) e esse composto (277 Da) é de 18 Da. Com o experimento de fragmentação, o composto foi caracterizado

como um produto de degradação do DCF após à perda de um átomo de cloro e a hidroxilação do composto inicial. Analisando-se o espectro da Figura 36, observa-se que a perda de água na composto de m/z 276 levaria ao íon de m/z 258 e a perda posterior de C_2H_2 levaria ao íon de m/z 230, conforme apresentado na Figura 37.

Figura 36 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 7,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) espectro de fragmentação do composto de m/z 276.

Figura 37 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 276.

A Figura 38 apresenta a variação da área dos picos cromatográficos referentes aos diferentes intermediários identificados e ao DCF, em função do tempo de tratamento. Pode-se observar que a concentração do composto com massa molecular 327 Da alcançou um máximo em 15 min, após o que decresceu até ser aproximadamente zero em 30 min de irradiação. Esse composto foi formado em quantidades apreciáveis durante a maior parte do processo degradativo, quando comparado com os demais intermediários. Após 2,5 min de tratamento, foi formado o produto de massa molecular 277 Da, mas em concentrações consideravelmente menores, alcançan-

do sua máxima concentração entre 5 e 10 min de tratamento. Em seguida, sua concentração diminuiu a aproximadamente zero. Por outro lado, a concentração do composto de massa molecular 311 Da aumentou monotonicamente desde o início da irradiação, sendo ele o único composto identificado após o término do tratamento (30 min). Observa-se que a concentração do DCF diminuiu durante todo o processo, até aproximadamente zero, confirmando a degradação do fármaco. Com base nesses resultados, um mecanismo (inicial) de degradação do DCF é exibido na Figura 39.

Figura 38 – Variação da área dos picos cromatográficos referentes às substâncias de massas moleculares 295, 311, 277 e 327 Da, em função do tempo de irradiação.

Figura 39 – Mecanismo (inicial) proposto de degradação do DCF via fotocatalise heterogênea.

Assim, de maneira geral, pelas análises de LC-MS/MS, foram identificados três intermediários de degradação do DCF via fotocatalise heterogênea, conforme apresentando na Tabela 9 e na Figura 39.

Tabela 9 – Intermediários identificados na degradação do DCF via fotocatalise heterogênea.

Compostos	Massa Molecular (Da)	[M-H] ⁻	MS ²
DCF	295	294	250, 214, 178
1	311	310	266, 230, 194
2	327	326	258, 214
3	277	276	258, 232

Os intermediários mostrados na Figura 39 sugerem que a degradação inicial do DCF aconteceu pelo ataque de radicais $\cdot OH$ ao anel aromático, levando ao derivado monohidroxilado (1), que foi oxidado ainda mais pelo ataque adicional de radicais $\cdot OH$, formando o derivado dihidroxilado (2). Paralelamente, foi formado um composto ori-

undo da perda de um átomo de cloro do DCF hidroxilado (3). O composto 5-hidroxi-diclofenaco é um dos metabólitos do DCF, identificado em estudos em ratos e humanos e que é relacionado a lesões no fígado causadas pela utilização desse fármaco (POON et al., 2001). Esses compostos têm sido relatados por outros autores na degradação do DCF por ozonização, foto-Fenton, decomposição catalítica (heterogênea) do H_2O_2 , UV/ H_2O_2 , sonólise, fotocatalise heterogênea (TiO_2) e fotólise solar (Tabela 10). Não foram identificados compostos produzidos a partir da quebra da ligação C–N na molécula de DCF, talvez pelo curto tempo de tratamento.

Considerando-se a remoção de DCF obtida, seus subprodutos de degradação e a pouca mineralização atingida durante o tratamento, pode-se concluir que, na fotocatalise, o DCF foi eficientemente degradado, mas não mineralizado. Isso é explicado porque o processo principal observado foi a geração de intermediários hidroxilados, sem que a quebra da molécula acontecesse. Esse fato indica a necessidade de se aumentar o tempo de irradiação caso a mineralização do fármaco seja desejada/necessária.

Tabela 10 – Estrutura química dos intermediários identificados e respectivas referências bibliográficas.

Composto	Estrutura química	Referências
(1)		Vogna et al. (2004) Pérez-Estrada et al. (2005) Calza et al. (2006) Hofmann et al. (2007) Hartmann et al. (2008) Coelho et al. (2009)
(2)		Calza et al. (2006) Coelho et al. (2009)
(3)		Vogna et al. (2004)

5.4.2 Amostras degradadas fotoliticamente

Para a identificação dos subprodutos de oxidação via fotólise, foi realizado o mesmo procedimento das amostras da fotocatalise, analisando-se primeiro por LC-MS as amostras para todos os tempos de tratamento e posteriormente realizando-se os experimentos de fragmentação com uma amostra representativa.

