

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA ENGENHARIA AMBIENTAL

Rodrigo Maia Valença

**Avaliação da Eficiência da Remoção do Etilparabeno por Adsorção em  
Carvão Ativado e em Bagaço de Cana e Testes de Toxicidade com  
Organismos Zooplanctônicos de Água Doce.**

Versão Corrigida

São Carlos – SP

2020

Rodrigo Maia Valença

Avaliação da Eficiência da Remoção do Etilparabeno por Adsorção em Carvão Ativado e em Bagaço de Cana e Testes de Toxicidade com Organismos Zooplancctônicos de Água Doce.

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Eny Maria Vieira

São Carlos – SP

2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,  
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS  
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da  
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

M152a Maia Valença, Rodrigo  
Avaliação da Eficiência da Remoção do  
Etilparabeno por Adsorção em Carvão Ativado e em Bagaço  
de Cana e Testes de Toxicidade com Organismos  
Zooplancctônicos de Água Doce / Rodrigo Maia Valença;  
orientadora Eny Maria Vieira. São Carlos, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Programa de  
Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da  
Engenharia Ambiental -- Escola de Engenharia de São  
Carlos da Universidade de São Paulo, 2020.

1. Etilparabeno. 2. Carvão Ativado. 3. Bagaço de  
cana. 4. Adsorção. 5. Daphnia similis. 6. Ceriodaphnia  
silvestrii. I. Título.

## FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **RODRIGO MAIA VALENÇA**.

Título da dissertação: "Avaliação da eficiência da remoção do etilparabeno por adsorção em carvão ativado e em bagaço de cana e testes de toxicidade com organismos zooplanctônicos de água doce".

Data da defesa: 08/07/2020.

### **Comissão Julgadora:**

### **Resultado**

Profa. Dra. **Eny Maria Vieira**  
**(Orientadora)**

**APROVADO**

(Instituto de Química de São Carlos/IQSC-USP)

Profa. Dra. **Raquel Aparecida Moreira**

**APROVADO**

(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Dra. **Silvia Helena Govoni Brondi**

**APROVADO**

(Algaetech Pesquisa Ltda.)

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:

Prof. Associado **Frederico Fabio Mauad**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

## **Agradecimentos**

Agradeço a todos que contribuíram para a realização desse trabalho, em especial à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo número 2017/20490-3.

“Ao redor do buraco tudo é beira”

(Ariano Suassuna)

## RESUMO

VALENÇA, Rodrigo Maia. **Avaliação da Eficiência da Remoção do Etilparabeno por Adsorção em Carvão Ativado e em Bagaço de Cana e Testes de Toxicidade com Organismos Zooplancctônicos de Água Doce.** 2020. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

O avanço das tecnologias analíticas permitiu a detecção de micropoluentes emergentes até então tidos como ausentes no ambiente, tais substâncias ocorrem em baixas concentrações nos ambientes aquáticos, resistem ao tratamento convencional de esgoto sanitário e industrial, e mesmo em baixas concentrações podem interferir negativamente nos sistemas bióticos afetados. Os parabenos, um grupo de conservantes de larga utilização industrial ameaça a saúde humana e a biota aquática em função de sua toxicidade, e de seu potencial de desregulação endócrina. O presente trabalho estudou a remoção de etilparabeno (uma das formas mais comuns de parabeno) em matriz aquosa por adsorção em carvão ativado e em bagaço de cana. Foi também analisada a toxicidade da exposição do referido composto aos cladóceros de água doce *Daphnia similis* e a *Ceriodaphnia silvestrii*. A metodologia analítica utilizada para a detecção de etilparabeno em água foi desenvolvida e validada em HPLC/DAD, a separação ocorreu por meio de uma coluna de fase reversa Agilent Zorbax C8 mantida a 30°C, com metanol e água (80:20, v/v) em eluição isocrática por cinco 5 minutos, com vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>, comprimento de onda de 257 nm e volume de injeção de 20 µL. *D. similis* e *C. silvestrii* apresentaram CE<sub>50</sub> de 23,70 (20,76 – 27,73) mg L<sup>-1</sup> e 25,01 (18,74 – 33,15) mg L<sup>-1</sup>, efeitos crônicos de reprodução e de mortalidade foram significativos quando *C. silvestrii* foram expostas a 8 mg L<sup>-1</sup> de etilparabeno. Os adsorventes testados performaram satisfatoriamente frente ao etilparabeno tendo o carvão ativado mais afinidade com o adsorvato. Em testes com 10 mg L<sup>-1</sup> de etilparabeno, 30 minutos de contato e 0,5 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado e de 16 g L<sup>-1</sup> de bagaço de cana de açúcar os materiais analisados removeram respectivamente 62,51% e 37,05% do etilparabeno em solução aquosa, o que pode ser considerado satisfatório a depender da necessidade. Concentrações ambientais de etilparabeno em corpos d'água usualmente são na ordem de 10 µg L<sup>-1</sup> e embora a diferença entre a magnitude dessas concentrações e das concentrações de efeito encontradas no presente estudo seja grande, o potencial toxicológico do etilparabeno não deve ser negligenciado principalmente por que ainda há uma grande carência de dados de toxicidade para parabenos, principalmente em relação a espécies nativas de ambientes tropicais.

Palavras chave: Adsorção, Poluentes emergentes, *C. silvestrii*, *D. similis*.

## Abstract

VALENÇA, Rodrigo Maia. **Ethylparaben Adsorption onto Activated Carbon and Sugarcane Bagasse in Addition to Toxicologic Bioassays with Freshwater Planktonic Species**. 2020. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

Along with contemporary technological advances came the concern with emerging micropollutants, which are substances that are present in small concentrations on aquatic environments, that can resist conventional sewage treatment and even in such small concentrations can harm affected biotic systems. Parabens, a widely used group of preservatives, threaten human and aquatic biota health due to their toxicity and their endocrine disruption potential. This work evaluated the removal of ethylparaben in aqueous phase by adsorption on activated carbon and sugarcane bagasse and the sensibility of the freshwater cladocerans *Daphnia similis* and *Ceriodaphnia silvestrii* to its exposure. To detect ethylparaben in water a HPLC/DAD analytical method was developed and validated therefore chromatographic separation was achieved with a reverse phase column Agilent Zorbax C8 maintained at 30 °C, with methanol and water (80:20, v/v) on isocratic elution for five minutes, flow rate of 1 mL min<sup>-1</sup>, wavelength of 257 nm and injection volume of 20 µL. Acute exposures to ethylparaben generated EC<sub>50</sub> of 23.70 mg L<sup>-1</sup> and 25.01 mg L<sup>-1</sup> for *D. similis* and *C. silvestrii* and chronic effects in reproduction and mortality were significant when Ceriodaphnias were exposed to 8 mg L<sup>-1</sup> of ethylparaben. Both adsorbents displayed satisfactory ethylparaben removal potential but the activated carbon demonstrated more affinity with the adsorbate. In tests with 10 mg L<sup>-1</sup> of ethylparaben, 30 minutes of contact time and doses of 0.5 g L<sup>-1</sup> of activated carbon and 16 g L<sup>-1</sup> of sugarcane bagasse these materials removed respectively 62.51% and 37.05% of the paraben in aqueous solution. Environmental concentrations of ethylparaben in freshwater are usually in the order of 10 µg L<sup>-1</sup> and although these concentrations and effect concentrations found in this study are not even in the same magnitude, toxicologic potential of ethylparaben should not be neglected considering parabens toxicity data are still scarce specially ones that relates them to tropical species.

Keywords: Adsorption, Emerging pollutants, Zooplankton sensitivity.



## Lista de Figuras

- Figura 1 – Bandas cromatográficas sobrepostas para o teste de seletividade, injeções de: água Milli-Q, metanol, etilparabeno em água Milli-Q, e interferentes (mistura de água Milli-Q e carvão ativado deixada sob agitação por 15 minutos, em seguida, filtrada em filtro de seringa de 0,20 µm em nylon).....20
- Figura 2 – Curva analítica do etilparabeno em água Milli-Q.....22
- Figura 3 – Número médio de neonatas por fêmea e percentual de mortalidade de *Ceriodaphnia silvestrii* expostas a etilparabeno em testes de toxicidade crônica.....23
- Figura 4 – Curva de distribuição de sensibilidade entre espécies baseada em valores de  $CE_{50}$  para etilparabeno. Eixo-X:  $\log CE_{50}$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ); Eixo-Y: proporção de espécies afetadas (%).....27
- Figura 5 – Isotherma da adsorção do etilparabeno em carvão ativado ( $C_{\text{adsorbent}} = 0,125 - 2 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $C_{\text{ethylparaben}} = 10 \text{ mg L}^{-1}$ ) (a), e em bagaço de cana ( $C_{\text{adsorbent}} = 2 - 64 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $C_{\text{ethylparaben}} = 10 \text{ mg L}^{-1}$ ) (b).....33
- Figura 6 – Cinética de remoção do etilparabeno por carvão ativado ( $C_{\text{adsorbent}} = 0.5 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) (a), e por bagaço de cana ( $C_{\text{adsorbent}} = 16 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) (b).....35

## Lista de tabelas

Tabela 1 – Equação do ajuste linear, coeficiente de correlação e coeficiente de determinação para o etilparabeno.....	22
Tabela 2 – Repetibilidade e precisão intermediária do método analítico para o etilparabeno em valores de DPR.....	23
Tabela 3 – Exatidão do método analítico para as determinações de etilparabeno em percentual das concentrações teóricas.....	23
Tabela 4 – Limites de detecção e de quantificação do método analítico analisado.....	24
Tabela 5 – Repetibilidade e precisão intermediária (em valores de DPR), e exatidão (em percentual da concentração teórica) da concentração referente ao LQ.....	24
Tabela 6 – Valores de LOEC e de NOEC resultantes da exposição de <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> a etilparabeno.....	26
Tabela 7 – Concentrações ambientais de etilparabeno em diferentes matrizes.....	30
Tabela 8 – Testes de contato entre carvão ativado, bagaço de cana etilparabeno em solução aquosa. T= 25°C, pH = 7,0, t = 30 min, C <sub>carvão</sub> = 0.5 mg L <sup>-1</sup> , C <sub>bagaço</sub> = 16 g L <sup>-1</sup> .....	37

## **Lista de abreviações**

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CE<sub>50</sub>: Concentração de Efeito Média

CMD: Concentração Média Determinada

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente

DPR: Desvio Padrão Relativo

DP: Desvio Padrão

DAD: Detector Por Arranjo De Diodos

HC<sub>5</sub>: Concentração de Perigosa para 5% dos Organismos Expostos

HPLC: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

K<sub>ow</sub>: Coeficiente de Partição Octanol-Água

LD: Limite de Detecção

LOEC: Concentração de Efeito Observado

LQ: Limite De Quantificação

NOEC: Concentração de Efeito Não Observado

PPCP: Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal

RQ: Coeficiente de Risco Ecológico

SSD: Curva de Distribuição de Sensibilidade Entre Espécies

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. Os Parabenos e Sua Problemática Ambiental.....	2
1.2. Parabenos e a Exposição aos Seres Humanos .....	4
1.3. Os Parabenos e a Biota Aquática .....	5
1.4. Cladóceros e Estudos Ecotoxicológicos.....	6
1.5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector Por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD) para Detecção de Parabenos.....	7
1.6. Validação do Método Analíticos.....	8
1.7. Adsorção .....	10
1.7.1. Equilíbrio de adsorção .....	11
1.8. Adsorventes .....	12
1.9. Justificativa e Hipóteses do Trabalho .....	12
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivos específicos .....	13
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>14</b>
3.1. Substância Testada .....	14
3.2. Equipamento Utilizado para a Análise Cromatográfica.....	14
3.3. Validação do Método Analítico .....	14
3.3.1. Seletividade .....	15
3.3.2. Curva Analítica .....	15
3.3.3. Precisão .....	15
3.3.4. Exatidão .....	16
3.3.5. Limite de Detecção e Limite de Quantificação .....	16
3.4. Adsorventes .....	17
3.5. Ensaio de Adsorção .....	17
3.6. Espécies Utilizadas para os Testes Ecotoxicológicos .....	18
3.7. Cultivo e Manutenção dos Organismos-teste .....	18
3.8. Teste de Toxicidade Aguda .....	19
3.9. Ensaio de Toxicidade Crônica .....	19
3.10. Análise de dados dos estudos ecotoxicológicos.....	20
3.11. Curva SSD .....	20
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>21</b>
4.1. Condições cromatográficas .....	21
4.2. Validação do método analítico.....	21
4.2.1. Seletividade .....	21

4.2.2. Linearidade e Curva Analítica .....	22
4.2.3. Precisão .....	23
4.2.4. Exatidão .....	24
4.2.5. Limite de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ).....	25
4.3. Avaliações Ecotoxicológicas .....	26
4.3.1. Testes de toxicidade Aguda e Crônica.....	26
4.3.2. Distribuição da sensibilidade da espécie ao etilparabeno .....	29
4.4. Testes de Adsorção.....	33
4.4.1. Adsorventes.....	33
4.4.1. Equilíbrio de Adsorção .....	34
4.4.2. Cinética de adsorção .....	36
4.4.3. Testes de contato.....	38
5. CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40

## 1. INTRODUÇÃO

Embora problemas ambientais variem de acordo com a região, a conservação da qualidade dos recursos hídricos merece destaque, haja vista a sua essencialidade para a manutenção da vida. Com o aumento da atividade industrial e do desenvolvimento urbano, um maior número de substâncias alcança corpos d'água sem o devido tratamento prévio ou estudo de sua toxicidade, o que pode comprometer as comunidades aquáticas e os demais usos da água (Hernando et al., 2006; Dobbins et al., 2009; Bazin et al., 2010; Boehler et al., 2010; Bledzka et al., 2014).