Na análise da amostra da água utilizada no preparo das soluções de DCF (branco), não foi observada banda alguma (Figura 40). Já na análise da amostra inicial, foi identificada a banda em 7,21 min, correspondente ao DCF (m/z 294) (Figura 41).

Figura 40 – Análise cromatográfica da água empregada no preparo das soluções de DCF (branco): (a) TIC (cromatograma de íons totais), (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

(a)

(b)

Figura 41 – Análise cromatográfica da solução inicial de DCF: (a) TIC (cromatograma de íons totais); (b) espectro de massas da banda em 7,21 min; e (c) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

Para a amostra com 2,5 min de tratamento, foram obtidos os cromatogramas de íons totais e o espectro de massas da banda em 7,24 min (correspondente ao DCF) e em 5,63 min (correspondente ao primeiro subproduto de degradação do DCF, de m/z 258) (Figura 42). Para a identificação do composto de m/z 258, foram feitas análises de fragmentação (Figura 43).

Figura 42 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 2,5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais); (b) espectro de massas da banda em 5,63 min; (c) espectro de massas da banda em 7,24 min; e (d) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

(a)

(b)

(c)

(d)

Figura 43 – Espectro da fragmentação da banda de m/z 258.

A diferença de massa molecular entre o DCF (295 Da) e o produto identificado (259 Da) é exatamente 36 Da, provavelmente relacionada à perda de HCl. O espectro de íons fragmentação apresentou íons de m/z 214 e 178, conforme mostrado na Figura 43. A descarboxilação da molécula de m/z 258 levaria ao íon de m/z 214 e a perda de HCl levaria ao íon de m/z 178 (Figura 44).

Figura 44 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 258.

Para a amostra com 5 min de tratamento, foram obtidos os cromatogramas da Figura 45. Nessa análise, foram observadas as bandas em 7,29 min (correspondente ao DCF) e em 5,6 min (correspondente ao composto de m/z 258). Além disso, observou-se a presença de novas bandas em 1,77, 2,91, 2,75 e 3,36 min, relacionados ao aparecimento de novos intermediários de degradação. As novas bandas foram analisadas e geraram os XIC (cromatogramas de íon extraído) e os respectivos espectros de massas apresentados na Figura 46. As bandas que mais se destacaram foram os de tempo de retenção 1,77, 2,75 e 2,91 min, referentes a compostos de m/z 160, 254 e 240, respectivamente. Para a melhor identificação das bandas, experimentos de fragmentação foram então realizados (Figura 47).

Figura 45 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) TIC (cromatograma de íons totais) e (b) CLAE-DAD (detecção em 278 nm).

(a)

(b)

Figura 46 – Análise cromatográfica da solução de DCF após irradiação por 5 min: (a) XIC (cromatograma de íon extraído) do composto de m/z 240; (b) espectro de massas do composto de m/z 240; (c) XIC do composto de m/z 160; (d) espectro de massas do composto de m/z 160; (e) XIC do composto de m/z 254; e (f) espectro de massas do composto de m/z 254.

(a)

(b)

(c)

(d)

(e)

(f)

Figura 47 – Espectro de fragmentação dos compostos de m/z: (a) 160, (b) 254 e (c) 240.

(a)

(b)

(b)

(c)

O espectro de fragmentação para o composto de m/z 254, apresentou íons de m/z 210 e 182. A diferença de massa molecular entre o DCF (295 Da) e o composto de 255 Da é exatamente 40 Da, provavelmente devida à perda dos dois átomos de cloro e à adição um grupo hidroxila e um oxigênio na molécula do DCF. A descarboxilação da molécula de m/z 254 levaria ao íon de m/z 210 e a perda posterior de uma molécula de monóxido de carbono, levaria ao íon de m/z 182, conforme apresentado na proposta de fragmentação para este composto (Figura 48).

Figura 48 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 254.

O espectro de fragmentação para o composto de m/z 240 mostrou íons de m/z 196 e 168. A diferença de massa molecular entre o DCF (295 Da) e o composto de 241 Da é exatamente 54 Da. Com o experimento de fragmentação o composto foi caracterizado como um produto de degradação do DCF após a perda dos dois átomos de cloro e a hidroxilação do composto. A descarboxilação da molécula de m/z 240 levaria ao íon de m/z 196 e a perda posterior de uma molécula de monóxido de carbono levaria ao íon de m/z 168, conforme apresentado na proposta de fragmentação para este composto (Figura 49).

Figura 49 – Mecanismo de fragmentação proposto para a molécula de m/z 240.

Nas análises cromatográficas das amostras irradiadas com tempos maiores não foram identificados picos adicionais.

Na Figura 50 é mostrada a variação da área dos picos cromatográficos referentes aos intermediários identificados e ao DCF, com o tempo de irradiação. Pode-se notar que a área da banda do composto com massa molecular 259 Da aumentou até atingir um máximo em 5 min, sendo este subproduto encontrado em maior concentração no início do processo degradativo. Seu aparecimento rápido e abundante indica a formação da ligação entre os carbonos 6 e 6', com a consequente formação de um anel, como a rota preferencial que origina uma série de compostos que tem como unidade básica o carbazol. O pico do composto de massa molecular 241 Da também aumentou entre 5 e 15 min, aproximadamente, diminuindo depois até ficar quase constante até o final do tratamento. As concentrações dos compostos com massa molecular 255 e 161 Da se mantiveram baixas durante todo o processo. Pode-se observar que o DCF foi degradado nos primeiros 15 min de tratamento, aproximadamente duas vezes mais rapidamente do que com a fotocatalise. Diferentemente da fotocatalise, também, foram formados outros intermediários, cujas concentrações ficaram reduzidas ao final de 30 min.

Figura 50 – Variação da área dos picos cromatográficos referentes às substâncias de massas moleculares 295, 259, 241, 255 e 161 Da em função do tempo de irradiação.

Em resumo, após as análises de LC-MS/MS, foram identificados quatro subprodutos de degradação do DCF por fotólise, conforme apresentando na Tabela 11. Com base na Figura 50, propõe-se um mecanismo inicial de degradação fotolítica, mostrado na Figura 51.

Tabela 11 – Intermediários de degradação do DCF identificados via fotólise.

Produtos	Massa Molecular (Da)	[M-H] ⁻	MS ²
DCF	295	294	250, 214, 178
1	259	258	214, 178
3	241	240	196, 168
2	255	254	210, 182
4	161	160	

Figura 51 – Mecanismo (inicial) de degradação do DCF proposto via fotólise.

Os produtos mostrados na Figura 51 surgiram da rota principal de degradação, resultante da perda de cloro e da formação de uma ligação carbono-carbono entre anéis gerando o carbazol (1) como unidade básica. Os produtos posteriores foram formados através de uma maior degradação desse intermediário, obtendo-se um produto proveniente da hidroxilação da molécula (2) e mais um intermediário quinona-imina resultante da hidroxilação da porção ácido fenilacético do DCF (3). Também, observa-se a formação de um composto gerado da quebra de uma das ligações N–C (4). Assim, na fotólise a transformação do DCF é devida principalmente à formação de derivados do carbazol. Esses compostos têm sido relatados frequentemente (Tabela 12).

Tabela 12 – Estrutura química dos intermediários identificados e respectivas referências bibliográficas.

Composto	Estrutura química	Identificação previa
(1)		Argüera et al. (2005)
(2)		Argüera et al. (2005)
(3)		—
(4)		Vogna et al. (2004) Pérez-Estrada et al. (2005) Bartels e von Tümpling (2007) Hartmann et al. (2008) Coelho et al. (2009)

Agüera et al. (2005) observaram que a fotólise do DCF ocorreu via duas rotas principais: a ciclização do DCF em derivados carbazol e a descarboxilação inicial do DCF com a oxidação adicional da cadeia alquílica, que são reações típicas de processos fotolíticos. Quando compara-se os resultados obtidos neste trabalho com o de Agüera et al. (2005), observa-se que a quantidade de intermediários identificados foi menor (provavelmente pela menor concentração inicial de DCF e o menor tempo de irradiação usados) e que a segunda rota proposta por esses autores não foi observada, embora os intermediários tenham sido identificados por GC/MS.

5.5 Ensaios ecotoxicológicos

Além da degradação do DCF, há de se verificar se houve remoção ou geração de ecotoxicidade ou se esta permaneceu inalterada. Sendo assim, os ensaios ecotoxicológicos são uma ferramenta muito importante e constituem os meios para se determinar a real eficiência de um tratamento.