Nos últimos anos, com o rápido crescimento das técnicas analíticas, a comunidade científica demonstrou interesse especial pelos chamados micropoluentes emergentes, que podem ser definidos como substâncias orgânicas que ocorrem na água em baixas concentrações. Consistem de uma variedade de substâncias sintéticas, tais como fármacos ativos, compostos com propriedades biocidas, aditivos alimentares, cosméticos, detergentes e também substâncias naturais, como hormônios (Boehler et al., 2012). No entanto, mesmo em baixas concentrações esses poluentes são capazes de interferir negativamente nos sistemas biológicos afetados (Orak et al., 2016).

Os parabenos – ésteres de ácido 4-hidroxibenzóico com um grupo alquil ou benzil – por possuírem um amplo espectro de atividade antimicrobiana, serem estáveis em diferentes pHs e de baixo custo, são amplamente utilizados como conservantes antimicrobianos na fabricação de produtos de higiene pessoal, bebidas e alimentos (Haman et al., 2015; Gmurek et al., 2015). Recentemente os parabenos foram incluídos no grupo dos poluentes emergentes (Zúñiga-Benítez e Peñuela, 2017a).

O contínuo uso industrial de parabenos promoveu a sua introdução em diferentes matrizes ambientais incluindo a água, o ar, os sedimentos e o solo. Monitoramentos em estações de tratamento de esgoto na Europa, América do Norte e Japão registraram

concentrações afluentes de parabenos na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Błędzka et al., 2014). No ambiente aquático normalmente são encontrados a nível de  $\text{ng L}^{-1}$  (Haman et al., 2015) o que indica que o tratamento convencional não é suficiente para remover esses poluentes e, conseqüentemente, eles são reintroduzidos no ambiente.

Embora os parabenos tenham sido considerados inofensivos aos seres humanos por um longo período de tempo (Papadopoulos et al., 2016), estudos os relacionam a possível atividade estrogênica (Routledge et al., 1998; Oishi, 2001) e carcinogênica (Darbre et al., 2004). Também existem polêmicas sobre a segurança do uso de parabenos em função de seu potencial como interferentes endócrinos (Błędzka et al., 2014) e de ameaça a manutenção da vida no ambiente aquático (Darbre et al., 2004). É imperativo o desenvolvimento de estudos que visem aprimorar técnicas de remoção destes poluentes das águas.

Pesquisadores avaliaram o uso de diferentes técnicas de remoção de parabenos de matriz aquosa, como ozonização, fotólise, ultra-som, Fenton, foto-Fenton, oxidação eletroquímica e fotocatalise heterogênea (Orak et al., 2016; Papadopoulos et al., 2016; Zúñiga-Benítez e Peñuela, 2017a, 2017b). No entanto, existem limitações sobre a ampliação de escala dessas tecnologias ou tais ampliações ainda são economicamente inviáveis. Nesse contexto a adsorção surge como uma alternativa para sanar essa problemática.

### **1.1. Os Parabenos e Sua Problemática Ambiental**

Os parabenos são utilizados em diversas formulações de produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PPCPs) com o objetivo de potencializar a sua atividade antimicrobiana (Soni et al., 2001). São ésteres de ácido 4-hidroxibenzóico com um grupo alquila ou benzila (Petrucci et al., 2011). Eles possuem atividade de pH 4,5 a 7,5,

são estáveis em água, têm um largo espectro de atividade antimicrobiana, e são eficazes contra fungos, leveduras e bactérias gram-positivas (Wade e Weller, 1994; Soni et al., 2001; Fransway et al., 2019).

Parabenos apresentam altos valores de  $K_{ow}$  (coeficiente de partição octanol-água), o que sugere que podem ser bioacumulados. Esse fator põe em risco a saúde da biota aquática, uma vez que a sua concentração nos organismos aumenta com a passagem de nível trófico (Darbre et al., 2004).

Diferentes tipos parabenos são comumente encontrados em produtos no mercado dependendo do prazo de validade e do espectro de atividade biocida desejados. Estudos relatam aumento da capacidade antimicrobiana com o uso de concentrações mais baixas de múltiplos parabenos (Charnock e Finsrud, 2007; Fransway et al., 2019). Metilparabeno e etilparabeno são os dois associados mais frequentemente. Até dez parabenos já foram identificados em um único cosmético, mas é comum o uso de dois a cinco tipos (Fransway et al., 2019).

As formas de parabenos mais utilizadas pela indústria são metil, etil, propil e butilparabeno (Calafat *et. al*, 2010). Por esse motivo pesquisadores vem desenvolvendo trabalhos com esses poluentes. Já foram estudadas a remoção e quantificação de metilparabeno em filtros ecológicos (Pompei, 2016); e o propilparabeno também já foi utilizado para estudar e comparar a sensibilidade de diferentes espécies de organismos aquáticos à parabenos (Spadoto, 2017).

A forma metil é a mais hidrofílica e a butil a mais lipossolúvel dentre os parabenos (Bledzka *et. al*, 2014; Haman *et. al*, 2015). Já o etilparabeno apresenta comportamento intermediário entre as duas formas citadas, por essa razão acredita-se



que o seu estudo poderá fornecer bases tanto para o entendimento do tratamento de água contaminada quanto para a compreensão toxicidade do grupo dos parabenos de uma forma geral.

## **1.2. Parabenos e a Exposição aos Seres Humanos**

Parabenos são conservantes antimicrobianos adicionados a uma ampla variedade de produtos, especialmente produtos de cuidados pessoais, como xampus, cremes, desodorantes, spray de cabelo e outros cosméticos. Eles também podem estar presentes em produtos para lavar roupa, produtos para cuidados automotivos, tintas, adesivos, fragrâncias e desodorizadores de ar (ECHA, 2019; Martín et al., 2019). Portanto, a principal via de exposição à parabenos é o contato pela pele, ingestão e inalação (ECHA, 2019). Na União Europeia, a concentração de parabenos em cosméticos foi limitada a 0,8% (m/m) para misturas de parabenos e 0,4% (m/m) para compostos individuais (Legislação da União Europeia nº 1223/2009).

Um estudo na Espanha que analisou 42 amostras de cabelo de homens e mulheres de idades variadas detectou parabenos em 100% dos casos, foram relatadas concentrações médias de 822,1 e 47,2 ng g<sup>-1</sup> para metil e etilparabeno respectivamente (Martín et al., 2019), essas concentrações foram mais altas do que as que foram detectadas em lodo de estação de tratamento de esgoto na Romênia (Iancu et al., 2018).

Vários estudos relacionam a exposição humana à parabenos a potencial disrupção endócrina (Boberg et al., 2010). Além disso, parabenos testaram positivo para atividade estrogênica *in vitro* (Routledge et al., 1998), induziram o desenvolvimento de células de câncer de mama (Okubo et al., 2001; Byford et al., 2002; Darbre et al., 2002; Darbre et al., 2003) e sua presença na urina foi correlacionada a danos ao DNA do esperma (Meeker et al., 2011).

Gradualmente parabenos começaram a ser retirados do mercado após a proibição de isopropil, isobutil e benzilparabeno na Europa (Legislação da União Européia – nº 358/2014 e nº 1223/2009) e o parecer do Comitê Científico Europeu de Segurança do Consumidor sobre usos de propil e butilparabeno (SCCS, 2013) muitos produtos aderiram ao selo “*paraben free*”. Ainda, a União Europeia determina como limite de ingestão diário a dose de 10 mg Kg<sup>-1</sup> (parabeno/Kg peso corporal) para metil e etilparabeno (SCCP, 2005).

### **1.3. Os Parabenos e a Biota Aquática**

Parabenos são ubíquos (Ramírez et al., 2011; Yusoff et al., 2017; Fransway et al., 2019). Eles já foram encontrados em poeira doméstica, lagos e traços desses compostos já foram detectados até em amostras de água mineral (Marta-Sanchez et al., 2018). Rios, lagos e reservatórios de países como Austrália, Brasil, China, Colômbia e Polônia registraram até 1485 µg L<sup>-1</sup> de etilparabeno (Evans et al., 2016; Santos et al., 2016; Zgoła-Grzeškowiak et al., 2016; Aristizabal et al. 2017; Zhao et al., 2019).

Em relação aos efeitos dos parabenos à biota aquática, trabalhos já discutiram sobre as disfunções sexuais, feminização de peixes, impotência e diminuição da fecundidade, resultantes dos efeitos dos parabenos nos organismos (Peng et al., 2008). Em trabalhos que estudaram o efeito de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno em *Daphnia magna*, foram obtidos respectivamente os seguintes valores médios de CE<sub>50</sub> seguidos de seu intervalo de confiança: 62 (50-72); 32 (27-39); 23 (20-27); 9,2 (8,3-10) mg L<sup>-1</sup> (Terasaki et al., 2008). Outro trabalho também feito com *Daphnia magna* apontou os valores de 24,6 mg L<sup>-1</sup>, 18,7 mg L<sup>-1</sup>, 12,3 mg L<sup>-1</sup> e 5,3 mg L<sup>-1</sup> para CE<sub>50</sub> relativos ao metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno respectivamente (Dobbins et al., 2009). Mais recentemente, Silva et al (2018) analisou

os efeitos da exposição de parabenos a tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e seus resultados indicaram que esses compostos causaram alterações bioquímicas nas células das brânquias e do fígado dos peixes.

#### **1.4. Cladóceros e Estudos Ecotoxicológicos**

Cladóceros, conhecidos como pulgas d'água, são pequenos (0,2 a 6 mm) crustáceos de água doce que habitam regiões pelágicas, litorâneas e bentônicas. Eles são importantes componentes da fauna de águas doces, principalmente na cadeia alimentar de ambientes lênticos. Esses crustáceos geralmente se reproduzem por partenogênese, as populações são predominantemente fêmeas e a maioria das espécies se alimenta por meio de filtração (Forró et al., 2007). O maior número de espécies de cladóceros é original da Europa, América do Norte, Austrália e América do Sul, sendo também encontrados na África e no sul da Ásia. Essa distribuição, segundo Forró et al (2007), reflete mais o volume de pesquisa científica do que a real diversidade ambiental das espécies.

Os cladóceros, especialmente as *Daphnias*, são muito importantes tanto na pesquisa básica quanto na aplicada devido ao seu fácil cultivo e ao seu curto tempo de geração (Forró et al., 2007), nesse sentido, os cladóceros têm sido amplamente utilizados como organismos teste para a avaliação da toxicidade de amostras ambientais e de substâncias químicas (ABNT, 2016; ABNT, 2017).

No Brasil, *Daphnia. similis* é uma espécie que tem sido amplamente utilizada na avaliação da toxicidade de diferentes compostos e amostras ambientais, embora não seja nativa do país sua ocorrência já foi relatada em regiões tropicais (Fernando et al. 1987). Além disso, seu cultivo e os custos envolvidos ao trabalhar com essa espécie é similar a de outros dafinídeos e sua sensibilidade é similar a da *D. magna* para uma grande

variedade de metais e de compostos orgânicos já testados (Suzelei et al., 2010; Meireles, 2018).

*Ceriodaphnia silvestrii* é uma espécie muito encontrada em águas doces brasileiras, principalmente em reservatórios dos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Goiás e Distrito Federal (Fonseca e Rocha, 2004), além de ser encontrada por toda a América do Sul. Por se tratar de uma espécie endêmica de ambientes tropicais, com ampla distribuição geográfica e com curto ciclo de vida, são muitas vantagens do seu uso como organismo de teste em ensaios de toxicidade.

### **1.5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector Por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD) para Detecção de Parabenos**

De acordo com Collins (2006) “entre os métodos modernos de análise, um lugar de destaque é ocupado pela cromatografia devido à facilidade com que há a separação, identificação e quantificação de substâncias químicas, seja sozinha ou em conjunto com técnicas como espectrofotometria ou espectrometria de massas”. A técnica cromatográfica consiste em um método físico-químico e fundamenta-se no deslocamento diferencial dos componentes de uma mistura, devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis (Collins, 2006).

A cromatografia líquida é o método mais utilizado para a determinação de parabenos. Estudos relatam o uso de colunas C<sub>8</sub> e C<sub>18</sub>, fluxos típicos de 1 mL min<sup>-1</sup> e diferentes fases móveis, além de diferentes tipos de detectores. Dentre os tipos de detectores mais comuns estão o detector ultravioleta, o espectrômetro de massas e o detector por arranjo de diodos (DAD) (Piao *et al.*, 2014).

Análises em diferentes comprimentos de onda são possíveis através do uso de detectores espectrofotométricos por arranjo de diodos, em que toda a luz da fonte passa

pela cela do detector. A luz emergente é dispersa por uma grade holográfica, e os comprimentos de onda resultantes são focalizados sobre uma fila de fotodiodos enfileirados (Collins et al., 2006).

A tecnologia de detecção por HPLC-DAD já foi utilizada com sucesso para análises de parabenos em matrizes complexas como água de rios, esgoto sanitário e água de cultivo de peixes (Silva, 2015; Derisso, 2017; Silva *et al.*, 2018).

## **1.6. Validação do Método Analíticos**

A validação de uma metodologia analítica deve ser feita para garantir que esta gere informações confiáveis e interpretáveis. Segundo a ANVISA (2017), a validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados.

Os parâmetros mais comumente utilizados para a validação são seletividade, linearidade e curva analítica, precisão, exatidão e limites de detecção e de quantificação.

A farmacopeia americana define a seletividade de um método analítico como a sua habilidade de medir, de forma acurada, um analito na presença de interferentes que estejam presentes na matriz da amostra (USP, 2014). A ANVISA (2017) a define como a capacidade do método analítico de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra como impurezas, diluentes e componentes da matriz. Em outras palavras, o estudo da seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (Vessman *et al.*, 2001; USP, 2014).

A linearidade de um procedimento analítico é a sua capacidade de obter resultados diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra, dentro de uma determinada faixa de aplicação (ICH, 1995; Swartz e Krull, 1998; USP,

2014). Já a relação matemática entre o sinal e a concentração da espécie de interesse – determinada a partir da medição sinais para concentrações conhecidas dessa espécie – que muitas vezes pode ser representada pela equação da reta é chamada de curva analítica (Barros *et al.*, 2002).

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas (ICH, 1995; INMETRO, 2007). A ANVISA (2017) determina que a precisão deve avaliar a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado. E que esta deve ser expressa por meio da repetibilidade ou precisão intra-dia (calculada através de determinações em um mesmo dia), da precisão intermediária ou inter-dias (calculada através de determinações ao longo de diferentes dias), ou da reprodutibilidade.

A exatidão de um método analítico é definida como grau de concordância entre os resultados individuais, obtidos pelo método em estudo, em relação a um valor de referência aceito como verdadeiro. É importante observar que um valor exato ou verdadeiro é obtido por uma aferição perfeita e este valor é indeterminado por natureza (ISO, 2006).

O limite de detecção é definido como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2017). Na prática, o limite de detecção representa a menor concentração do analito que pode ser diferenciada com segurança do ruído do sistema.

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas, parâmetros esses que devem ser analisados para a concentração referente ao limite de quantificação (ANVISA, 2017).

### **1.7. Adsorção**

Diversos autores apresentam definições para a adsorção (Ruthven, 1984; Rousseau, 1987; Noll et al., 1992), tal fenômeno pode ser entendido como a transferência de massa de substâncias em fase fluida (adsorvatos) para a superfície de um sólido adsorvente, sendo a força motriz desse fenômeno o gradiente de potencial químico entre as fases.

Segundo Rousseau (1987) o primeiro registro do uso da adsorção se deu na idade média, quando se observou que a água mudava de gosto ao entrar em contato com a madeira queimada. Desde então a adsorção, seus mecanismos e seus aspectos termodinâmicos vêm sendo estudados.

Dentre as várias aplicações do processo de adsorção se destaca a possibilidade da recuperação da qualidade de recursos naturais como a água e o ar através da remoção de poluentes existentes nesses meios. Assim como pode ser observado em muitos estudos (Ibrahim et al., 2010; Debrassi et al., 2011; Boehler et al., 2012; Abdelwahab e Amin, 2013; Igberase et al., 2014).

Os parabenos tem cadeias similares, desse modo acredita-se que o mecanismo da adsorção de diferentes parabenos sobre um mesmo sólido adsorvente não deva diferir significativamente. E como o etilparabeno tem hidrofobicidade intermediária dentre as formas de parabeno mais utilizadas, acredita-se também que as informações obtidas

através do estudo da sua adsorção podem ser extrapoladas para todo o grupo dos parabenos.

### 1.7.1. Equilíbrio de adsorção

Quando uma solução entra em contato com um adsorvente e tal sistema atinge o equilíbrio, este estado é caracterizado pela igualdade da velocidade em que as moléculas são adsorvidas/dessorvidas. Isto é, no equilíbrio, adsorção e dessorção não deixam de ocorrer, elas ocorrem com taxas são iguais (Nascimento et al., 2014).

A adsorção de uma substância de uma fase fluida em um sistema específico conduz a uma distribuição termodinamicamente definida desta entre as fases, quando o sistema alcança o equilíbrio. A forma mais comum de apresentar esta distribuição é expressando a quantidade de adsorvato por unidade de massa do adsorvente como uma função da concentração de equilíbrio do adsorvato na fase fluida, a uma temperatura constante. Essa representação é chamada de isoterma de adsorção (Slejko, 1985).

Dentre os vários modelos existentes de representação de isotermas, destaca-se o modelo de Freundlich (Equação 1) um dos primeiros a equacionar a relação entre a quantidade de material adsorvido e a concentração do material na solução em um modelo com características empíricas. Este modelo pode ser aplicado a sistemas não ideais, em superfícies heterogêneas e adsorção em multicamada. (Ciola, 1981; Mckay, 1995).

$$q_e = kC_e^{\frac{1}{n}} \quad (1)$$

Em que k e n são as constantes de Freundlich e  $C_e$  a concentração de adsorvato no meio aquoso ao atingir o equilíbrio.



O conhecimento da isoterma de adsorção propicia importantes informações sobre a afinidade adsorvato-adsorvente e a ampliação de escala de unidades de tratamento.

### **1.8. Adsorventes**

Todo material sólido possui capacidade de adsorção. Mas, nem todos têm os atributos necessários para serem usados como adsorventes em aplicações de larga escala (Ruthven, 1984).

Haja vista que a adsorção é um fenômeno de superfície, para garantir a eficiência desse processo, é essencial que o adsorvente possua características como elevada área superficial por unidade de massa, distribuição de poros adequada e afinidade com o adsorvato pretendido (Rousseau, 1987). Comercialmente os adsorventes são divididos em quatro grupos: peneiras moleculares de zeólitas, alumina ativada, sílica gel e carvão ativado. Sendo o carvão ativado o mais tradicionalmente aplicado na remoção de poluentes orgânicos em matriz aquosa (Noll et al., 1992).

Como muitas vezes a utilização da adsorção é limitada pelo custo dos adsorventes (Ibrahim et al., 2010; Debrassi et al., 2011), cada vez mais fontes alternativas desses materiais têm sido investigadas a fim de viabilizar a aplicação dessa técnica (Gonçalves Jr, 2013).

### **1.9. Justificativa e Hipóteses do Trabalho**

À luz de tudo que já foi mencionado, o presente trabalho se propôs a avaliar as implicações ambientais dos parabenos em matriz aquosa através do uso de etilparabeno, um dos parabenos de mais larga utilização industrial, e que ainda é incipiente em estudos ecotoxicológicos e de tratabilidade.

Com essa finalidade foram propostos estudos da adsorção do etilparabeno em carvão ativado e em bagaço de cana, e análises de toxicidade desse composto em *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis*; a fim de investigar se a eficiência de remoção alcançada pelo tratamento proposto pode ser traduzida em uma redução da sua toxicidade à biota aquática.

Desse modo foram traçadas as seguintes hipóteses para o presente trabalho:

A adsorção proposta é eficiente para a remover etilparabeno de águas contaminadas e essa substância apresenta elevado potencial toxicológico para espécies aquáticas.

- É possível quantificar etilparabeno na faixa de trabalho por LC-DAD.
- Ambos adsorventes são viáveis para o uso no tratamento de águas contaminadas com etilparabeno.
- O processo proposto atenua a toxicidade do efluente tratado.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

A presente pesquisa teve o objetivo de estudar a remoção de etilparabeno em água por adsorção em carvão ativado e em bagaço de cana e de avaliar o efeito dessa substância sobre sistemas biológicos através de testes de toxicidade em organismos zooplanctônicos.

### **2.2. Objetivos específicos**

a) Desenvolver e validar método cromatográfico para a determinação de etilparabeno em água;

b) Avaliar o comportamento da adsorção do etilparabeno sobre carvão ativado e bagaço de cana;

c) Avaliar se a remoção de etilparabeno pela adsorção proposta remete a uma satisfatória diminuição de sua toxicidade através de testes ecotoxicológicos em cladóceros

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Substância Testada**

No decorrer do estudo foi utilizado o etilparabeno (CAS n.120-47-8 e MM=166,17). Sendo utilizado para a validação do método analítico o reagente Ethylparaben, Certified Reference Material, TraceCERT® e para os demais testes o Ethyl 4-hydroxybenzoate, ReagentPlus®, 99% ambos da Sigma-Aldrich Co (Steinheim, Alemanha).

#### **3.2. Equipamento Utilizado para a Análise Cromatográfica**

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido, Agilent Technologies, modelo 1200 Series (Estados Unidos), com desgaseificador G1322A, bomba quaternária G1311A, amostrador automático ALS G1329A, compartimento da coluna termostaticado G1316A e detector de arranjo de diodos G1315D.

#### **3.3. Validação do Método Analítico**

Os parâmetros selecionados para a validação do método analítico desenvolvido foram: Linearidade e curva analítica, limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD), seletividade, precisão e exatidão. A validação seguiu os critérios estabelecidos

pela Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA de número 166/2017, aplicável à métodos analíticos empregados em insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção.

### **3.3.1. Seletividade**

Uma forma de se avaliar a seletividade é comparando a matriz isenta da substância de interesse e a matriz fortificada com a mesma substância, nesse caso, nenhum interferente deve eluir no tempo de retenção dessa substância, que deve estar bem separada dos demais compostos presentes na amostra (ICH, 1995; Joint, 1995; Swartz e Krull, 1998; Shabir, 2003). No presente trabalho a seletividade foi atestada através do método da sobreposição gráfica.

### **3.3.2. Curva Analítica**

As curvas analíticas foram construídas a partir de seis níveis de concentração preparados em triplicata e de forma independente conforme descrito na RDC ANVISA nº 166 (2017). Todas as curvas foram preparadas em água Milli-Q, e foram submetidas a ajuste linear pelo método dos mínimos quadrados.

Uma solução estoque de 1000 mg L<sup>-1</sup> (etilparabeno em metanol) foi utilizada para as diluições das concentrações utilizadas no presente estudo, que foram: 0,02; 0,05; 0,10; 0,50; 0,75 e 1,00 mg L<sup>-1</sup>. Tais concentrações determinadas a partir da literatura e de testes preliminares.

### **3.3.3. Precisão**

A precisão foi avaliada em três níveis de concentração: baixa (0,05 mg L<sup>-1</sup>), média (0,50 mg L<sup>-1</sup>) e alta (1,00 mg L<sup>-1</sup>). Cada nível foi analisado em triplicata, sendo esse procedimento realizado em mais um dia diferente, com o objetivo de avaliar a

repetibilidade e a precisão inter-dias. A precisão foi expressada em termos do desvio padrão relativo (DPR), conforme a Equação 2.

$$DPR = \left( \frac{DP}{CMD} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde, DPR corresponde ao desvio padrão relativo, DP ao desvio padrão e CMD ao valor da concentração média determinada.

### 3.3.4. Exatidão

Do mesmo modo que a precisão, a exatidão foi avaliada nos três níveis de concentração já citados, sendo cada nível realizado em triplicata. O cálculo da exatidão utilizou a Equação 3.

$$Exatidão = \left( \frac{Concentração\ Média\ Medida}{Concentração\ Teórica} \right) \times 100 \quad (3)$$

### 3.3.5. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O método baseado nos parâmetros da curva analítica é o mais estatisticamente confiável, em cromatografia líquida, para a determinação do LD e do LQ. Desde que, para tal, a curva analítica contenha a concentração correspondente ao LQ (Ribani *et al.*, 2004). Dessa maneira o cálculo do LD e do LQ seguiu as Equações 4 e 5 respectivamente.

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC} \quad (4)$$

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad (5)$$

Em que: IC é a inclinação da curva de calibração,  $\sigma$  é o desvio padrão do intercepto com o eixo Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito próximas ao suposto limite de detecção.

### **3.4. Adsorventes**

O carvão ativado comercial a base do endocarpo do coco foi adquirido da empresa Bahiacarbon Agroindustrial (Valença, Bahia). Antes do uso o material foi peneirado na faixa de tamanho de 45–100 mesh ASTM. Posteriormente o carvão foi lavado com água deionizada e secado em estufa a 90 °C por 24 h.