5.5.1 Ensaio de ecotoxicidade aguda com *Daphnia similis*

Embora o organismo-teste comumente usado para avaliar a ecotoxicidade aguda para ecossistemas aquáticos de água doce seja a *Daphnia magna*, este é um organismo que não se distribui naturalmente no Brasil, sendo somente encontrado nos corpos de água doce temperadas dos Estados Unidos e Canadá. Portanto, o uso da espécie *Daphnia similis* é mais adequado porque é um organismo de regiões tropicais, podendo fornecer dados mais representativos quanto à ecotoxicidade que a amostra apresentaria à fauna aquática dos corpos receptores no Brasil.

Na Figura 52 estão apresentados os resultados obtidos no ensaio de ecotoxicidade aguda (48 h) com a amostra inicial de DCF, em termos da porcentagem de mortalidade em cada diluição da amostra. A solução inicial de DCF apresentou uma $CL_{50} = 3,36^{+1,12}_{-0,84}$ mg L⁻¹. Este dado indica que uma solução de concentração inicial de 20 mg DCF L⁻¹ apresenta uma ecotoxicidade elevada e levaria à mortalidade da totalidade dos organismos testados, como mostrado na Figura 52.

Figura 52 – Mortalidade (%) do organismos-teste (*D. similis*) em função da concentração de DCF.

Na Figura 53 são apresentados os resultados obtidos no ensaio de ecotoxicidade das amostras após 30 min de tratamento via fotocatálise e fotólise. No teste foi observado que os dois tratamentos removeram a toxicidade da amostra inicial. Comparando-se esses resultados com os dados observados na análise por LC-MS/MS, pode-se observar que, no caso da fotocatálise, o subproduto de massa molecular 311 Da presente no final do processo não apresentou ecotoxicidade à *D. similis* na concentração gerada. No caso da fotólise, os intermediários identificados foram praticamente degradados, sendo de se esperar o comportamento observado (remoção) da ecotoxicidade.

Figura 53 – Mortalidade (%) do organismos-teste (*D. similis*) em função da amostra estudada.

Os dois processos avaliados foram eficientes não só na remoção do DCF mas também da ecotoxicidade aguda da amostra inicial ao organismo-teste *D. similis*. Comparando-se os resultados obtidos com trabalhos da literatura, verifica-se que na pesquisa realizada por Achilleos et al. (2010), os autores avaliaram a ecotoxicidade a *Daphnia magna* de uma amostra inicial de 10 mg DCF L⁻¹ e de amostras tratadas em diferentes tempos (15, 30, 60 e 120 min) por fotocatalise heterogênea (0.5 g TiO₂ L⁻¹). A amostra inicial não apresentou ecotoxicidade ao organismo-teste, mas as amostras tratadas, sim. No trabalho desenvolvido por Rizzo et al. (2009), usando-se uma concentração inicial de DCF de 20 mg L⁻¹ e uma dosagem de TiO₂ de 0,4 g L⁻¹, a amostra tratada não apresentou toxicidade.

5.5.2 Ensaio de ecotoxicidade aguda com sementes de alface (*Lactuca sativa*)

No teste com *L. sativa*, a amostra inicial não apresentou ecotoxicidade. As amostras tratadas via fotocatalise e fotólise (30 min) também não apresentaram toxicidade, obtendo-se bons índices de germinação para ambas as amostras, como mostrado na Figura 54.

Figura 54 – Índice de germinação (%) nas diferentes amostras testadas.

Isso é importante porque os tratamentos estudados não só foram eficientes na degradação do fármaco como também removeram a ecotoxicidade do DCF, sem gerar ecotoxicidade adicional, pelo menos com um tempo de 30 min. Da mesma forma, observa-se que o índice de germinação aumentou após os dois tratamentos, indicando que foi gerado como subproduto de tratamento, compostos que serviram como nutrientes para a germinação das sementes.

6. CONCLUSÕES

A utilização da técnica de planejamento experimental foi importante, uma vez que se analisou a influência de vários parâmetros operacionais do processo da fotocatalise heterogênea, minimizando-se os erros sistemáticos e a quantidade de experimentos, validando-se estatisticamente os resultados.

O ponto ótimo de tratamento, obtido por meio da técnica de planejamento de experimentos, foi: concentração inicial de 20 DCF mg L^{-1} , 0,5 g $\text{TiO}_2 \text{L}^{-1}$, pH 5, oxigênio como aceptor de elétrons e o fotocatalisador P25 da Evonik.