O bagaço de cana foi coletado em um estabelecimento local e logo em seguida foi lavado com água corrente em abundância até que todo excesso de matéria orgânica fosse retirado, após esse processo o material foi lavado com água deionizada e secado em estufa por 24 h a 90 °C. O material foi triturado e separado granulometricamente na faixa de 45–100 mesh ASTM.

### **3.5. Ensaio de Adsorção**

Os testes de isoterma foram realizados em frascos erlenmeyer de 125 mL com 100 mL de solução teste com 10 mg L<sup>-1</sup> de etilparabeno, doses de carvão ativado de 0,125 a 2,0 g L<sup>-1</sup> e tempo de contato de 3 horas. Isotermas com o bagaço de cana foram obtidas sob as mesmas condições experimentais, mas com doses do adsorvente variando de 2,0 a 64,0 g L<sup>-1</sup>.

Soluções com concentração de 10, 1 e 0,1 mg L<sup>-1</sup> de etilparabeno foram utilizadas nos testes cinéticos por estarem próximas as concentrações ambientais de parabenos em águas residuárias, em águas de superfície e a uma possível concentração de toxicidade crônica, respectivamente. Esses ensaios foram realizados em reatores de 2

L de volume com 1 L de solução teste e dose de carvão ativado de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$ , já os testes com o bagaço de cana utilizaram dose de adsorvente de  $16 \text{ g L}^{-1}$ . Após o tempo de contato desejado, as amostras foram filtradas com filtros de seringa de náilon ( $0,20 \text{ }\mu\text{m}$  tamanho de poro).

Todos os experimentos foram conduzidos em temperatura ambiente ( $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e agitados na mesma velocidade de rotação (500 RPM).

### **3.6. Espécies Utilizadas para os Testes Ecotoxicológicos**

Durante a realização desse estudo foram utilizadas duas espécies de cladóceros uma padronizada internacionalmente e uma pela ABNT respectivamente: *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*.

### **3.7. Cultivo e Manutenção dos Organismos-teste**

Todos os testes ecotoxicológicos ocorreram no Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada do Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais da Escola de Engenharia de São Carlos vinculado a Universidade de São Paulo.

Vinte indivíduos mantidos em béqueres de vidro com volume de 1 L, com água reconstituída de dureza moderada (ASTM, 2014b), renovada três vezes por semana. Os dafinídeos foram alimentados a cada renovação dos meios de cultura com  $3 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  da microalga *Raphidocelis subcapitata* e com aditivo orgânico (suspensão contendo levedura e ração para peixe ( $1 \text{ mL L}^{-1}$ )). Os sistemas foram mantidos sob fotoperíodo de 16h (claro)/8h (escuro) a  $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  para *D. similis* e sob fotoperíodo de 12h/12h a  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  para *C. silvestrii*.

### 3.8. Teste de Toxicidade Aguda

Os testes de toxicidade aguda foram feitos segundo a norma da ABNT - NBR 12713:2016. Consistem na exposição de indivíduos de *Daphnia similis* (neonatos com 6-24 horas de idade) à diferentes concentrações de etilparabeno em solução aquosa por períodos de 48 horas, com a finalidade de quantificar o número de indivíduos imóveis (que sofreram efeitos agudos) ao longo desse intervalo de tempo. Durante os ensaios, para fins de validação, foram mantidos um controle positivo, composto por água reconstituída (pH 7,0-7,6; dureza total 40-48 mg<sub>CaCO3</sub>L<sup>-1</sup>), e um controle negativo, com água reconstituída e um percentual do solvente utilizado na solução estoque (0,4 %).

A abordagem utilizada permite conhecer a concentração causadora de efeitos agudos a metade da população exposta, a concentração efetiva (CE<sub>50</sub>). Sendo a CE<sub>50</sub> uma estimativa pontual, Zagatto e Bertolotti (2008) recomendam que seja realizada a análise estatística e a construção de gráficos representativos dos resultados dos testes. Tal recomendação será acatada a partir do uso de softwares estatísticos como o *StatSoft Statistica*.

### 3.9. Ensaio de Toxicidade Crônica

Neonatos (6-24 horas de idade) de *Ceriodaphnia silvestrii* foram submetidos a testes de toxicidade crônica com duração aproximada de sete dias ou até as fêmeas produzirem a terceira ninhada. Para cada concentração amostrada, foram feitas dez réplicas, com 15 mL de solução e um organismo-teste. Durante os ensaios, para fins de validação, foram mantidos controle positivo e negativo. As soluções-teste foram renovadas duas vezes com intervalo de três dias, e as renovações foram acompanhadas por alimentação (alga *Raphidocelis subcaptata*) para os organismos-teste. O ambiente



foi mantido a 25 °C, com fotoperíodo de 12/12 horas de luz difusa. Os ensaios atenderam aos critérios dispostos na ABNT - NBR 13373:2017.

Os resultados dos testes crônicos foram analisados quanto à imobilidade e a reprodução, e foram testados em relação à normalidade e variância de homogeneidade (Chi-quadrado e Testes Hartley) e então submetidos ao teste paramétrico de Dunnett caso a distribuição seja normal, ou ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis caso contrário.

### **3.10. Análise de dados dos estudos ecotoxicológicos**

Os valores de EC<sub>50</sub> - 48 h foram calculados com intervalo de confiança de 95% por meio de regressão não linear em um modelo logístico no software StatSoft Statistica 12. A significância das diferenças na sobrevivência dos organismos no teste de toxicidade crônica foi analisada por meio de Teste Fisher com o uso do software TOXSTAT 3.3. A normalidade dos dados de reprodução dos testes crônicos foi analisada por meio de Teste qui-quadrado e a homogeneidade da variância dos dados foi analisada por meio de Teste Bartlett. Os dados também foram submetidos à análise de variância unilateral (ANOVA), e um Teste de comparação múltipla de Dunnett foi realizado para verificar a incidência de diferenças significativas entre as concentrações analisadas e os controles. Essas análises estatísticas foram realizadas com o software StatSoft Statistica 12. E, em todos os testes, a diferença estatística foi considerada significativa quando  $p \leq 0,05$ .

### **3.11. Curva SSD**

Uma curva SSD foi construída a partir de dados de toxicidade aguda compilados da literatura e de resultados dos testes de toxicidade aguda do presente trabalho. O

parâmetro levado em consideração foi  $EC_{50}$  e a duração dos ensaios variou de 24 a 48 horas. E, foram avaliadas confiabilidade, adequação e relevância dos referidos dados.

Os dados de toxicidade foram ajustados a uma distribuição lognormal com o uso do software ETX 2.2 e, dessa maneira, foi calculado o valor de  $HC_{50}$ . A adequação do ajuste do modelo SSD foi avaliada por Teste Anderson-Darling.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Condições cromatográficas**

O método analítico desenvolvido no presente estudo foi adaptado da metodologia de análise de parabenos em esgoto sanitário proposta por Derisso (2017), que otimizou suas condições cromatográficas por meio do uso de planejamento experimental. Desse modo, após diversos testes foram estabelecidas as novas condições cromatográficas. A separação ocorreu através de uma coluna de fase reversa Zorbax C8 (C8, com partículas de 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno), mantida a 30°C. A fase móvel foi composta por metanol e água (80:20, v/v) em eluição isocrática por cinco 5 minutos, com vazão de 1  $\text{mLmin}^{-1}$ . O comprimento de onda utilizado pelo detector por arranjo de diodos foi de 257 nm. O volume de injeção foi de 20  $\mu\text{L}$ . E o tempo de retenção do analito foi de 3,7 minutos.

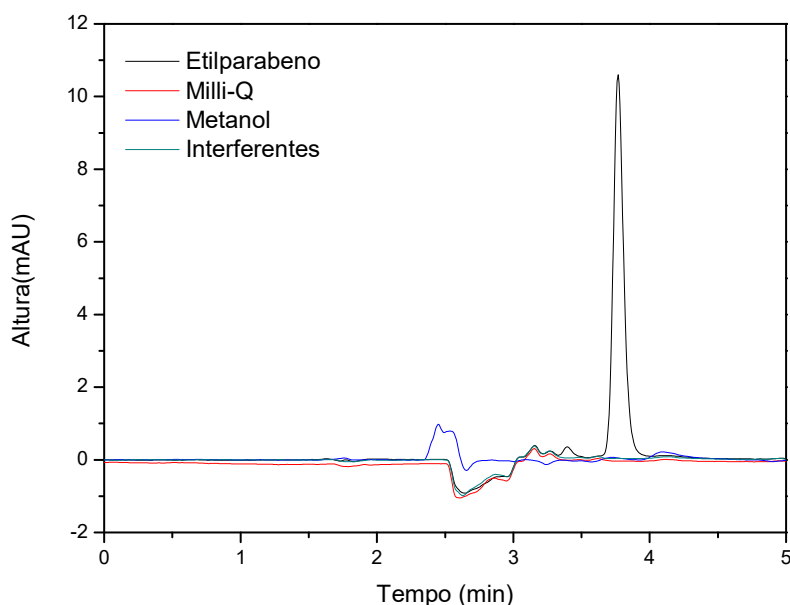
### **4.2. Validação do método analítico**

#### **4.2.1. Seletividade**

Para atestar a seletividade do método analítico foram sobrepostos os cromatogramas de quatro injeções (Figura 1): água Milli-Q, metanol, etilparabeno em Milli-Q, e uma amostra denominada “interferentes” (proveniente de uma mistura de

água Milli-Q e carvão ativado deixada sob agitação por 15 minutos e, em seguida, filtrada em filtro de seringa de 0,20 µm em nylon).

Figura 1 – Bandas cromatográficas sobrepostas para o teste de seletividade, injeções de: água Milli-Q, metanol, etilparabeno em água Milli-Q, e interferentes (mistura de água Milli-Q e carvão ativado deixada sob agitação por 15 minutos, em seguida, filtrada em filtro de seringa de 0,20 µm em nylon).



Observa-se a partir da análise da Figura 1 que não existem interferentes no tempo de retenção do analito em questão. Desse modo, é possível afirmar que o método analítico é seletivo para o etilparabeno.

#### 4.2.2. Linearidade e Curva Analítica

Para a avaliação da linearidade, segundo a ANVISA (2017), deve ser apresentada a representação gráfica das respostas em função da concentração do analito, a equação da reta de regressão de  $y$  em  $x$ , e a análise da associação linear entre as variáveis por meio dos coeficientes de correlação ( $r$ ) e de determinação ( $r^2$ ). Dados que podem ser vistos na Figura 2 e na Tabela 1 respectivamente.

Figura 2 – Curva analítica do etilparabeno em água Milli-Q.

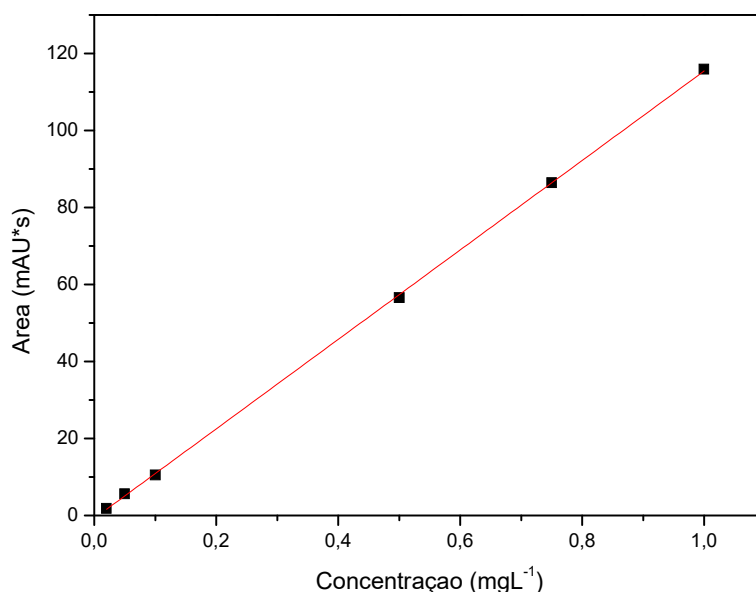


Tabela 1 – Equação do ajuste linear, coeficiente de correlação e coeficiente de determinação para o etilparabeno.

Equacionamento	Coeficiente de correlação (r)	Coeficiente de determinação (r <sup>2</sup> )
$y = -0,74 + 116,21 \times x$	0,99994	0,99987

Por meio da Figura 2 pode se observar que as respostas do método analítico são diretamente proporcionais à concentração do analito ao longo do intervalo contemplado. A equação da curva analítica, disposta na Tabela 1, apresenta coeficiente angular significativamente diferente de zero e coeficiente de correlação superior a 0,990. O que satisfaz as exigências de validação de métodos analíticos da ANVISA (2017) para o critério da linearidade.

#### 4.2.3. Precisão

Com o objetivo de avaliar a proximidade dos resultados obtidos em uma série de determinações, a ANVISA (2017) estabelece que a precisão de uma metodologia

analítica seja expressada por meio da repetibilidade e da precisão intermediária, avaliada em três níveis de concentração em termos do desvio padrão relativo (DPR) dos resultados.

Tendo em vista que a atual resolução ANVISA (2017) determina que os valores de DPR aceitos para a validação do método sejam definidos e justificados de acordo com o objetivo e a variabilidade intrínseca do método. E que a versão anterior da mesma resolução – ANVISA (2003) – aceita valores de DPR de até 15% para amostras complexas. É possível afirmar que os valores de DPR sumarizados na Tabela 2 (que atingem um máximo de 3%) são considerados aceitáveis pelo guia de validação adotado.

Tabela 2 – Repetibilidade e precisão intermediária do método analítico para o etilparabeno em valores de DPR.

Nível de concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Repetibilidade (%)	Precisão intermediária (%)
Baixa (0,05)	3,18	2,38
Média (0,50)	1,78	2,22
Alta (1,00)	1,07	1,75

#### 4.2.4. Exatidão

A exatidão expressa a relação entre a concentração média, determinada experimentalmente, e a concentração teórica correspondente. Assim como ANVISA (2107) determina para a precisão, a exatidão deve ter seus critérios de aceitação devidamente justificados de acordo com o objetivo do método. Desse modo, à luz dos resultados dispostos na Tabela 3 e de que ANVISA (2003) estabelece que são aceitos valores de exatidão entre 70 e 120% é possível considerar que exatidão obtida pelo método desenvolvido (que varia entre 95 e 105%) é aceitável.

Tabela 3 – Exatidão do método analítico para as determinações de etilparabeno em percentual das concentrações teóricas.

Nível de concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Exatidão (%)
Baixa (0,05)	105,03
Média (0,50)	96,10
Alta (1,00)	96,80

#### 4.2.5. Limite de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ)

O LD é a menor quantidade de um analito que pode ser detectada em uma matriz, sem poder ser quantificada. Já o LQ corresponde a menor quantidade de um analito em uma matriz que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis. A Tabela 4 apresenta os valores dos limites de detecção e de quantificação obtidos pelo método desenvolvido, tais valores são satisfatórios de acordo com a finalidade do método desenvolvido.

Tabela 4 – Limites de detecção e de quantificação do método analítico.

LD (mg L <sup>-1</sup> )	LQ (mg L <sup>-1</sup> )
0,008	0,020

ANVISA (2017) determina que sejam testadas precisão e exatidão da concentração correspondente ao limite de quantificação, o que pode ser visto na Tabela 5. Os valores obtidos referentes aos parâmetros citados em relação ao LQ estão dentro da faixa de aceitação de acordo com o guia de validação utilizado.

Tabela 5 – Repetibilidade e precisão intermediária (em valores de DPR), e exatidão (em percentual da concentração teórica) da concentração referente ao LQ.

Repetibilidade (%)	Precisão Intermediária (%)	Exatidão (%)
0,037	0,029	109,60

### 4.3. Avaliações Ecotoxicológicas

#### 4.3.1. Testes de toxicidade Aguda e Crônica

As concentrações de etilparabeno nas soluções estoque e nas soluções testes foram determinadas por HPLC-DAD. Ao analisar a diferença entre a concentração nominal e a concentração medida nunca foi superior a 20%, por esse motivo os cálculos foram realizados com os valores nominais. Os parâmetros físico-químicos monitorados ao longo de cada teste se mantiveram dentro do exigido pela ANBT (2016). O pH das soluções-teste variou entre 7,24 e 7,55. A condutividade elétrica variou de 146,0 a 163,6  $\mu\text{S cm}^{-1}$ . O oxigênio dissolvido oscilou de 7,12 a 7,66  $\text{mg L}^{-1}$ . E a dureza permaneceu sempre entre 42 e 48  $\text{mg}_{\text{CaCO}_3}\text{L}^{-1}$ .

Alguns estudos analisaram a sensibilidade de espécies aquáticas ao etilparabeno e relataram valores de  $\text{CE}_{50}$ . Terasaki et al. (2008) estimaram 32  $\text{mg L}^{-1}$  (27 - 39) em 48 h de exposição para o cladóceros *Daphnia magna*, Bazin et al. (2010) 25  $\text{mg L}^{-1}$  (21 - 29), em 24 h de exposição, para a espécie *Photobacterium leiognathi* (bactéria), Li (2012), em 48h de exposição, 31  $\text{mg L}^{-1}$  (30,0 - 31,9) para a planária *Dugesia japonica*, e Silva et al. (2018) 24,08  $\text{mg L}^{-1}$  (18,70 - 31,02) para o peixe de água doce *Oreochromis niloticus*. No presente estudo a sensibilidade de dois cladóceros (um proveniente de clima temperado, *Daphnia similis*, e outro de ambientes tropicais, *Ceriodaphnia silvestrii*) quando expostos ao etilparabeno foi analisada. Nos testes agudos foram testadas as seguintes concentrações: 8, 12, 18, 26 e 40  $\text{mg L}^{-1}$  para *D. similis* e 1, 5, 15, 30 e 50  $\text{mg L}^{-1}$  para *C. silvestrii*, e os valores 23,70  $\text{mg L}^{-1}$  (20,76 - 27,73) e 25,01  $\text{mg L}^{-1}$  (18,74 - 33,15) foram calculados como  $\text{CE}_{50}$  para as respectivas espécies.

A sensibilidade dos organismos testados ao etilparabeno se manteve dentro do esperado pelo relatado em literatura, principalmente se comparada a sensibilidade do também cladóceros *D. magna* ao mesmo composto,  $CE_{50}$  32 mg L<sup>-1</sup> (27 - 39) em Terasaki et al. (2008). Ainda, analisando os resultados obtidos é possível observar que para os dafinídeos testados não houve diferença significativa entre suas sensibilidades em relação ao etilparabeno apesar de se tratarem de espécies provenientes de climas distintos.

A partir dos dados obtidos nos testes agudos foram calculados também os valores de LOEC (menor concentração de efeito observado) e de NOEC (concentração de efeito não observado), o que pode ser visto na Tabela 6. As concentrações de efeito do etilparabeno relativas à *Daphnia similis* e à *Ceriodaphnia silvestrii* foram da mesma magnitude que a de outros PPCPs como a oxytetracyclina e a sulfametazina sobre os cladóceros *Daphnia magna* e *Moina macrocopa* (Kyunghee et al, 2012), e o trimetoprim sobre a *Daphnia magna* (Liguoro et al, 2012).

A partir dos resultados dos testes agudos (Tabela 6) e de testes crônicos preliminares foram adotadas as concentrações de 0,5 1, 2, 4 e 8 mg L<sup>-1</sup> como referência para a continuidade do estudo com a realização de testes crônicos com *Ceriodaphnia silvestrii*. A sobrevivência das *C. silvestrii* ao longo dos 8 dias de teste crônico só não foi de 100% quando estas foram expostas a concentrações de 4 mg L<sup>-1</sup> e de 8 mg L<sup>-1</sup>, com sobrevivência de 90% e 80% respectivamente, o que pode ser observado na Figura 3. Desse modo, não houve diferença estatística em relação a esse parâmetro para nenhum dos tratamentos quando comparados ao controle (Kruskall-Wallis;  $H = 8,925$ ;  $p = 0,178$ ).



Após 8 dias de exposição, o número total de neonatas por fêmea diminuiu significativamente apenas na última concentração testada de 8 mg L<sup>-1</sup> (1,5 ± 2,5) quando comparada ao controle (16,9 ± 21,7) (Figura 3) (Kruskall-Wallis; H = 28,574  $p < 0,05$ ; Dunn's post hoc,  $p < 0,05$ ).

Analisando o teste crônico de forma qualitativa percebeu-se que as fêmeas expostas a 8 mg L<sup>-1</sup> de etilparabeno tiveram o seu o desenvolvimento retardado, o que pode ser sido uma estratégia adotada pelas neonatas para sobreviver ao estresse sofrido. Ao fim do experimento 20% dos organismos morreram, 50% das fêmeas não produziram neonatas e ficaram visivelmente menores do que os organismos controle, e 30% das fêmeas geraram neonatas que além de menores que as do controle, só nasceram nos últimos dias do experimento e em menor quantidade quando comparadas ao controle.

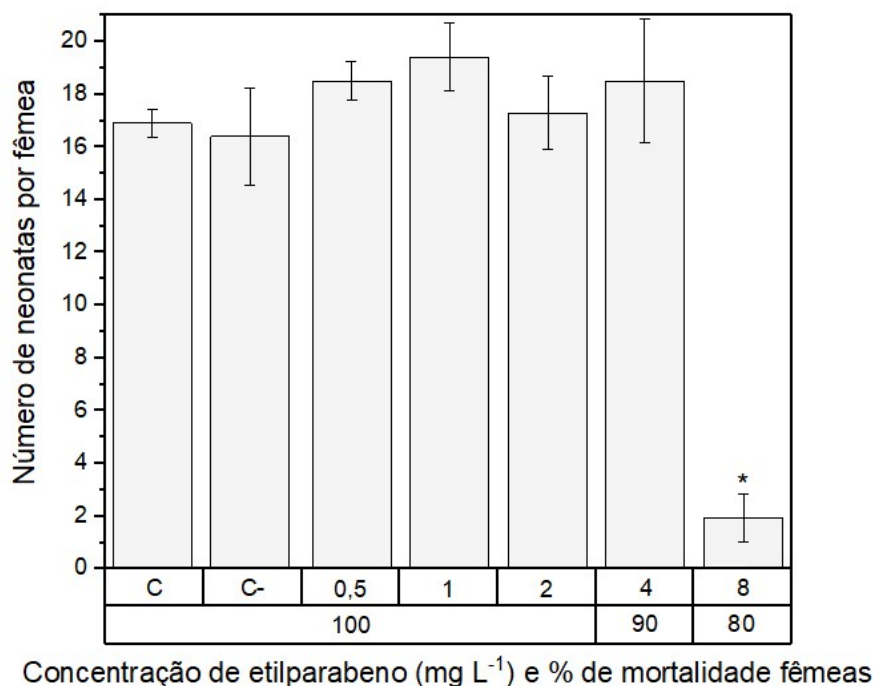
Tabela 6 – Valores de LOEC, de NOEC e de EC<sub>50</sub> resultantes da exposição de *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* a etilparabeno.

Endpoint (mg L <sup>-1</sup> )	<i>Daphnia similis</i>	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>
EC <sub>50</sub>	23,70 (20,76 - 27,73)	25,01 (18,74 - 33,15)
LOEC	16,69 (12,68 - 21,82)	18,69 (13,61 - 25,18)
NOEC	13,61 (9,13 - 19,30)	15,78 (10,09 - 22,00)

A exposição à concentração de 4 mg L<sup>-1</sup> do etilparabeno fez com que a metade das fêmeas que iniciaram o teste crônico produzissem aproximadamente 30% mais neonatas que os controles, uma fêmea teve seu desenvolvimento retardado, não cresceu, não gerou neonatas e morreu no último dia do experimento, e as demais produziram cerca de 25% menos neonatas que os controles. As diferentes estratégias de sobrevivência adotadas pelas fêmeas expostas a 4 mg L<sup>-1</sup> podem indicar que a partir

dessa concentração as *C. silvestrii* começam a se estressar de forma mais significativa com a presença do etilparabeno.

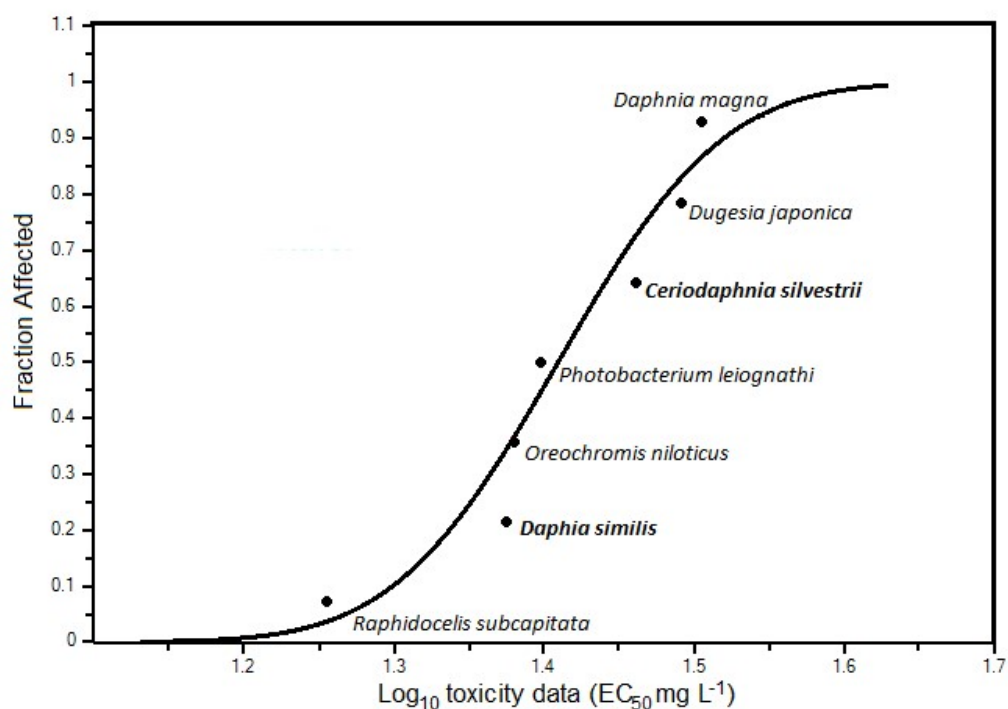
Figura 3 – Número médio de neonatas por fêmea e percentual de mortalidade de *Ceriodaphnia silvestrii* expostas a etilparabeno em testes de toxicidade crônica.