A partir dos dados obtidos, pode-se concluir que tanto a fotocatalise heterogênea como a fotólise direta do DCF aquoso são eficazes em termos da degradação do DCF, sem geração de ecotoxicidade aos organismos testados (*D. similis* e *L. sativa*). Na fotocatalise a concentração de DCF foi reduzida em 99% em 30 min de tratamento e na fotólise em apenas 12,5 min. Não houve uma mineralização significativa do fármaco em nenhum dos processos avaliados. Assim, o tratamento fotolítico foi mais vantajoso quando comparado com o processo fotocatalítico, já que a degradação ocorreu mais rapidamente e sem ter o gasto adicional do fotocatalisador e de possíveis operações unitárias de separação sólido-líquido.

Na degradação do DCF, o processo fotocatalítico principal foi a hidroxilação. No processo fotolítico a rota principal foi a formação de derivados carbazol, sendo que também foi observada a quebra da ligação C–N.

As reações fotocatalíticas e fotolíticas são frequentemente complexas, envolvendo diferentes rotas e levando a diversos produtos de reação que podem ser mais tóxicos do que o composto inicial. Assim, a identificação dos produtos de transformação e a elucidação das rotas de reação são importantes no entendimento do seus efeitos no ambiente aquático.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHILLEOS, A.; HAPESHI, E.; XEKOUKOULOTAKIS, N. P.; MANTZAVINOS, D.; FATTA-KASSINOS, D. Factors affecting diclofenac decomposition in water by UV-A/ TiO_2 photocatalysis. **Chemical Engineering Journal**, v. 161, n. 1–2, p. 53–59, 2010.
- AGÜERA, A.; PÉREZ ESTRADA, L. A.; FERRER, I.; THURMAN, E. M.; MALATO, S.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Application of time-of-flight mass spectrometry to the analysis of phototransformation products of diclofenac in water under natural sunlight. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 40, n. 7, p. 908–915, 2005.
- AL-EKABI, H.; SERPONE, N. Kinetic studies in heterogeneous photocatalysis. 1. Photocatalytic degradation of chlorinated phenols in aerated aqueous solutions over TiO_2 supported on a glass matrix. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 92, n. 20, p. 5726–5731, 1988.
- ASANO, T.; COTRUVO, J. A. Groundwater recharge with reclaimed municipal wastewater: health and regulatory considerations. **Water Research**, v. 38, n. 8, p. 1941–1951, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 12713**: Ecotoxicologia aquática. Toxicidade aguda. Método de ensaio de toxicidade com *Daphnia* spp. (crustacea, cladocera). Rio de Janeiro, 2009. p. 1–27.
- BARTELS, P.; VON TÜMPLING, W. Solar radiation influence on the decomposition process of diclofenac in surface waters. **Science of the Total Environment**, v. 374, n. 1, p. 143–155, 2007.
- BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A. Aplicação dos ensaios ecotoxicológicos e legislação pertinente. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.) **Ecotoxicologia aquática**: princípios e aplicações. São Carlos: Rima, 2006. Cap. 15, p. 347–382.
- BILA, D. M.; AZEVEDO, E. B.; DEZOTTI, M. Ozonização e processos oxidativos avançados. In: DEZOTTI, M. (Ed.). **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos**. Rio de Janeiro: E-papers, 2008. p. 243–308.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523–530, 2003.
- 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.
- BOYD, G.; REEMTSMA, H.; GRIMM, A.; MITRA, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. **Science of the Total Environment**, v. 311, n. 1–3, p. 135–149, 2003.

CALZA, P.; SAKKAS, V.; MEDANA, C.; BAIOCCHI, C.; DIMOU, A.; PELIZZETTI, E.; ALBANIS, T. Photocatalytic degradation study of diclofenac over aqueous TiO₂ suspensions. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 67, n. 3, p. 197–205, 2006.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; LLOMPART, M.; GARCÍA-JARES, C.; RODRÍGUEZ, I.; GÓMEZ, M.; TERNES, T. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. **Water Research**, v. 38, n. 12, p. 2918–26, 2004.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M. Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment. **Water Research**, v. 39, n. 19, p. 4790–4796, 2005.

CHEN, H.-C.; WANG, P.-L.; DING, W.-H. Using liquid chromatography–ion trap mass spectrophotometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese river and wastewaters. **Chemosphere**, v. 72, n. 6, p. 863–869, 2008.

CHRISTENSEN, F. M. Pharmaceuticals in the environment – A human risk? **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 28, n. 3, p. 212–221, 1998.

CLEUVERS, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, n. 3, p. 309–315, 2004.

COELHO, A. D.; SANS, C.; AGÜERA, A.; GÓMEZ, M. J.; ESPLUGAS, S.; DEZOTTI, M. Effects of ozone pre-treatment on diclofenac: Intermediates, biodegradability and toxicity assessment. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 11, p. 3572–3578, 2009.