De acordo com o princípio da alocação energética de modelos fisiológicos para uma quantidade finita de recursos um aumento no consumo desses recursos por um processo fisiológico (crescimento, reprodução ou metabolismo) diminui a sua disponibilidade para os demais processos (Mansano et al., 2016). Esse princípio pode justificar o retardo no desenvolvimento dos organismos expostos a 8 mg L<sup>-1</sup>, assim como a quantidade e o tamanho de suas crias e também os diferentes resultados obtidos frente a exposição a 4 mg L<sup>-1</sup>.

#### 4.3.2. Distribuição da sensibilidade da espécie ao etilparabeno

Figura 4 – Curva de distribuição de sensibilidade entre espécies baseada em valores de  $CE_{50}$  para etilparabeno. Eixo-X:  $\log CE_{50}$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ); Eixo-Y: proporção de espécies afetadas (%).



Apesar de estudos relatarem que pode haver diferenças na sensibilidade de espécies em diferentes regiões aos mesmos poluentes, uma curva SSD baseada nos dados de toxicidade disponíveis na literatura fornece um limiar de segurança para a maioria das espécies no ecossistema. No entanto, as relações interespecíficas e a bioacumulação de compostos em organismos de diferentes níveis tróficos não são levadas em consideração nesse tipo de abordagem. Tradicionalmente o valor de  $HC_5$  (concentração que põe em risco 5% das espécies expostas) calculado a partir de dados de  $CE_{50}$  é utilizado na avaliação de risco ecológico como uma concentração eficiente na proteção de 95% das espécies submetidas a curtos intervalos de exposição continuada. A concentração de  $HC_5$  calculada a partir dos dados da curva SSD –  $CE_{50}$  (Figura 4) foi de  $18,21 \text{ mg L}^{-1}$  ( $13,08 - 21,39$ ).

A Tabela 7 exibe resultados do monitoramento da concentração do etilparabeno em diferentes matrizes ambientais como águas pluviais, sedimento costeiro e águas superficiais ao redor do mundo. Rios na zona metropolitana de Curitiba que recebem lançamentos de esgoto in natura registraram concentração do etilparabeno de até 1485  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Santos et al. 2016), mas a maioria das concentrações relatadas na literatura em águas superficiais são bem menores, geralmente na ordem de 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Assim, comparando a magnitude das concentrações ambientais registradas em literatura com o valor estimado de  $\text{HC}_5$  é plausível afirmar que efeitos agudos provenientes do etilparabeno dificilmente ocorrerão em organismos aquáticos no meio ambiente.

Ainda, por meio do monitoramento das concentrações ambientais de compostos químicos e dos dados de toxicidade obtidos experimentalmente, é possível caracterizar o risco ecológico que uma substância química pode representar para determinado ecossistema aquático. A caracterização de risco ecológico é definida como um método de avaliação no qual uma probabilidade de risco é calculada quando um ecossistema é exposto a um ou mais fatores de estresse (US.EPA, 1998). E o coeficiente de risco ecológico é por definição a relação entre uma concentração ambiental e uma determinada concentração de efeito previsto sobre a biota aquática (EC, 2011). No presente estudo foram utilizados dois cenários para o cálculo desse coeficiente, no primeiro foi levado em consideração 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  de etilparabeno representando a concentração desse composto na maioria dos corpos d'água superficiais, como pode ser observado na Tabela 7, e no segundo 1485  $\mu\text{g L}^{-1}$  de etilparabeno, concentração do referido composto encontrada em um rio urbano (Santos et al. 2016). A concentração de efeito utilizada no cálculo do coeficiente de risco foi baseada nos resultados obtidos nos testes de toxicidade crônica com *C. Silvestrii*, e foi de 8  $\text{mg L}^{-1}$ .

O risco, de acordo com Hernando et al. (2006), é classificado em três níveis: baixo ( $RQ < 0,1$ ), médio ( $0,1 \leq RQ < 1$ ) e alto ( $RQ \geq 1$ ), onde RQ é o coeficiente de risco ecológico. Os valores de RQ calculados para os cenários analisados foram de 0,001 e 0,19 relativos às concentrações ambientais de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (a concentração do etilparabeno na maioria dos corpos d'água superficiais) e de  $1485 \mu\text{g L}^{-1}$  (a concentração do etilparabeno encontrada em um rio urbano poluído). Esses valores de RQ correspondem respectivamente a baixo e a médio risco ecológico para a *Ceriodaphnia silvestrii* nas condições analisadas. Embora seja pouco provável que efeitos crônicos decorrentes da presença de etilparabeno ocorram em daphnídeos presentes em ambientes aquáticos naturais isso não elimina a necessidade de que mais testes sejam realizados e que mais espécies sejam estudadas para que essa análise possa ser mais bem subsidiada.

A legislação brasileira em vigor atualmente não discorre sobre a presença de parabenos em águas superficiais. Mas esses compostos podem ser enquadrados no grupo dos compostos fenólicos pelas resoluções 375/2005 e 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). De acordo com as resoluções citadas, o valor máximo permitido do total de compostos fenólicos varia de  $0,003$  a  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , a depender da qualidade e dos usos da água dos corpos receptores. Essa faixa de concentração estabelecida pelo CONAMA pode ser considerada adequada para evitar efeitos adversos à biota aquática causados pela exposição ao etilparabeno apenas. Porém é necessário ressaltar que as referidas resoluções versam apenas sobre o total de compostos fenólicos o que é perigoso, pois sistemas ambientais são complexos e, muitas vezes a totalidade dos compostos fenólicos dissolvidos nos sistemas aquáticos

pode sim afetar a saúde de seus organismos aquáticos ainda que esse valor permaneça dentro da faixa estabelecida pelo CONAMA.

Tabela 7 – Concentrações ambientais de etilparabeno em diferentes matrizes.

País	Matriz	Concentração	Referência
Brasil	Rio	5,8 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Galinaro et al. 2015
Austrália	Rio	35,17 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Evans et al. 2016
Austrália	Água Pluvial	305,55 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Evans et al. 2016
Brasil	Rio	1485 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Santos et al. 2016
Colômbia	Reservatório	0-425 ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Aristizabal-Ciro et al. 2017
EUA	Lodo de Estação de Tratamento de Esgoto	3,72 ( $\text{ng g}^{-1}$ )	Chen et al. 2017
China	Rio	5,66 ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Ma et al. 2018
Romênia	Lodo de Estação de Tratamento de Esgoto	0,6-2,6 ( $\text{ng g}^{-1}$ )	Iancu et al. 2018
China	Sedimento Costeiro	0,327 ( $\text{ng g}^{-1}$ )	Liao et al. 2019
China	Mar	2,76 ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Zhao et al. 2019

Tendo em vista as concentrações ambientais (Tabela 7) e os resultados dos testes ecotoxicológicos realizados foram estipuladas 0,1  $\text{mg L}^{-1}$ , 1,0 e 10  $\text{mg L}^{-1}$  como as concentrações do etilparabeno para os testes de adsorção, na tentativa de simular as concentrações desse composto, respectivamente, em algum tipo de corpo d'água superficial, em um córrego ou esgoto sanitário e uma concentração possivelmente nociva à comunidade aquática.

#### 4.4. Testes de Adsorção

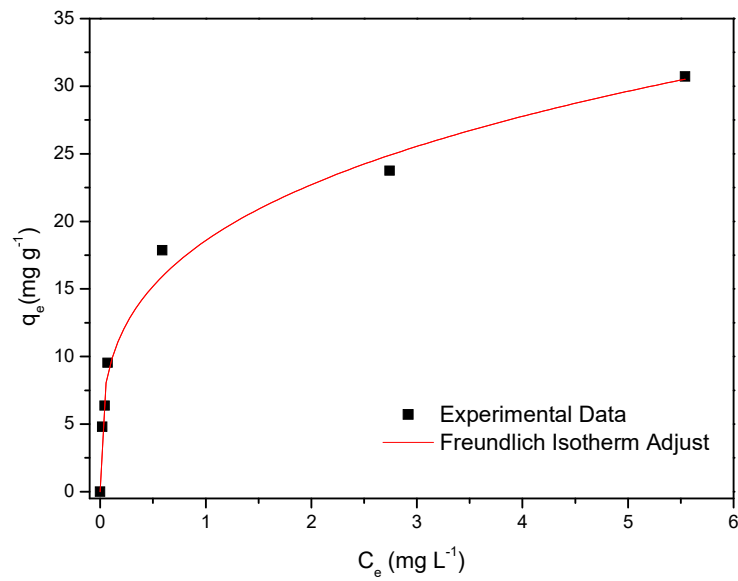
##### 4.4.1. Adsorventes

Diferentes materiais foram testados como possíveis adsorventes para o etilparabeno como folhas de araucária, bucha vegetal, bagaço de cana e carvões ativado de diferentes precursores. Mas apenas o bagaço de cana e o carvão ativado a base do endocarpo do coco foram selecionados para dar continuidade ao presente estudo.

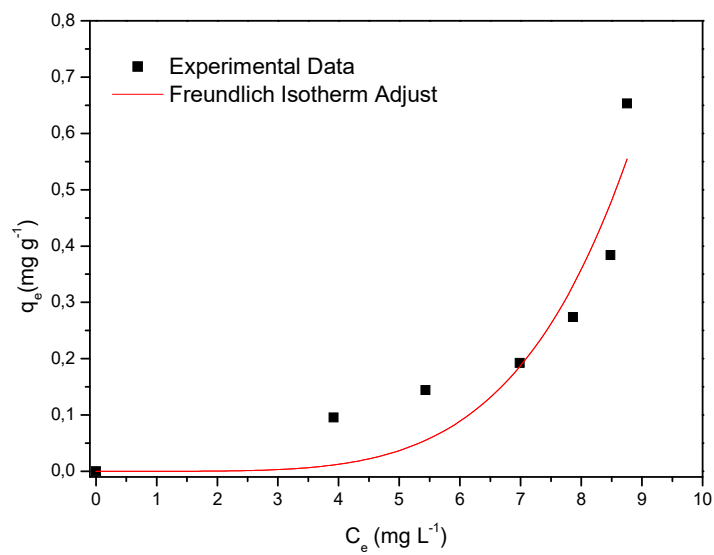
#### 4.4.1. Equilíbrio de Adsorção

Figura 5 – Isoterma da adsorção do etilparabeno em carvão ativado ( $C_{\text{adsorbent}} = 0,125 - 2 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $C_{\text{ethylparaben}} = 10 \text{ mg L}^{-1}$ ) (a), e em bagaço de cana ( $C_{\text{adsorbent}} = 2 - 64 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $C_{\text{ethylparaben}} = 10 \text{ mg L}^{-1}$ ) (b).

a)



b)



Os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Freundlich, que descreve adsorção físico-química em superfícies heterogêneas. A Figura 5 mostra os dados experimentais e o ajuste do modelo de isoterma de Freundlich (Equação 6) da adsorção do etilparabeno no carvão ativado (Figura 5a) e no bagaço de cana (Figura 5b).

$$q_e = kC_e^{\frac{1}{n}} \quad (6)$$

Em que  $q_e$  é a capacidade de adsorção no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $C_e$  é a concentração de soluto no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ ),  $k$  e  $n$  são as constantes do modelo de Freundlich, que representam a capacidade de adsorção e a heterogeneidade da superfície do adsorvente, respectivamente.

Os valores de  $k$  e  $n$  encontrados para o carvão ativado e o bagaço da cana respectivamente foram 18,58 e 3,45 e 1,56 e 0,21, em ambos os casos os dados experimentais se ajustaram ao modelo de Freundlich com valor de  $R^2$  igual a 0,98 e 0,85 o que indica a aceitabilidade do modelo. Mas a tendência da isoterma ajustada em cada situação diferiu com a mudança de adsorvente, a tendência foi favorável à adsorção no carvão ativado e desfavorável ao processo no bagaço da cana. Apresentar tendência favorável significa que a massa do adsorvato retida por unidade de massa do adsorvente é alta para uma baixa concentração de equilíbrio do adsorvato na fase líquida, ou seja, o carvão ativado tende a apresentar elevadas capacidades de adsorção ainda que sejam exigidas elevadas taxas de remoção do etilparabeno, e a lógica inversa pode ser aplicada quando bagaço de cana for utilizado como adsorvente. Desse modo, comparando os dois adsorventes, em relação ao etilparabeno, é possível afirmar que o carvão ativado possui maior capacidade de adsorção do bagaço de cana.