DAPHNIA. Akira Sakata **Daphnia Zukan**. 2006. Disponível em: <http://daphnia-pulex.sakura.ne.jp/zukan/2006/06/post_7.html>. Acesso em: 27 maio. 2013.

DAVIS, M. E.; DAVIS, R. J. Heterogeneous Catalysis. In: LORKOVIC, M. (Ed.). **Fundamentals of chemical reaction engineering**. New York: McGraw-Hill, 2003. p. 133–183.

DREWES, J. E.; HEBERER, T.; REDDERSEN, K. Fate of pharmaceuticals during indirect potable reuse. **Water Science & Technology**, v. 46, n. 3, p. 73–80, 2002.

DOMÈNECH, X.; JARDIM, W. F.; LITTER, M. I. Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes. In: BLESÁ, M. A. (Ed.). **Eliminación de contaminantes por fotocatálisis heterogénea**. La Plata: Red CYTED VIII-G, 2001. p. 3–26.

DURAN, J. M.; LANGREO, M. Actividad biológica de algunos inhibidores naturales derivados de los ácidos benzoico y cinámico. **Anales de Edafología y Agrobiología**, v. 41, n. 3–4, p. 681–696, 1982.

FENT, K.; WESTON A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, v. 76, n. 2, p. 122–159, 2006.

FREUDENHAMMER, H.; BAHNEMANN, D. W.; BOUSSELMI, L.; GEISSEN, S.-V.; GHRABI, A.; SALEH, F.; SI-SALAH, A.; SIEMON, V.; VOGELPOHL, A. Detoxification and recycling of wastewater by solar-catalytic treatment. **Water Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 149–156, 1997.

FUKUI, K.; YONEZAWA, T.; NAGATA, C.; SHINGU, H. Molecular orbital theory of orientation in aromatic, heteroaromatic, and other conjugated molecules. **Journal of Chemical Physics**, v. 22, n. 8, p. 1433-1442, 1954.

GEORGETTI, Maísa Sanches. **Avaliação química e ecotoxicológica de efluentes químicos, visando seu reuso**. 2010. 168 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia urbana) - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

HALLING-SORENSEN, B.; NIELSEN, S. N.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; LÜZHOT, H. C. H.; JORGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357–393, 1998.

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

HARTMANN, J.; BARTELS, P.; MAU, U.; WITTER, M.; VON TÜMPLING, W.; HOFMANN, J.; NIETZSCHMANN, E. Degradation of the drug diclofenac in water by sonolysis in presence of catalysts. **Chemosphere**, v. 70, n. 3, p. 453–461, 2008.

HEBERER, T.; DÜNNBIER, U.; REILICH, C.; STAN, H.-J. Detection of drugs and drug metabolites in ground water samples of a drinking water treatment plant. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 6, n. 7–8, p. 438–443, 1997.

HEBERER, T.; STAN, H.-J. Determination of clofibric acid and N-(phenylsulfonyl)-sarcosine in sewage, river and drinking water. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 67, n. 1–4, p. 113–124, 1997.

HERRMANN, J.-M. Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. **Catalysis Today**, v. 53, n. 1, p. 115–129, 1999.

HOFMANN, J.; FREIER, U.; WECKS, M.; HOHMANN, S. Degradation of diclofenac in water by heterogeneous catalytic oxidation with H₂O₂. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 70, n. 1–4, p. 447–451, 2007.

HOLM, J. V.; RUGGE, K.; BJERG, P. L.; CHRISTENSEN, T. H. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic-compounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grindsted, Denmark). **Environmental Science & Technology**, v. 29, n. 5, p. 1415–1420, 1995.

HONG, H. N.; KIM, H. N.; PARK, K. S., LEE, S. K., GU, M. B. Analysis of the effects diclofenac has on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using real-time PCR. **Chemosphere**, v. 67, n. 11, p. 2115–2121, 2007.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, v. 13, n. 5-7, p. 361-377, 1993.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Analytical method development for the simultaneous determination of five human pharmaceuticals in water and wastewater samples by gas chromatography-mass spectrometry. **Chromatographia**, v. 58, n. 7–8, p. 471–477, 2003.

JORGENSEN, S. E.; HALLING-SORENSEN, B. Drugs in the environment. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 691–699, 2000.

JUX, U.; BAGINSKI R. M.; ARNOLD, H.-G.; KRÖNKE, M.; SENG, P. N. Detection of pharmaceutical contaminations of river, pond, and tap water from Cologne (Germany) and surroundings. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 205, n. 5, p. 393–398, 2002.

KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. **Environment International**, v. 35, n. 2, p. 402–17, 2009.

KUMMERER, K. Drugs in the environment: Emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources — A review. **Chemosphere**, v. 45, n. 6–7, p. 957–969, 2001.

McKEON, D. M.; CALABRESE, J. P.; BISSONNETTE, G. K. Antibiotic resistant Gram-negative bacteria in rural groundwater supplies. **Water Research**, v. 29, n. 8, p. 1902–1908, 1995.

MÉNDEZ-ARRIAGA, F.; ESPLUGAS, S.; GIMÉNEZ, J. Photocatalytic degradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs with TiO₂ and simulated solar irradiation. **Water Research**, v. 42, n. 3, p. 585–94, 2008.

MILLS, A.; DAVIES, R. H.; WORSLEY, D. Water purification by semiconductor photocatalysis. **Chemical Society Reviews**, v. 22, n. 6, p. 417–425, 1993.

MOMPELAT, S.; LE BOT, B.; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environment International**, v. 35, n. 5, p. 803–14, 2009.

MORASCH, B.; BONVIN, F.; REISER, H.; GRANDJEAN, D.; ALENCASTRO, L. F.; PERAZZOLO, C.; CHÈVRE, N.; KOHN, T. Occurrence and fate of micropollutants in the Vidy Bay of Lake Geneva, Switzerland. Part II: Micropollutant removal between wastewater and raw drinking water. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 8, p. 1658–1660, 2010.

MORAIS, J. L.; SIRTORI, C.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Tratamento de chorume de aterro sanitário por fotocatalise heterogênea integrada ao processo biológico convencional. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 20-23, 2006.

MUNTER, R. Advanced oxidation processes – Current status and prospects. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry**, v. 50, n. 2, p. 59-80, 2001.

MURZIN, D. Y. On Langmuir kinetics and zero order reactions. **Catalysis Communications**, v. 9, n. 9, p. 1815–1816, 2008.

NOGUEIRA, R. F. P.; ALBERICI, R. M.; JARDIM, W. F. Heterogeneous photocatalysis: An emerging technology for remediation of VOC contaminated environments. **Ciência e Cultura**, v. 49, n. 1–2, p. 14–24, 1997.

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 69–72, 1998.

OAKS, J. L.; GILBERT, M.; VIRANI, M. Z.; WATSON, R. T.; METEYER, C. U.; RIDEOUT, B. A.; SHIVAPRASAD, H. L.; AHMED, S.; CHAUDHRY, M. J. I.; ARSHAD, M.; MAHMOOD, S.; ALI, A.; KHAN, A. A. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. **Nature**, v. 427, n. 6975, p. 630–633, 2004.

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

PAXEUS, N. Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, β -blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. **Water Science Technology**, v. 50, n. 5, p. 253–260, 2004.

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

POON, G. K.; CHEN, Q.; TEFFERA, Y.; NGUI, J. S.; GRIFFIN, P. R.; BRAUN, M. P.; DOSS, G. A.; FREEDEN, C.; STEARNS, R. A.; EVANS, D. C.; BAILLIE, T. A.; TANG, W. Bioactivation of diclofenac via benzoquinone imine intermediates — Identification of urinary mercapturic acid derivatives in rats and humans. **Drug Metabolism & Disposition**, v. 29, n. 12, p. 1608–1613, 2001.

RAVINA, M.; CAMPANELLA, L.; KIWI, J. Accelerated mineralization of the drug diclofenac via Fenton reactions in a concentric photo-reactor. **Water Research**, v. 36, n. 14, p. 3553–3560, 2002.

RIGOBELLO, E. S. **Avaliação da remoção de diclofenaco e formação de subprodutos em tratamento de água**. 2012. 259 f. Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

RIZZO, L.; MERIÇ, S.; KASSINOS, D.; GUIDA, M.; RUSSO, F.; BELGIORNO, V. Degradation of diclofenac by TiO₂ photocatalysis: UV absorbance kinetics and process evaluation through a set of toxicity bioassays. **Water Research**, v. 43, n. 4, p. 979–988, 2009.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; CONCHA-GRAÑA, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, v. 86, n. 10, p. 1040-1049, 2012.

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.

SANDERSON, H.; JOHNSON, D. J.; WILSON C. J.; BRAIN, R. A.; SOLOMON, K. R. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. **Toxicology Letters**, v. 144, n. 3, p. 383–395, 2003.