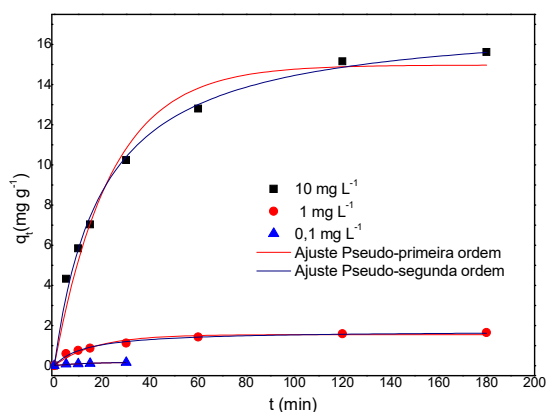


A partir das isotermas foram escolhidas as quantidades de adsorvente para dar continuidade ao presente estudo. Com o carvão ativado a eficiência de remoção do etilparabeno não aumentou significativamente a partir das quantidades de carvão superiores a 0,5 g L<sup>-1</sup>. No caso do bagaço de cana, concentrações superiores a 16 g L<sup>-1</sup> deixaram cor residual na água tratada. Dessa maneira, os testes seguintes foram conduzidos com 0,5 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado e 16 g L<sup>-1</sup> de bagaço de cana.

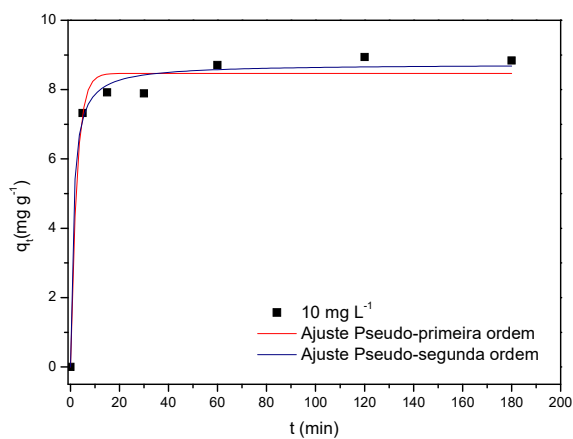
#### 4.4.2. Cinética de adsorção

Figura 6 – Cinética de remoção do etilparabeno por carvão ativado ( $C_{\text{adsorbent}} = 0,5 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ \text{C}$ ) (a), e por bagaço de cana ( $C_{\text{adsorbent}} = 16 \text{ g L}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ \text{C}$ ) (b).

a)



b)



Os dados experimentais foram ajustados aos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (Equação 7) e de pseudo-segunda ordem (Equação 8) dois dos mais utilizados modelos que relacionam taxa e capacidade de adsorção.

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (7)$$

$$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t} \quad (8)$$

$q_t$  e  $q_e$  são as quantidades de adsorvato adsorvida no tempo  $t$  e no equilíbrio,  $k_1$  e  $k_2$  são as constantes cinética de pseudo-primeira-ordem e pseudo-segunda-ordem, respectivamente.

Ambos os modelos ajustados representaram bem a cinética de adsorção ao longo das situações avaliadas, sendo o modelo de pseudo-segunda ordem um pouco superior ao de pseudo-primeira ordem para todos os ajustes efetuados. Todos os ajustes tiveram  $R^2$  superiores a 0,95 para a adsorção com o carvão ativado e superiores a 0,97 para adsorção no bagaço de cana.

Ao se comparar o comportamento das curvas cinéticas, Figura 6, pode se observar que as inclinações diferem bastante, sendo mais sutil quando a adsorção ocorre no carvão ativado e mais acentuada no bagaço de cana, tal inclinação é refletida nos valores das constantes cinéticas. Por esse motivo, o valor das constantes cinéticas são mais elevados na adsorção quando foi usado o bagaço de cana em relação ao uso do carvão, com valores de  $k_1$  e  $k_2$  iguais a  $0,0428 \text{ min}^{-1}$ ,  $0,0029 \text{ g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  e  $0,3948 \text{ min}^{-1}$ ,  $0,1031 \text{ g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  para o carvão ativado e o bagaço de cana respectivamente. Uma possível explicação para o ocorrido é que provavelmente a adsorção do etilparabeno no bagaço da cana ocorre apenas na superfície do material, enquanto que no carvão ativado

o etilparabeno tanto fica retido na superfície e como se difunde pelos seus poros. Por se tratar de um material preparado como adsorvente a área superficial do carvão ativado é muito superior à do bagaço de cana, além disso, o volume e a distribuição dos poros do carvão ativado podem favorecer diferentes mecanismos de adsorção, o que não acontece no caso do bagaço de cana. Levando em consideração as características de cada material e o entendimento que a difusão nos poros do adsorvente é uma etapa mais lenta do que o contato com a superfície do material é natural que o carvão ativado demore mais tempo para saturar do que o bagaço de cana.

#### **4.4.3. Testes de contato**

Se tratando do projeto de unidades de tratamento, é sabido que o tempo de contato é uma variável que influencia diretamente o tamanho dessas unidades. Assim, quanto menos tempo de contato for necessário para o tratamento menor serão as necessidades de espaço para a construção das unidades, menor será o custo envolvido e mais viável se torna a alternativa de tratamento proposta. A partir dos resultados dos testes cinéticos observa-se que após 30 minutos de contato o bagaço de cana está próximo a sua condição de saturação enquanto o carvão ativado teria comprometido aproximadamente 60% da sua capacidade de adsorção. Por essa razão os demais testes foram realizados utilizando esse intervalo de tempo.

De acordo com o descrito foram conduzidos os testes de contato entre os adsorventes e soluções do etilparabeno e resultados estão descritos na Tabela 8. O aumento da concentração de adsorvato diminuiu a eficiência de remoção do processo de adsorção o que pode ter ocorrido devido a mudanças na disponibilidade da área superficial e do volume de poros. Pode se observar ainda que nos testes em que a concentração do etilparabeno foi de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  e o carvão ativado e bagaço de cana

removeram respectivamente 62,51 e 37,84 % do etilparabeno, deixando concentrações residuais de 3,75 e 6,22 mg L<sup>-1</sup>. Pode se afirmar que possivelmente o tratamento com carvão ativado seria capaz de mitigar efeitos toxicológicos enquanto que o com bagaço de cana ainda deixaria algum residual do composto e isso poderia conferir toxicidade no efluente tratado.

Tabela 8 – Testes de contato entre carvão ativado, bagaço de cana etilparabeno em solução aquosa. T= 25°C, pH = 7,0, t = 30 min, C<sub>carvão</sub> = 0,5 mg L<sup>-1</sup>, C<sub>bagaço</sub> = 16 g L<sup>-1</sup>.

Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Eficiência de remoção (%)	
	Carvão Ativado	Bagaço de cana
10	62,51	37,84
1	65,04	40,08
0,1	70,14	42,49

## 5. CONCLUSÃO

À luz dos resultados que foram apresentados e discutidos ao longo do presente trabalho conclui-se que:

- A separação cromatográfica do etilparabeno em água ocorre por meio de coluna de fase reversa Agilent Zorbax C8 mantida a 30°C, com metanol e água (80:20, v/v) em eluição isocrática por cinco 5 minutos, vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>, comprimento de onda de 257 nm emitido pelo DAD, volume de injeção de 20 µL e tempo de retenção do analito de 3,7 minutos. A exatidão do método, que variou de 96,10 % a 105,03 %, e o limite de quantificação, de 0,02 mg L<sup>-1</sup>, foram adequados para atingir os objetivos propostos.

- Testes de toxicidade aguda com *D. similis* e *C. silvestrii* resultaram em  $EC_{50}$  de 23,70 mg L<sup>-1</sup> e 25,01 mg L<sup>-1</sup>, e efeitos crônicos de reprodução e de mortalidade foram percebidos principalmente quando Ceriodaphnias foram expostas a 8 mg L<sup>-1</sup> de etilparabeno. E, dada a diferença entre a magnitude das concentrações ambientais descritas na literatura e os resultados obtidos no presente trabalho é improvável que efeitos toxicológicos ocorram em cladóceros no meio ambiente em função da exposição ao etilparabeno apenas.
- Tanto o bagaço de cana quanto o carvão ativado mostraram potencial para serem utilizados como possíveis mitigadores de efeitos adversos do etilparabeno em ambientes aquáticos, porém o uso de carvão ativado deve ser considerado mais viável em aplicações reais. Uma dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de carvão ativado foi capaz de remover mais de 60 % de etilparabeno em solução aquosa de 10 mg L<sup>-1</sup> em 30 minutos de contato.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELWAHAB, O.; AMIN, N. K. Adsorption of phenol from aqueous solutions by Luffa cylindrica fibers: Kinetics, isotherm and thermodynamic studies. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 39, n. 4, p. 215-223, 2013.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR: 12713. **Ecotoxicologia Aquática: Toxicidade aguda. Método de ensaio com *Daphnia* ssp. (Cladocera, Crustácea)**. 2016.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR: 13373. **Ecotoxicologia Aquática: Toxicidade crônica. Método de ensaio com *Ceriodaphnia* ssp. (Cladocera, Crustácea)**. 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Critérios para a Validação de Métodos Analíticos**. RDC nº 166 de 24 de julho de 2017.

ASTM. American Society for Testing and Materials. D 3860. **Standard Practice for Determination of Adsorptive Capacity of Activated Carbon by Aqueous Phase Isotherm Technique**. West Conshohocken, 2014a.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **Standard guide for conducting acute toxicity tests on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians**. E 729- 96. In: Annual book of ASTM standards, v. 11.06. ASTM, Philadelphia, PA, 2014b.

BARROS, B. N., PIMENTEL, M. F., ARAÚJO, M. C. U. Recomendações para calibração em química analítica: parte I. Fundamentos e calibração com um componente (calibração univariada). **Química Nova**, v. 25, no. 5, p. 856-865, 2002.

BAZIN, I., GADAL, A., TOURAUD, E., ROIG, B. **Hydroxy benzoate preservatives (parabens) in the environment: data for environmental toxicity assessment**. In *Xenobiotics in the urban water cycle*, pp. 245-257. Springer, Dordrecht, 2010.

BŁĘDZKA, D., GROMADZIŃSKA, J., WAŚOWICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment international**, v. 67, p. 27-42, 2014.

BOBERG, J., TAXVIG, C., CHRISTIANSEN, S., HASS, U. Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. **Reproductive Toxicology**, 2010.

BOEHLER, M., ZWICKENPFLUG, B., HOLLENDER, J., TERNES, T., JOSS, A., SIEGRIST, H. Removal of micropollutants in municipal wastewater treatment plants by powder-activated carbon. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 10, p. 2115-2121, 2012.

BRITO, N. M., JUNIOR, O. P. D. A., POLESE, L., RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p.129-146, 2003.

BYFORD, J.R.; SHAW, L.E.; DREW, M.; POPE, G.S.; SAUER, M.J.; DARBRE, P.D. Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 80, no. 1, p. 49-60, 2002.

CALAFAT, A.M.; XIAOYUN, Y.; WONG, L.Y.; BISHOP, A.M.; NEEDHAM, L.L. Urinary Concentrations of Four Parabens in the U.S. Population: NHANES 2005–2006. **Environmental Health Perspectives**, Vol. 118, n.5, p. 679 - 685, 2010.

CHARNOCK, C., FINSRUD, T. Combining esters of para-hydroxy benzoic acid (parabens) to achieve increased antimicrobial activity. **Journal of clinical pharmacy and therapeutics** v. 32, no. 6, p. 567-572, 2007.

CIOLA R. **Fundamentos da Catálise**, Ed. Moderna, São Paulo, Ed. da universidade de São Paulo. 1981.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, 452p. 2006.

Commission Regulation (EU) no 358/2014 alterando os Anexos II e V da EC Regulation no 1223/2009 do European Parliament and of the Council on Cosmetic Products. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=OJ:L:2014:107:FULL&from=EN>, Data de acesso: 5 de março de 2020.

COSTA, C. R., OLIVI, P., BOTTA, C. M. R., ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DARBRE, P. D., ALJARRAH, A., MILLER, W. R., COLDHAM, N. G., SAUER, M. J., POPE, G. S. Concentrations of parabens in human breast tumours. **Journal of applied toxicology**, v. 24, n. 1, p. 5-13, 2004.

DARBRE, P.D.; BYFORD, J.R.; SHAW, L.E.; HALL, S.; COLDHAM, N.G.; POPE, G.S.; SAUER, M.J. Oestrogenic activity of benzylparaben. **Journal of Applied Toxicology**, v. 23, no. 1, p. 43-51, 2003.