SCHEYTT, T.; MERSMANN, P.; HEBERER, T. Mobility of pharmaceuticals carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, and propyphenazone in miscible-displacement experiments. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 83, n. 1–2, p. 53–69, 2006.

SCHWARTZ, T.; KOHNEN, W.; JANSEN, B.; OBST, U. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 43, n. 3, p. 325–335, 2003.

SOBRERO, C. M.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L). In: MORALES, G. C. (Ed.). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas**: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: IDRC, 2004, p. 71–79.

SOTELO, J. L.; RODRÍGUEZ, A.; ÁLVAREZ, S.; GARCÍA, J. Removal of caffeine and diclofenac on activated carbon in fixed bed column. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, n. 7, p. 967–974, 2012.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drugs residues in sewage and natural water in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1–2, p. 135–141, 1999.

STÜLTEN, D.; ZÜHLKE, S.; LAMSHÖFT, M.; SPITELLER, M. Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. **Science of the Total Environment**, v. 405, n. 1–3, p. 310–316, 2008.

SUMPTER, J. P. Xenoendocrine disrupters — Environmental impacts. **Toxicology Letters**, v. 102–103, p. 337–342, 1998.

SURI, R. P. S.; LIU, J.; HAND, D. W.; CRITTENDEN, J. C.; PERRAM, D. L.; MULLINS, M. E. Heterogeneous photocatalytic oxidation of hazardous organic contaminants in water. **Water Environment Research**, v. 65, n. 5, p. 665–673, 1993.

TAGGART, M. A.; CUTHBERT, R.; DAS, D.; SASHIKUMAR, C.; PAIN, D. J.; GREEN, R. E.; FELTRER, Y.; SHULTZ, S.; CUNNINGHAM, A. A.; MEHARG, A. A. Diclofenac disposition in Indian cow and goat with reference to Gyps vulture population declines. **Environmental Pollution**, v. 147, n. 1, p. 60–65, 2007.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. **Processos oxidativos avançados: Conceitos teóricos**. Campinas: UNICAMP, IQ, LQA, 2004. v. 3. (Caderno Temático). Disponível em: <<http://lqa.iqm.unicamp.br>>. Acesso em: 8 out. 2011.

TERNES, T. Occurrence of drugs in German sewage treatments plants and rivers. **Water Research**, v. 32, n. 11, p. 3245–3260, 1998.

TERNES, T. (Coord.). **Poseidon Project** (EVK1-CT-2000-00047). Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirect potable water reuse. 2004. Disponível em: <<http://www.eu-poseidon.com>>. Acesso em: 27 maio 2012.

TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.-D.; SERVOS, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1–2, p. 81–90, 1999.

TRIEBSKORN, R.; CASPER, H.; SCHEIL, V.; SCHWAIGER, J. Ultrastructural effects of pharmaceuticals (carbamazepine, clofibric acid, metoprolol, diclofenac) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1405–1416, 2007.

VALENTIM, A. C. S.; DEZOTTI, M. Ensaios de toxicidade. In: DEZOTTI, M. (Ed). **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos**. Rio de Janeiro: E-papers, 2008. p. 309–360.

VIENO, N. M.; HÄRKKI, H.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 14, p. 5077–5084, 2007.

VOGELPOHL, A.; KIM, S.-M. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in wastewater treatment. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 33–40, 2004.

VOGNA, D.; MAROTTA, R.; NAPOLITANO, A.; ANDREOZZI, R.; D' ISCHIA, M. Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H₂O₂ and ozone. **Water Research**, v. 38, n. 2, p. 414–422, 2004.

WEBB, S.; TERNES, T.; GIBERT, M.; OLEJNICZAK, K. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. **Toxicology Letters**, v. 142, n. 3, p. 157–167, 2003.

WEIGEL, S.; BERGER, U.; JENSEN, E.; KALLENBORN, R.; THORESEN, H.; HUHNERFUSS, H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. **Chemosphere**, v. 56, n. 6, p. 583–592, 2004.

ZHANG, Y.; GEIßEN, S.-U.; GAL, C. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. **Chemosphere**, v. 73, n. 8, p. 1151–1161, 2008.

ZIOLLI, R. L.; JARDIM, W. F. Mecanismo de fotodegradação de compostos orgânicos catalisada por TiO_2 . **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 319-325, 1998.

ZUCCATO, E.; CALAMARI, D.; NATANGELO, M.; FANELLI, R. Presence of therapeutic drugs in the environment. **The Lancet**, v. 355, n. 9217, p. 1789–1790, 2000.