DARBRE, P.D., BYFORD, J.R., SHAW, L.E., HORTON, R.A., POPE, G.S., SAUER, M.J. Oestrogenic activity of isobutylparaben in vitro and in vivo. **Journal of Applied Toxicology**, v. 22, no. 4, p. 219-226, 2002.

DARBRE, P. D.; HARVEY, P. Parabens can enable hallmarks and characteristics of cancer in human breast epithelial cells: a review of the literature with reference to new exposure data and regulatory status. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, p. 925-938, 2014.

DEBRASSI, A.; LARGURA, M. C. T.; RODRIGUES, C.A., Adsorção do corante vermelho congo por derivados de O-carboximetilquitosana hidrofobicamente modificado. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 764-770, 2011.

DERISSO, C., R. **Análise de parabenos em amostras de água de rios e de esgoto sanitário da cidade de São Carlos/SP**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 2017.

DOBBINS, L.L.; USENKO, S.; BRAIN, R.A.; BROOKS, B.W. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Probabilistic Ecological Hazard Assessment of Parabens Using *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Vol. 28, No. 12, pp. 2744–2753, 2009.

ECHA. European Chemical Agency. <https://echa.europa.eu/en/substance-information/-/substanceinfo/100.002.532>, 2019, Data de acesso: 05 de março de 2020.

EC - European Commission. Common implementation strategy for the water framework directive (2000/60/EC). In: **Guidance document no: 27: Technical guidance for deriving environmental quality standards**. European Communities, 2011.

FERNANDO, C. H., PAGGI, J. C., RAJAPAKSA, R. Daphnia in tropical lowlands. **Mem. Ist. Ital. Idrobiol**, v.45, p. 107-141, 1987.

FONSECA, A. L., ROCHA, O. The life-cycle of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday, 1902, a neotropical endemic species (Crustacea, Cladocera, Daphnidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, no. 4, p. 319-328, 2004.

FORRÓ, L., KOROVCHINSKY, N. M., KOTOV, A. A., PETRUSEK, A. Global diversity of cladocerans (Cladocera; Crustacea) in freshwater. **Freshwater animal diversity assessment**, p. 177-184. Springer, Dordrecht, 2007.

FRANSWAY, A. F., FRANSWAY, P. J., BELSITO, D. V., WARSHAW, E. M., SASSEVILLE, D., FOWLER JR, J. F., DEKOVEN, J. G., PRATT, M. D., MAIBACH, H. I., TAYLOR, J. S., MARKS, J. G., MATHIAS, C. G. T., DELEO, V. A., ZIRWAS, J. M., ZUG, K. A., ATWATER, A. R., SILVERBERG, REEDER, J. M. J. Parabens. **Dermatitis**, 30, no. 1, p. 3-31, 2019.

GMUREK, M., ROSSI, A. F., MARTINS, R. C., QUINTA-FERREIRA, R. M., LEDAKOWICZ, S. Photodegradation of single and mixture of parabens–Kinetic, by-products identification and cost-efficiency analysis. **Chemical Engineering Journal**, v. 276, p. 303-314, 2015.

GONÇALVES JR, A. C. Descontaminação e monitoramento de águas e solos na região amazônica utilizando materiais adsorventes alternativos, visando remoção de metais pesados tóxicos e pesticidas. **Inclusão Social**, v. 6, n. 2, 2013.

HAMAN, C., DAUCHY, X., ROSIN, C., MUNOZ, J. F. Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: a review. **Water Research**, v. 68, p. 1-11, 2015.

HERNANDO, M. D., MEZCUA, M., FERNÁNDEZ-ALBA, A. R., BARCELÓ, D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. **Talanta**, v. 69, no. 2, p. 334-342, 2006.

IANCU, V., PETRE, J., GALAON, T., VASILE, G., RADU., G. L. Investigation on parabens occurrence in Romanian WWTP sludge by LC-MS/MS method. **Chimie (Bucharest)**, vol. 69, no. 11, pp. 4148-4152, 2018.

IBRAHIM, M. M., NGAH, W. W., NORLIYANA, M. S., DAUD, W. W., RAFATULLAH, M., SULAIMAN, O., HASHIM, R. A novel agricultural waste adsorbent for the removal of lead (II) ions from aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 182 n. 1-3, p. 377385, out. 2010.

ICH. International Conference on Harmonisation. **Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology**, Q2A (CPMP/ICH/381/95), 1995.

IGBERASE, E.; OSIFO, P.; OFOMAJA, A. The adsorption of copper (II) ions by polyaniline graft chitosan beads from aqueous solution: equilibrium, kinetic and desorption studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 362-369, 2014.



INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**, DOQ-CGCRE-008 – revisão 2, 2007.

ISO. International Standard Organization. **Statistics-Vocabulary and Symbols Part 1: Probability and General Statistical Terms**, ISO 3534-1, 2006.

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

KRSPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R.M.; GUWY, A.J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. **Water Research** 42:3498–3518, 2008.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMa, 62p. 2004.

LEE, H. B.; PEART, T. E.; SVOBODA, M. L. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1094, p. 122-129, 2005.

LI, M. H. Acute toxicity of benzophenone-type UV filters and paraben preservatives to freshwater planarian, *Dugesia japonica*. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 94, no. 3, p.566-573, 2012.

LUIZETE, M. F. **Parabenos em água superficial: estudo analítico e aplicação em amostras ambientais**. 74 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 2013.

MARTA-SANCHEZ, A. V., CALDAS, S. S., SCHNEIDER, A., CARDOSO, S. M. V. S., PRIMEL, E. G. Trace analysis of parabens preservatives in drinking water treatment sludge, treated, and mineral water samples. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, no. 15, p. 14460-14470, 2018.B

MARTÍN, J., SANTOS, J. L., APARICIO, I., ALONSO, E. Exposure assessment to parabens, bisphenol A and perfluoroalkyl compounds in children, women and men by hair analysis. **Science of The Total Environment**, v. 695, 2019.

Mckay G. **Use of Adsorbents for the Removal of Pollutants from Wastewater**. CRC press; 1995.

MEEKER, J. D., YANG, T., YE, X., CALAFAT, A. M., HAUSER, R. Urinary concentrations of parabens and serum hormone levels, semen quality parameters, and sperm DNA damage. **Environmental health perspectives**, v. 119, no. 2, p. 252-257.

MEIRELES, G. **Perfil do impacto ecogenotoxicológico induzido após exposição de diferentes organismos a corantes têxteis dispersos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2018.

NASCIMENTO R. F.; LIMA A. C.; VIDAL C. B.; MELO D. Q., RAULINO G. S. **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Biblioteca de Ciências e Tecnologia. 2014.

NOLL, K. E.; GOUNARIS, V.; HOU, W. **Adsorption technology for air and water pollution control**. Chelsea: Lewis Publishers Inc., 347 p.1992.

OISHI, S. Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. **Toxicology and Industrial Health**, v. 17, n. 1, p. 31-39, 2001.

OISHI, S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, no. 12, p. 1807-1813, 2002.

OKUBO, T., YOKOYAMA, Y., KANO, K., KANO, I. ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER $\alpha$  and PR. **Food and Chemical Toxicology**, v. 39, no. 12, p. 1225-1232, 2001.

ORAK, C., ATALAY, S., ERSÖZ, G. Degradation of ethylparaben using photo-fenton-like oxidation over BiFeO<sub>3</sub>. **Anadolu University of Sciences & Technology-A: Applied Sciences & Engineering**, v. 17, n. 5, 2016.

PAPADOPOULOS, C., FRONTISTIS, Z., ANTONOPOULOU, M., VENIERI, D., KONSTANTINOU, I., MANTZAVINOS, D. Sonochemical degradation of ethyl paraben in environmental samples: Statistically important parameters determining kinetics, by-products and pathways. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 62-70, 2016.

PENG, X., YU, Y., TANG, C., TAN, J., HUANG, Q., WANG, Z. Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. **Science of the Total Environment**, v. 397, n. 1, p. 158-166, 2008.

PIAO, C., CHEN, L., WANG, Y. A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens. **Journal of Chromatography B**, v. 969, p. 139-148, 2014.

POMPEI, C. M. E. **Filtros ecológicos: um estudo da remoção de produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais e do efeito da contaminação no biofilme**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016.

RAMÍREZ, N., MARCÉ R. M., BORRULL, F. Determination of parabens in house dust by pressurised hot water extraction followed by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, no. 37, p. 6226-6231, 2011.

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B., COLLINS, C. H, JARDIM, I. C., MELO, L. F. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 771,780, 2004

RODGHER, S., ESPÍNDOLA, E. L. G., LOMBARDI, A. T. Suitability of *Daphnia similis* as an alternative organism in ecotoxicological tests: implications for metal toxicity. **Ecotoxicology**, v. 19, no. 6, p. 1027-1033, 2010.

ROUSSEAU, R.W. **Handbook of separation process technology**. New York: John Wiley & Sons, 1010 p. 1987.

ROUTLEDGE, E. J., PARKER, J., ODUM, J., ASHBY, J., SUMPTEY, J. P. Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 153, n. 1, p. 12-19, 1998.

RUTHVEN, D.M. **Principles of adsorption and adsorption processes**. New York: John-Wiley & Sons, 433 p.1984.

SCCP. Scientific Committee on Consumer Products. **Extended opinion on the safety evaluation of parabens**. SCCP/0873/05, 2005.

SCCS. Scientific Committee on Consumer Safety. Opinion on Parabens, COLIPA no. 582, 2013, SCCS/1514/13.

[https://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_o\\_132.pdf](https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_132.pdf), Data de acesso: 5 de março de 2020.

SHANMUGAM, G., RAMASWAMY, B. R., RADHAKRISHNAN, V., TAO, H. GC-MS method for the determination of paraben preservatives in the human breast cancerous tissue. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 2, p. 391-396, 2010.

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

SILVA, D. C. **Análise de parabenos em amostras de água de cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e efeitos em biomarcadores bioquímicos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2015.

SILVA, D. C., SERRANO, L., OLIVEIRA, T. M., MANSANO, A. S., ALMEIDA, E. A., VIEIRA, E. M. Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Ecotoxicology and environmental safety**, 162, 85-91, 2018.

SLEJKO, F.L. **Adsorption technology: a step-by-step approach to process evaluation and application**. New York: Marcel Dekker Inc., 223 p. 1985.

SONI, M.G.; BURDOCK, G.A.; TAYLOR, S.L.; GREENBERG, N.A. Safety assessment of propyl paraben: a review of the published literature. **Food Chemistry Toxicology**, Vol. 39, 513-532, 2001.

SPADOTO, M. **Avaliação dos efeitos dos parabenos sobre organismos aquáticos e comparação de sensibilidade de espécies**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2017.

SWARTZ, M. E.; KRULL, I. S. Validation of chromatographic methods. **Pharmaceutical technology**, v. 22, n. 3, p. 104-120, 1998.

TERASAKI, M.; MAKINO, M.; TATARAZAKO, N. Acute toxicity of parabens and their chlorinated by-products with *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri* bioassays. **Journal of Applied Toxicology**, 29: 242-247, 2008.

THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. EC Regulation 1223/2009. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1223&from=EN>, Data de acesso: 05 de março de 2020.

USP. United States Pharmacopeia. **General chapter on validation of compendial procedures< 1225>**. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, 2014.

US.EPA - The United States Environmental Protection Agency. **Guidelines for Ecological Risk Assessment**. EPA/630/R-95/002F. Washington, DC, 1998.

VESSMAN, J.; STEFAN, R. I.; STADEN, J. F. V.; DANZER, K.; LINDNER, W.; BURNS, D. T.; FAJGELJ, A.; MÜLLER, H. Selectivity in analytical chemistry (IUPAC Recommendations). **Pure and Applied Chemistry**, v. 73, no. 8, p. 1381-1386, 2001.

WADE, A.; WELLER, P. J. Eds. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**, 2nd ed.; American Pharmaceutical Association: Washington, DC; 651 p., 1994.

YUSOFF, M. M., RAOOV M., YAHAYA N., SALLEH, N. M. An ionic liquid loaded magnetically confined polymeric mesoporous adsorbent for extraction of parabens from environmental and cosmetic samples. **RSC advances**, v. 7, no. 57, p. 35832-35844, 2017.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. 2ª Edição, São Carlos: Editora Rima, 486 p, 2008.

ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A., JESZKA-SKOWRON, M., CZARCZYŃSKA-GOŚLIŃSKA, B., GRZEŚKOWIAK, T. Determination of parabens in Polish river and lake water as a function of season. **Analytical Letters**, v. 49, no. 11, p. 1734-1747, 2016.

ZÚÑIGA-BENÍTEZ, H., PEÑUELA, G. A. Methylparaben removal using heterogeneous photocatalysis: effect of operational parameters and mineralization/biodegradability studies. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 7, p. 6022-6030, 2017a.

ZÚÑIGA-BENÍTEZ, H., PEÑUELA, G. A. Solar lab and pilot scale photo-oxidation of ethylparaben using  $\text{H}_2\text{O}_2$  and  $\text{TiO}_2$  in aqueous solutions. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 337, p. 62-70, 2017b.